UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Thalia Aparecida Segatto

APLICAÇÃO DE PLANTAS DANINHAS NA BIOFUMIGAÇÃO PARA O CONTROLE DE Meloidogyne javanica

Thalia Aparecida Segatto

APLICAÇÃO DE PLANTAS DANINHAS NA BIOFUMIGAÇÃO PARA O CONTROLE DE Meloidogyne javanica

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em produção vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof.º Dr.º Júlio Carlos Pereira da Silva

Segatto, Thalia Aparecida APLICAÇÃO DE PLANTAS DANINHAS NA BIOFUMIGAÇÃO PARA O CONTROLE DE Meloidogyne javanica / Thalia Aparecida

Segatto.- 2023. 40 p.; 30 cm

Orientador: Julio Carlos Pereira da Silva Coorientadores: André da Rosa Ulguim, Jansen Rodrigo Pereira Santos

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Agronomia, RS, 2023

1. nematoides 2. compostos orgânicos voláteis 3. biofumigação I. Silva, Julio Carlos Pereira da II. Ulguim, André da Rosa III. Santos, Jansen Rodrigo Pereira IV. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, THALIA APARECIDA SEGATTO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Thalia Aparecida Segatto

APLICAÇÃO DE PLANTAS DANINHAS NA BIOFUMIGAÇÃO PARA O CONTROLE DE Meloidogyne javanica

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em produção vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agronomia**.

Aprovada em 15 de agosto de 2023.

Julio Carlos Pereira da Silva, PhD° em Fitopatologia (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Jansen Rodrigo Pereira Santos, Dr° em Fitopatologia (UFSM)

Willian César Terra, PhD° em Fitopatologia (UFLA)

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus por todas as oportunidades que tive e por me guiar sempre pelo melhor caminho.

Sou grata a minha família, a minha mãe Ivone e a minha irmã Taira, por sempre serem o meu alicerce e me apoiarem todos os momentos que precisei e por acreditarem em mim mesmo quando nem eu acreditei. O amparo de vocês foi essencial para que eu chegasse até aqui.

Sou grata a minha doberman Dalva Luiza, por ter trazido alegria e lealdade para a minha vida, sendo luz para os meus dias mais difíceis e companheirismo na minha solitude.

Sou grata aos meus amigos, pelo apoio, incentivo, parceria, por me ouvirem nos momentos que precisei, pelos conselhos e pelo ombro amigo, contem comigo.

Sou grata aos meus professores que me instruíram até aqui e contribuíram cada qual com uma parte na minha formação acadêmica e de vida.

Sou grata ao professor Ivan Ricardo Carvalho, o qual tenho imensa gratidão e admiração, que foi mais que um professor, me incentivando e auxiliando a seguir nesse caminho e em especial ao grupo de melhoramento genético de grãos da UNIJUÍ, que foi mais que um grupo de pesquisa, foi uma família que eu tive na minha graduação, saibam que sempre podem contar comigo.

Sou grata ao grupo de pesquisa em controle biológico da UFSM, por terem me acolhido, me auxiliado e ensinado muito sobre fitopatologia, em especial ao meu orientador, Julio Carlos Pereira da Silva, que me direcionou e me inseriu na nematologia, obrigado por todo apoio, por acreditar em mim e por todo o conhecimento compartilhado, espero um dia retribuir a vocês todo o apoio que recebi.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Maria, por todo o suporte, e pela educação gratuita e de qualidade.



RESUMO

APLICAÇÃO DE PLANTAS DANINHAS NA BIOFUMIGAÇÃO PARA O CONTROLE DE Meloidogyne javanica

AUTOR: Thalia Aparecida Segatto

ORIENTADOR: Julio Carlos Pereira da Silva

Os fitonematoides causam prejuízos consideráveis na produção de alimentos mundial. Uma das alternativas mais utilizadas para o controle consiste na utilização de nematicidas químicos. No entanto, busca-se cada vez mais novas táticas de controle com eficiência e menor impacto ambiental como a incorporação de partes de plantas ou plantas não hospedeiras ou antagonistas, visando a biofumigação do solo. A biofumigação possibilita a liberação de compostos no solo, muitos deles com potenciais nematicidas. As plantas daninhas podem causar problemas significantes a produção e muitas vezes são controladas e descartadas do sistema produtivo, enquanto poderiam ser utilizadas na biofumigação. Dessa maneira, os objetivos do trabalho foram verificar o potencial de diversas plantas daninhas contra M. javanica por extratos aquosos e emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs), avaliar as mais promissoras quanto ao efeito nematicida sobre o nematoide e na biofumigação de substrato infestado e identificar o volatiloma das plantas mais eficientes no controle de M. javanica. Inicialmente, foram feitos testes verificando extratos e emissão de COVs de folhas de 18 espécies vegetais selecionadas no campo pela ocorrência, família ou prévios estudos contra nematoides e outros organismos encontrados na bibliografia O screening inicial foi feito contra juvenis de segundo estádio (J2) de *M javanica*. Todas as 18 plantas testadas apresentaram efeito nematicida contra os J2 tanto pelo contato com os extratos quanto pela emissão de COVs. Entretanto, extratos de folhas de guaco (Mikania cordifolia) e joá bravo (Solanum viarum) causaram mortalidade próxima a 100% dos J2. Os macerados de folhas e os COVs emitidos por S. viarum e M. cordifolia também apresentaram efeito ovicida, reduzindo pelo menos 35% da eclosão dos J2 quando comparados ao controle feito apenas com água, chegando a mais de 70% de redução em extrato de M. cordifolia. Na biofumigação com as diferentes concentrações avaliadas em substrato infestado, ambas as espécies S. viarum e M. cordifolia reduziam a infectividade e reprodução dos nematoides com uma alta eficiência já na concentração de 1,0 % (m/m) em mudas de tomateiro. Por cromatografia GC/MS foram identificados os volatilomas de S. viarum e M. cordifolia, os quais mostraram COVs de diferentes grupos químicos com destaque para terpenos em M. cordifolia, onde que muitos COVs de ambas espécies já foram descritos como tóxicos a outros nematoides, como β-pineno, ρ-Cimeno, Biciclogermacreno, Trans-cariofileno, Salicilato de Metila, Eugenol e Pentadecanal. Isso mostra o potencial nematicida de plantas daninhas na incorporação e biofumigação do solo infestado com M. javanica mesmo em baixas concentrações, além da possibilidade de prospecção COVs nematicidas.

Palavras chave: Fitopatogenos. Compostos orgânicos voláteis. Biofumigação. Sustentabilidade de cultivos.

ABSTRACT

APPLICATION OF WEEDS IN BIOFUMIGATION TO CONTROL ROOT-KNOT NEMATODES Meloidogyne javanica

AUTHOR: Thalia Aparecida Segatto ADVISOR: Julio Carlos Pereira da Silva

Root-knot nematodes cause considerable damage to food production. One of the most used alternatives for their control is the use of chemical nematicides. In this way, new control practices are increasingly sought with efficiency and less environmental impact, like, for instance, the incorporation and biofumigation of non-host parts of plants or antagonistic plants. Biofumigation enables the release of compounds into the soil, many of them with potential nematicides. Weeds can be a significant problem in production and are often controlled and completely discarded from the production system. In this sence, the objectives of this work were to verify the potential of several weeds against M. javanica by aqueous extracts and emission of volatile organic compounds (VOCs), to evaluate the most promising ones against nematode eggs and in the biofumigation of the infested substrate and to identify the volatilome of the most efficient plants in the control of M. javanica. Initially, tests were carried out verifying extracts and VOC emissions from leaves of 18 plant species selected in the field by occurrence, family or previous studies against nematodes and other organisms. Initial screening was performed against second-stage (J2) juveniles of *M javanica*. The results indicated that all the tested plants showed a nematicidal effect against J2 both by contact with the extracts and by the emission of VOCs. However, leaves of guaco (Mikania cordifolia) and joá bravo (Solanum viarum) caused mortality close to 100% in J2. Leaf macerates and VOCs emitted by S. viarum and M. cordifolia also had a toxic effect on nematode eggs, reducing at least 35% of J2 hatching compared to control by water, reaching more than 70% reduction in M. cordifolia extract. In biofumigation with the different concentrations evaluated in the infested substrate, both species S. viarum and M. cordifolia reduced the infectivity and reproduction of nematodes with a high efficiency already at the concentration of 1.0% (m/m) in tomato seedlings. By GC/MS, volatilome of S. viarum and M. cordifolia were identified, which showed VOCs from several chemical groups, with emphasis on terpenes in M. cordifolia, and many VOCs from both species have already been described as toxic to other nematodes. such as β-pinene, ρ-Cymene, Bicyclogermacrene, Trans-caryophyllene, Methyl Salicylate, Eugenol and Pentadecanal. This establishes the nematicidal potential of weeds in the incorporation and biofumigation of soil infested with M. javanica even at low concentrations, in addition to the possibility of prospecting for several nematicidal VOCs.

Keywords: Phytopathogens. Volatile organic compounds. Biofumigation. Cropsustainability.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Screening de macerado de planta daninhas pela mortalidade de juvenis de segundo
estádio (J2) de M. javanica
FIGURA 2 - Eclosão de juvenis de segundo estádio (J2) de ovos de M. javanica expostos aos
compostos orgânicos voláteis (COVs) e extratos de plantas feitos independentemente25
FIGURA 3 - Mortalidade de juvenis de segundo estádio de Meloidogyne javanica, contidos em
microtubos, expostos aos compostos orgânicos voláteis emitidos por diferentes quantidades de
macerados de folhas de guaco (Mikania cordifolia) e joá bravo (Solanum viarum) incorporados
ao substrato em copos fechados, simulando o processo de biofumigação26
FIGURA 4- Infectividade e reprodução de Meloidogyne javanica em tomateiro cultivado em
substrato biofumigado com às diferentes quantidades de macerados de folhas de guaco
(Mikania cordifolia) e joá bravo (Solanum viarum)27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Volatilomas de macerados de folhas de joá bravo (Solanum viarum) e guaco
(Mikania cordifolia) identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de
massas

LISTA DE SIGLAS

COV Composto Orgânico Volátil

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO
2.	REFERENCIAL TEÓRICO
2.1	PERDAS CAUSADAS POR FITONEMATOIDES14
2.2	USO DE NEMATICIDAS QUIMICOS
2.4	USO DE PLANTAS COM EFEITO NEMATICIDA
3.	MATERIAL E MÉTODOS
3.1	OBTENÇÃO DE Meloidogyne javanica
3.2	OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL20
3.3	SCREENING DAS PLANTAS PELOS EFEITOS TÓXICOS A Meloidogyne
javanica	21
3.4	TOXICIDADE DOS EXTRATOS E COVS DE PLANTAS EM OVOS DE
Meloidogyn	g javanica21
3.5	BIOFUMIGAÇÃO COM MATERIAL VEGETAL EM DIFERENTES
CONCENTI	RAÇÕES22
3.7	ESTATÍSTICA23
4	RESULTADOS
4.1	SCREENING DAS PLANTAS DANINHAS
4.2	EFEITO DOS EXTRATOS E COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS NOS
OVOS DE A	Meloidogyne javanica25
4.3	EFEITO DA BIOFUMIGAÇÃO COM Mikania cordifolia E Solanum viarum EM
Meloidogynd	e javanica EM TOMATEIROS26
5	DISCUSSÃO
6	CONCLUSÕES
	REFERÊNCIAS 35

1. INTRODUÇÃO

Os nematoides são os animais mais abundantes do planeta e componentes dominantes da fauna do solo, sendo encontrados em todos os continentes (VAN DEN HOOGEN et al., 2019). Os fitonematoides podem ser responsáveis por grandes perdas de produtividade, uma vez que além da redução da produtividade podem reduzir a qualidade dos alimentos produzidos. Estimativas apontam que os prejuízos econômicos ultrapassam 100 bilhões de dólares anualmente, com o gênero de maior importância no mundo sendo *Meloidogyne*, conhecido também como nematoide-das-galhas (BRENNAN et al., 2020; GOMES et al., 2020). Assim, táticas de controle são exaustivamente estudadas no mundo para reduzir as populações de *Meloidogyne* spp. nos solos, sendo que uso de nematicidas químicos ainda são altamente aplicados no campo (SIKORA et al., 2023). Entretanto, atualmente muitos químicos disponíveis no mercado apresentam riscos de toxidade ao ambiente e a saúde humana e acabam sendo retirados de comercialização (REGMI e DESAEGER, 2019).

Avanços na biotecnologia trazem novas opções de controle, com maior sustentabilidade e eficiência, de modo a serem associadas às medidas já praticadas para o controle desses patógenos desde o uso de agentes biológicos, plantas antagônicas e silenciamento genético (SOUSA et al., 2015; SILVA et al., 2011; SIKORA et al., 2023). Neste contexto, incorporação de restos ou partes de orgãos de plantas e a biofumigação que consiste no cultivo e incorporação de plantas de cobertura como crucíferas, são práticas que visam à utilização de partes vegetais para controlar as pragas no solo por meio da liberação de compostos como isotiocianatos e glucosinolatos sendo tóxicos, inclusive para os fitonematoides (OKA, 2009). Além disso, a descoberta de novas espécies vegetais com antagonismo químico que consiste na liberação de compostos químicos que inibem o desenvolvimento de outros organismos, pode ser útil na prospecção de novos compostos nematicidas menos tóxicos a animais e seres humanos (DENG et al., 2022).

O uso de plantas antagônicas no solo é uma pratica sustentável baseada principalmente na liberação de compostos orgânicos voláteis (COVs) resultantes da decomposição dos materiais vegetais incorporados após o final de ciclo cultivo da antagonista (DANEEL et al., 2018). Além das plantas consideradas antagônicas, outros materiais também podem ser utilizados, como subprodutos ou partes sem valor comercial de plantas cultivadas ou de plantas não hospedeiras (BRENNAN et al., 2020). Algumas famílias de plantas são conhecidas por apresentar representantes que podem atuar no controle de nematoides por biofumigação, como a Brassicacea, Asteracea e outras que apresentam isotiocianatos, terpenos, fenóis e aldeídos

como componentes tóxicos do volatiloma (BARROS et al., 2014; DENG et al., 2022; SILVA et al., 2018; JARDIM et al., 2018). Muitas espécies de plantas dentro dessas famílias são consideradas daninhas ou invasoras em áreas agrícolas no Brasil (BONTHOUX et al., 2019).

As plantas daninhas são comumente consideradas um problema para a agricultura por conta dos prejuízos causados na perda da produtividade, competição por recursos e água e servindo como fonte de inoculo para pragas e doenças, ocasionando o aumento da população de fitonematoides em uma área (THOMAS et al., 2005). No entanto, plantas daninhas podem apresentar diferentes utilidades na agricultura, desde alimentação até uso medicinal, devido à complexidade química de vários grupos (BONTHOUX et al., 2019). Desse modo, plantas consideradas daninhas não hospedeiras de nematoides e dentro de famílias com representantes antagônicos podem ser de interesse no controle de fitonematoides (SILVA et al., 2020). Algumas dessas plantas invasoras comumente encontradas nas áreas de produção possuem em seus extratos compostos que ao se decomporem emitem compostos (COVs) facilmente dispersos no meio, e que muitas vezes possuem ação nematicida (SILVA et al., 2020; COSTA et al., 2001;).

A biofumigação com plantas daninhas presentes na área ou partes vegetais descartadas pode ser uma pratica viável economicamente (OKA, 2009; BRENNAN et al., 2020; GOMES et al., 2020). Além disso, plantas com emissão de COVs tóxicos a fitonematoides servem como fontes de prospecção para novos compostos nematicidas (DENG et al., 2022). Dessa maneira, o objetivo desse trabalho inicialmente foi verificar o potencial de diversas plantas daninhas contra *M. javanica* por extratos aquosos e emissão de COVs, para, em seguida, avaliar as mais promissoras quanto ao efeito ovicida sobre o nematoide e na biofumigação de substrato infestado, além de identificar o volatiloma das plantas mais eficientes no controle de *M. javanica*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PERDAS CAUSADAS POR FITONEMATOIDES

Os danos causados pelo parasitismo de nematoides podem se manifestar com o aparecimento de galhas nas raízes, lesões, diminuição no porte de parte aérea e radicular das plantas, manchas cloróticas nas folhas, murchamentos e consequentemente uma brusca diminuição na produção. Os sintomas podem variar de acordo com o nível de tolerância das plantas e da densidade de nematoides presentes no solo (MAZETTI, 2017). As perdas causadas por fitonematoides podem variar de imperceptíveis até morte da maioria das plantas, podendo

trazer sérios prejuízos econômicos. A maioria dos danos ocasionados por fitonematoides são atribuídos aos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) a nível mundial (SILVA, 2016).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são endoparasitas que apresentam mais de 3.000 espécies de plantas hospedeiras. Sua ocorrência se dá em todas as regiões do Brasil, com alto potencial de danos, principalmente nas culturas de maior destaque econômico, como é o caso da soja, algodão, feijão e cana-de-açúcar (SABAIANI et al, 2021). Os prejuízos ocasionados por fitonematoides para o agronegócio mundial ultrapassam centenas de bilhões de dólares por ano (ABAD et al., 2008). Apenas para a cultura da soja as perdas ocasionadas por fitonematoides e pelas doenças causadas por eles podem ultrapassar R\$ 16 bilhões ao ano (SBN, 2020).

2.2 USO DE NEMATICIDAS QUIMICOS

O uso de produtos químicos visa ceifar o desenvolvimento de nematoides ainda em seus estádios iniciais, proporcionando redução de danos causados ao sistema radicular das culturas, essa forma de controle é muito utilizada, principalmente em países europeus para um controle inicial satisfatório (MAZZETTI, 2017). Apesar disso, atualmente tem se empregado o uso em larga escala e sem precedentes de nematicidas sintéticos, embora esses apresentem um baixo grau de especificidade e um alto risco de contaminação de solos e fontes de água, podendo apresentar riscos à saúde humana e animal, além do meio ambiente. Adicionalmente, o custo desses produtos é elevado, aumentando os custos de produção agrícola (SABAIANI et al., 2021).

Quando utilizados nematicidas químicos no tratamento de sementes há um baixo período de permanência do produto ativo, gerando um curto período de proteção, de no máximo 30 dias após a emergência das plantas, na maioria dos casos (FASKE e STARR, 2006). A baixa eficácia em nematicidas químicos pode ser relacionada a tecnologia de aplicação utilizada, variando de aplicação diretamente na semente quanto no sulco de semeadura, embora não haja eficácia comprovada dos produtos utilizados e a tecnologia de aplicação recomendada (CORTE et al., 2014). Nos últimos anos ocorreu uma retirada de diversas moléculas nematicidas do mercado, principalmente pela contaminação em alimentos e pela toxidade gerada ao homem. Existe uma carência de compostos nematicidas eficientes e menos tóxicos ao ambiente, podendo esses serem derivados de fontes alternativas, como plantas e microrganismos (SILVA, 2016). Desse modo, é necessário o aprimoramento de pesquisas para busca de novas alternativas eficientes no controle de fitonematoides e suprir as demandas socioeconômicas e ambientais de sustentabilidade (SABAIANI et al., 2021).

2.3 ALTERNATIVAS AOS NEMATICIDAS QUIMICOS

A demanda por alternativas de controle mais sustentáveis na pesquisa agrícola traz o surgimento de pesquisas para a identificação de princípios ativos de extratos vegetais e agentes fúngicos e bacterianos, com potencial nematicida e baixa toxidade ao ambiente e o homem (SABAIANI et al., 2021).

Outros métodos de controle também podem ser empregados visando reduzir os prejuízos causados por esse patógeno, como o controle cultural, que é um dos métodos mais utilizados e que visa pelo meio de rotação de culturas, principalmente com o cultivo de plantas que não sejam hospedeiras de nematoides ou que apresentem resistência para a espécie que acomete a área, além do cultivo de plantas denominadas antagonistas, que inibem a sua reprodução, como crotalárias e mucunas (FERREIRA et al., 2021). Quando os fitonematoides presentes na área são nematoides de galhas pode ser realizada a utilização de espécies como sorgo, mamona e cultivares de milho resistentes de modo a suprimir o desenvolvimento dos mesmos (PINHEIRO et al., 2019).

Uma alternativa que vem cada vez mais sendo utilizada no controle de fitonematoides é o uso de antagonistas como rizobactérias e outros microrganismos. Com o solo em estado propicio para o desenvolvimento de antagonistas e com o uso de consórcios microbianos específicos podemos ter uma diminuição na incidência de nematoides, já que uma relação positiva entre o hospedeiro e a microbiota radicular está relacionada ao baixo desempenho dos mesmos em infectar as plantas (TOPALOVIC et al., 2020; SILVA et al 2018). Sendo ecologicamente sustentável e eficiente para o controle de fitonematoides no solo, sua aplicação é fácil, o custo é diminuído e é ecologicamente sustentável quando comparado a métodos usuais de controle, como o controle químico (BAVARESCO e ARAÚJO, 2017).

Para que haja um controle eficiente nas áreas afetadas, se faz necessário o uso de manejos integrados, visando utilizar mais de uma estratégia de controle, como a rotação de culturas, uso de plantas resistentes, controle químico e também biológico, buscando manter os níveis populacionais de nematoides baixos, evitando grandes danos econômicos (MAZZETTI, 2017). A primeira medida a ser tomada para redução dos danos causados por nematoides é evitar a infestação de novas áreas, isso pode ser realizado por práticas que interrompam os mecanismos de dispersão, como a desinfecção de máquinas utilizadas em talhões infestados (TORRES et al., 2017).

Muitos compostos nematicidas utilizados atualmente são derivados de plantas, sendo o uso de partes de plantas, biofumigação e adubação verde cada vez mais utilizada para o controle de fitonematoides. No controle dos nematoides das lesões *Pratylenchus*s spp. e das galhas *Meloidogyne* spp., partes da planta de espécies da família Asteraceae demonstraram efeitos nematicidas, a incorporação de folhagens de *Tagetes patula* quando incorporada ao solo reduziu a infestação em plantas suscetíveis, ainda outras plantas da família como *Artemisia* spp. demonstraram atividade nematicida, embora o uso de incorporação dessas plantas ao solo não seja muito usual (DIAS et al., 2000; PLOEG, 2000; OKA, 2009). Culturas como mamona e crotalária já apresentaram também potencial de redução de nematoides no solo quando utilizadas incorporadas ao solo infestado com fitonematoides. Órgãos dessas plantas apresentam compostos com ação nematicida ou nematostática e apresentam-se como alternativa fácil, sustentável e benéfica para o controle de fitonematoides (SILVA, 2016).

2.4 USO DE PLANTAS COM EFEITO NEMATICIDA

O cultivo de plantas de cobertura com o intuito de reduzir a incidência de nematoides é uma alternativa bastante utilizada, sendo o uso de rotação de culturas com plantas que produzem compostos inconvenientes a nematoides de maior eficácia no controle (FERREIRA et al., 2021). Normalmente são utilizadas plantas não hospedeiras com atividades antagonistas como crotalária, mucunas, brassicas, braquiárias e asteraceas, que também apresentam potencial uso na adubação verde (MAZZETTI, 2017).

O uso de rotação de culturas tende a ser um eficiente método de controle de nematoides, uma vez que as plantas intolerantes não possibilitem a reprodução dos nematoides e em contrapartida os fatores naturais de mortalidade dos mesmos acabem por reduzir a população do solo. Além disso, a incorporação de partes vegetais pode controlar fitonematoides, melhorar as características do solo e o teor de matéria orgânica, podendo os resíduos vegetais serem empregados na agricultura pela utilização dos extratos de plantas, adubação verde ou biofumigação (SILVA, 2016).

A incorporação de material orgânico no solo já é uma pratica utilizada para o controle de nematoides, através da liberação dos compostos da decomposição das plantas no solo como o guandu e a crotalária que já demonstraram efeito de redução na população de nematoides com a sua utilização, assim como materiais alternativos que seriam descartados ou inutilizados como estercos, torta de mamona, bagaço de cana e palha de café que quando incorporados ao solo também demonstraram efeito na redução de nematoides (FERREIRA et al., 2021).

Há uma grande modificação nas interações que ocorrem entre as plantas e nematoides, o que se modifica entre as espécies podem ser basicamente os compostos químicos exudados pelas raízes, de modo que possam ser atrativas ou não aos nematoides, causando maiores danos as plantas ou então a diminuição da infestação no solo (WILSCHUT et al., 2017). As substancias encontradas nas plantas e os exudados possuem uma característica comum, que é a presença de compostos orgânicos voláteis (COV's), esses conhecidos por afetar diretamente as interações existentes entre os organismos (COSTA et al., 2001, WILSCHUT et al., 2017).

Em muitos países já vem se adotando a biofumigação de plantas de cobertura visando a redução na utilização de agrotóxicos e o decréscimo da população de nematoides no solo, como no uso de espécies de brassicaceae nos cultivos de batata e tomate no continente africano (DANEEL et al., 2018).

Ainda outros materiais subutilizados e sem valor comercial são alternativas eficientes no controle de nematoides, como a utilização de farinhas de semente de mamão, sementes de mamão, plantas medicinais por conta dos COVs emitidos em sua decomposição, pois apesar de vários estudos realizados com a utilização de biofumigação ainda é pouco conhecido o potencial de plantas alternativas e pouco utilizadas como as plantas medicinais e daninhas (GOMES et al., 2020; SILVA et al., 2020).

A composição química das plantas daninhas ainda é pouco estudada, e muitos compostos presentes em seus volatilomas são pouco conhecidos, a identificação de compostos presentes nas plantas com capacidade nematicida auxilia no entendimento de como ocorre o antagonismo que as plantas causam aos nematoides, uma vez que apresentam grande potencial de serem utilizados como biofumigantes em áreas em que há infestações de fitonematoides e também na prospecção de novas moléculas nematicidas (MOREIRA et al., 2015; ROCHA et al., 2012; GOMES et al., 2020, SILVA et al., 2019).

2.5 COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS EMITIDOS POR PLANTAS TÓXICOS A FITOENATOIDES

Compostos como glucosinolatos são metabolitos secundários emitidos em algumas espécies de plantas, esses contendo em sua composição enxofre e nitrogênio, que ao serem decompostos geram isotiocianatos que possuem evidencias de seus efeitos fungicidas e nematicidas (SANTOS et al., 2021). Dentre os compostos produzidos na decomposição de materiais os COVs são os compostos que contem poucos átomos de carbono e alta pressão de vapor, com capacidade de atravessar livremente membranas e que na ausência de uma barreira

de difusão são liberados no solo ou atmosfera. Vários COVs estão presentes nas plantas e são resultados do metabólito secundários desses materiais (SILVA, 2016; BRENNAN et al., 2020).

A maioria dos estudos sobre COVs se concentra na sua produção por plantas na biofumigação, principalmente com as brásicas (OKA, 2009). Nos últimos anos COVs com potencial toxico a nematoides vêm sendo estudados em diferentes espécies vegetais, principalmente por técnicas de cromatografia gasosa e espectrometria em massa. Muitos COVs já foram caracterizados na emissão de diversos órgãos vegetais com alto efeito nematicida, estudos realizados por Barros (2014) comprovaram a eficiência de COVs emitidos de macerados de neem e mostarda na redução de nematoides e ovos, em ambiente vedado. De acordo com Gomes (2020), COVs emitidos de resíduos de sementes de mamão também apresentaram potencial nematóxico e redução de nematoides de galhas em experimento. Experimento realizado por Silva (2016) concluiu que o uso de COVs emitidos de brócolis e girassol apresentaram efeito toxico a nematoides e o uso de etanol causou alta mortalidade de nematoides em testes *in vitro*.

Atualmente, práticas mais sustentáveis vêm surgindo de modo a serem utilizadas no combate aos patógenos de plantas nas áreas de produção agrícola e também plantas com potencial antagônico vem cada vez mais sendo incorporadas aos manejos de populações de nematoides (ZHAN et al. 2015; SILVA et al., 2018). O aproveitamento de recursos e resíduos gerados da indústria na agricultura se mostra uma alternativa ecologicamente correta e economicamente rentável no manejo de nematoides, além disso, os compostos voláteis emitidos por muitas plantas que podem ser aplicados ao controle de nematoides tem sido determinado nos últimos anos, evidenciando que a utilização de compostos ainda desconhecidos pode resultar em uma futura utilização como nematicidas comerciais (GOMES et al, 2020; SILVA et al., 2020). Os COVs emitidos por essas plantas quando aplicadas no solo podem ficar retidos nas águas contidas nos poros do solo e alcançarem os juvenis de fitonematoides (BARROS et al., 2014). Esses materiais utilizados devem ser viáveis em quantidades aplicáveis no campo ou, ainda, podem servir para a prospecção de moléculas nematicidas (SILVA et al., 2018).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DE Meloidogyne javanica

Para a montagem dos experimentos foram utilizados juvenis do segundo estádio (J2) e ovos da espécie *M. javanica*. Os nematoides foram obtidos de plantas de tomate inoculadas com uma população pura identificada por eletroforese e mantidas em casa de vegetação no Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM. Os ovos foram extraídos das raízes pela técnica de Boneti e Ferraz (1981) e os J2 obtidos dos J2 eclodidos em câmaras de eclosão por decantação em peneiras de 500 mesh. Para os experimentos, os J2 eclodidos após as primeiras 24h foram descartados e somente utilizados os J2 eclodidos a partir daí, com no máximo 24h de idade.

3.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Os materiais vegetais foram coletados a campo em áreas de cultivo de soja na UFSM. As espécies utilizadas foram plantas consideradas daninhas ou invasoras não hospedeiras ou hospedeiras ruins de *Meloidogyne* spp. e difundidas na região Sul do Brasil ou ainda, plantas com a presença de grupos químicos já descrito com efeito tóxico a nematoides ou outros organismos (BELLÉ et al., 2019; DENG et al., 2022; BARROS, 2014). Foram utilizadas folhas de guaco (Mikania cordifolia), maria pretinha (Solanum americanum), corda de viola (Ipomoea purpurea), nabo forrageiro (Raphanus sativus), nabiça (Raphanus raphanistrum), leiteiro (Euphorbia heterophylla), carqueja (Baccharis trimera), joá (Solanum sisymbriifolium), joá bravo (Solanum viarum), rabo de burro (Andropogon bicornis), poaia branca (Richardia brasiliensis), ervilhaca (Vicia sativa), caruru (Amaranthus viridis), assa peixe (Vernonia polyanthes), picão branco (Galinsoga parviflora), flor roxa (Echium plantagineum L.), serralha (Sonchus oleraceus) e assa peixe branco (Vernonia polysphaeria) identificadas pela sua morfologia. As folhas das espécies foram coletadas em épocas próximas a floração, onde geralmente é considerado o limite de dessecação para que não se formem bancos de sementes e imediatamente levadas para o laboratório, esterilizadas superficialmente em solução aquosa de hipoclorito de sódio (1%) por 30 segundos. Logo após as folhas foram triplamente lavadas em água destilada e secas em papel toalha. Em seguida, o material vegetal foi macerado manualmente em almofariz até a obtenção do macerado vegetal homogêneo que foi utilizado nos experimentos na sequência.

3.3 SCREENING DAS PLANTAS PELOS EFEITOS TÓXICOS A Meloidogyne javanica

As folhas de cada espécie vegetal foram avaliadas quanto ao efeito direto dos extratos aquosos ou pela emissão de COVs. Para preparo dos extratos aquosos 4g de cada material foi levado para liquidificador junto a 100 mL de água destilada (4% m.v.). Em seguida, 1 ml do extrato foi transferido para um microtubo junto a 1 mL de suspensão aquosa contendo aproximadamente 150 J2, resultando em metade da concentração inicial do material vegetal (4% m.v). Como controle foi utilizada somente água destilada (0% m.v). Após 24 horas de exposição dos J2 aos extratos, foi realizada a verificação da imobilidade e mortalidade dos J2, onde a solução contida no microtubo com nematoides foi depositada em uma microplaca de microtitulação do tipo Elisa e foram contabilizados os nematoides vivos, imóveis e mortos. Para verificação do efeito dos COVs foi utilizada a técnica da placa bipartida (BARROS et al., 2014; TERRA et al., 2017; SILVA et al., 2018). Um dos lados da placa bipartida recebeu 5g de cada material vegetal macerado e no compartimento vizinho, 2 ml de uma suspensão aquosa contendo aproximadamente 200 J2 de M. javanica. Em seguida as placas foram fechadas e vedadas com filme plástico e mantidas em uma temperatura controlada de 25°C por 48 horas. Como controle utilizou-se somente água destilada em um compartimento e a suspensão de J2 no outro. A mobilidade e mortalidade dos J2 foram avaliadas de acordo com a metodologia do NaOH proposta por Chen e Dickson (2000) em placa elisa sob um microscópio óptico invertido e posteriormente o percentual de J2 imóveis e mortos foi calculado.

3.4 TOXICIDADE DOS EXTRATOS E COVS DE PLANTAS EM OVOS DE *Meloidogyne javanica*.

A partir do screening do item 3.3, as plantas que apresentaram maior efeito toxico contra os J2 tanto na solução aquosa e nas placas bipartidas foram testadas para verificação quanto à eclosão dos J2 dos ovos. Foram testados o efeito direto dos extratos em microtubo e o efeito dos COVs na placa bipartida como descrito no item anterior (3.3). No entanto, no contato direto com o extrato das plantas, 300 ovos de *M. javanica* em 1mL de água destilada foram misturados ao extrato na concentração final de 4% (8 g em 100 ml). Para avaliação dos COVs, uma a suspensão 300 ovos de *M. javanica* foi colocada em um compartimento da placa bipartida e 4

g do material vegetal foi adicionado no outro. Após a aplicação dos macerados nos ovos, as placas ou os microtubos foram alocados em câmara de crescimento a 25°C por 3 dias. Em seguida, os ovos foram removidos, lavados em água destilada sobre uma peneira de 500 mesh e colocados em uma câmara de eclosão contendo um tecido de abertura de 500 mesh. A cada 24h, durante 10 dias, a água de cada câmara foi trocada e foram estimados o número de J2 eclodidos. No 10° dia todos os valores foram somados para determinar o total de J2 eclodidos.

3.5 BIOFUMIGAÇÃO COM MATERIAL VEGETAL EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

As plantas selecionadas foram utilizadas na verificação do potencial de biofumigação no solo contra fitonematoides. A montagem do experimento de biofumigação seguiu os procedimentos realizados em trabalhos anteriores (BARROS et al., 2014; SILVA et al., 2018; GOMES et al., 2020). Desse modo, foi utilizado um substrato comercial a base de casca de pinus da marca Mec plant, que foi misturado aos macerados de plantas em sacos plásticos, obtendo-se misturas nas concentrações de 0,0% (controle), 1,0%, 2,0%, 4,0% ou 8,0% de macerados. Posteriormente uma solução cerca de 3.000 ovos de nematoides M. javanica foram adicionados a mistura em cada saco. O conteúdo dos sacos foi homogeneizado e a mistura de ovos, substrato e material vegetal depositada em copos plásticos de 300 ml, sendo copos sem macerados o controle negativo (0,0%). Os copos foram vedados com filme plástico PVC para retenção dos COVs e biofumigação. Para a verificação do efeito dos COVs isolados de outros compostos, um microtubo de 1,5 ml foi aterrado no centro do copo (LOPEZ et al., 2017). Após 3 dias, uma suspensão contendo aproximadamente 150 J2 de M. javanica foi injetada dentro do microtubo com o auxílio de uma seringa, onde permaneceram expostos aos COVs por 48 horas. Logo após a remoção da seringa o orifício no filme PVC foi tapado com fita adesiva evitando a perda do COVs. Após 24h houve a remoção dos J2 do microtubo e foi estimada a porcentagem de moveis, imóveis e mortos em microscópio ótico pela técnica de Chen e Dickson (2000). Junto à retirada do microtubo foi removido o filme de PVC dos copos e os mesmos receberam uma muda de tomateiro (cv. Santa Clara) com 20 dias de idade. As mudas foram mantidas em casa de vegetação por 60 dias. As mudas foram irrigadas diariamente conforme necessidade (TERRA et al., 2017). Não foram realizadas adubações ou demais praticas culturais que pudessem intervir no experimento. Ao final do período, as raízes foram removidas do substrato, lavadas, pesadas e o número de galhas foi estimado por grama de raiz. Posteriormente extraiuse os ovos pela técnica de Boneti e Feraz (1981) e o número de ovos foi estimado em microscópio óptico em câmara de Peters e dividido por grama de raiz.

3.6 IDENTIFICAÇÕES DOS VOLATILOMAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA (GC/MS)

Foram preparadas amostras das duas espécies de plantas selecionadas aos nematoides nos experimentos anteriores. Quatro gramas dos macerados vegetais foram inseridos em frascos para cromatografia de 20 ml, que foram mantidos por três dias vedados para que se concentrassem os COVs emitidos pelos macerados. Duas repetições foram feitas para cada espécie vegetal. Foram estabelecidos os parâmetros para a microextração em fase sólida (SPME) no modo headspace (ARTHUR e PAWLISZYN, 1990). A identificação dos COVs foi feita pela comparação dos espectros de massas dos picos das amostras com espectros da biblioteca NIST pelo programa Mass Spectral Search Program v. 1.7 (NIST, Washington - DC, USA) e pela comparação entre os índices de retenção obtidos experimentalmente (RI Exp.) com os índices de retenção da literatura (RI Lit.) (NIST, 2013). Para a comparação entre os espectros de massas foram apenas considerados picos em que haja uma similaridade maior que 80% entre os espectros. Os índices de retenção experimentais foram obtidos através da injeção de uma série homóloga de alcanos.

3.7 ESTATÍSTICA

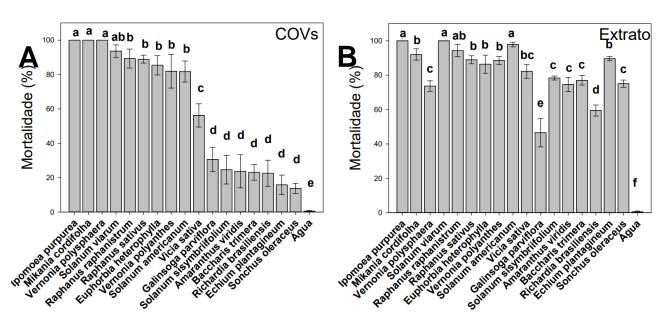
Todos os experimentos foram realizados duas vezes, com exceção da cromatografia gasosa que foi realizada em duplicata. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. Os experimentos foram analisados em fatorial por análise de variância (experimento1 x experimento 2) e quando não houve diferença significativa, foi realizada análise conjunta. Os dados foram submetidos a análises de normalidade de resíduos (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Bartlett). Em todos os experimentos foi realizada a análise de variância. Os tratamentos com múltiplas espécies e quantidades de material vegetal foi feita uma análise bifatorial (espécie vegetal x quantidade) de material vegetal. As médias das variáveis para cada tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey com P<0,05. Para análise de dados quantitativos de concentração os modelos de regressão foram escolhidos pelo melhor ajustamento.

4 RESULTADOS

4.1 SCREENING DAS PLANTAS DANINHAS

Todas as plantas testadas no screening apresentaram diferença significativa em relação ao controle (P<0,01), (Figura 1), onde as plantas causadoras de maior mortalidade aos nematoides expostos aos COVs foram: guaco (*Mikania cordifolia*), corda de viola (*Ipomoea purpurea*), assa peixe branco (*Vernonia polysphaeria*) e joá bravo (*Solanum viarum*) com mortalidade de mais de 90%. Todas as plantas apresentaram porcentagens de imobilidade semelhante à mortalidade. Já no contato direto dos extratos de plantas as que apresentaram maior mortalidade foram guaco (*Mikania cordifolia*), joá bravo (*Solanum viarum*), maria pretinha (*Solanum americanum*) e nabiça (*Raphanus raphanistrum*) apresentando mortalidade também maior que 90%. Diante desses resultados foram selecionadas as plantas de guaco (*Mikania cordifolia*) e joá bravo (*Solanum viarum*) para continuidade dos experimentos.

Figura 1 - Screening de macerado de planta daninhas pela mortalidade de juvenis de segundo estádio (J2) de *M. javanica*. A:J2 expostos aos compostos orgânicos voláteis emitidos pelos macerados. B: J2 aplicados diretamente nos extratos aquosos de cada planta. Letras diferentes entre os tratamentos indicam que houve diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05). As barras indicam o erro padrão da média. Os resultados representam a análise conjunta de dois experimentos.

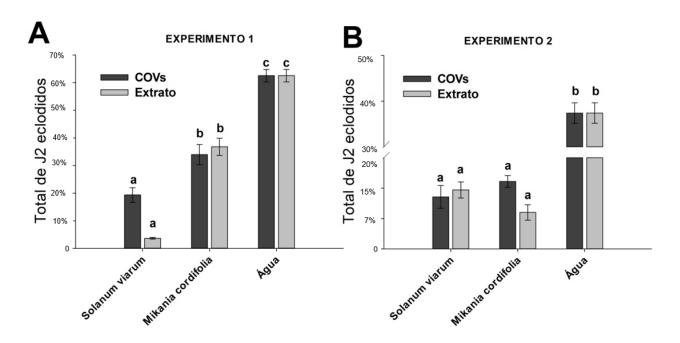


Fonte: Próprio autor.

4.2 EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS E COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS NOS OVOS DE *Meloidogyne javanica*

Após a seleção das plantas foram realizados os testes de toxidade em ovos de *M. javanica* com os COVs e contato direto com extratos aquosos. Ambas as espécies inibiram significativamente a eclosão em relação ao controle (P<0.01) (Figura 2). *S. viarum*, se destacou em um experimento (Figura 2A) apresentando 70% de inibição da eclosão de J2 dos ovos em relação ao controle, tanto pela emissão de COVs quanto pelo contato com o extrato. Já a *M. cordifolia* reduziu em cerca de 35% a eclosão comparada ao controle tanto em COVs quanto em contato com o extrato. Na repetição do experimento (Figura 2B) ambas as plantas reduziram cerca de 65% a eclosão em relação ao controle com água, tanto no extrato quanto pelo contato com COVs.

Figura 2 - Eclosão de juvenis de segundo estádio (J2) de *M. javanica* expostos aos compostos orgânicos voláteis (COVs) e extratos aquosos de plantas feitos independentemente. A: Experimento 1; B: Experimento 2. Letras diferentes entre os tratamentos indicam que houve diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05). As barras indicam o erro padrão da média.

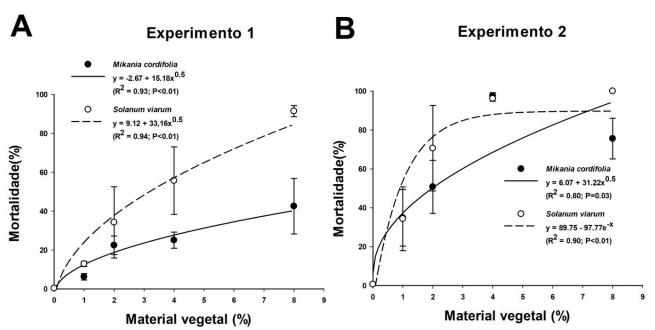


Fonte: Próprio autor.

4.3 EFEITO DA BIOFUMIGAÇÃO DO SOLO COM Mikania cordifolia E Solanum viarum EM Meloidogyne javanica EM TOMATEIROS

Avaliando-se a mortalidade dos J2 de *M. javanica* em microtubos expostos aos COVs de *M. cordifolia* e *S. viarum*, houve efeito significativo (P<0,01) (Figura 3). O aumento da concentração de *M. cordifolia* até 8% do macerado, chegou a causar 100% de mortalidade de J2 em ambos os experimentos. No entanto, a mortalidade de *S. viarum* chegou a 40% e 80% no primeiro e segundo experimento respectivamente. Ambas as espécies já causaram mortalidade significativa a partir de 1% de macerado no substrato em relação à concentração 0%.

Figura 3 - Mortalidade de juvenis de segundo estádio de *Meloidogyne javanica*, contidos em microtubos expostos aos compostos orgânicos voláteis emitidos por diferentes concentrações de macerados de folhas de guaco (*Mikania cordifolia*) e joá bravo (*Solanum viarum*) incorporados ao substrato em copos fechados, simulando o processo de biofumigação. A: experimento 1. B: experimento 2. As barras indicam o erro padrão da média.

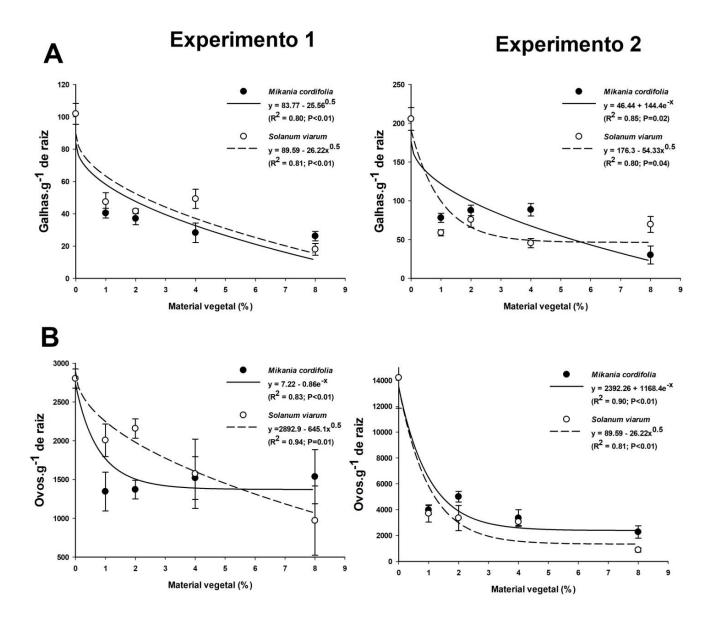


Fonte: Próprio autor.

Ambas as espécies de plantas reduziram significativamente o número de galhas em raízes de tomateiro nos dois experimentos (P<0,01). Com a aplicação de 1% de macerado vegetal a redução foi no mínimo de 55% em relação ao controle para as duas espécies vegetais. O aumento da concentração a partir daí, não reduziu significativamente o número de galhas em pelo menos um dos experimentos. O número de ovos também apresentou uma diminuição significativa com o aumento da quantidade dos macerados (P<0,01). No primeiro experimento

a redução das duas espécies foi de cerca de 50%, já na concentração de 1% de macerado (Figura 4a). Enquanto que na segunda repetição a redução foi de 68% já na concentração de 1% (Figura 4b). Apesar de a redução ter alcançado até 80% dependendo da espécie vegetal, em pelo menos um dos experimentos a aumento da concentração não foi significativo.

Figura 4 - Infectividade e reprodução de *Meloidogyne javanica* em tomateiro cultivado em substrato biofumigado com às diferentes quantidades de macerados de folhas de guaco (*Mikania cordifolia*) e joá bravo (*Solanum viarum*). A: Galhas por grama de raiz. B: ovos por grama de raiz. Os experimentos foram realizados e analisados independentemente. As barras indicam o erro padrão da média.



Fonte: Próprio autor.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Foram identificados 43 e 16 compostos voláteis emitidos pelos macerados de folhas de guaco *M. cordifoliae S. viarum*, respectivamente (Tabela 1). Não houveram compostos comuns detectados em ambas as espécies. Os compostos presentes nas amostras foram identificados com "+" e quando o composto obteve picos com maior intensidade recebeu a identificação "++". Em *M. cordifolia* foram identificadas maior número de compostos do grupo dos terpenos. Em *S. viarum* foram identificados compostos do grupo dos terpenos, álcoois, ácidos carboxílicos, fenol, aldeídos e éter. Os compostos que apresentaram maiores intensidades em *M. cordifolia* foram: β-Pineno, ρ-Cimeno, Biciclogermacreno e Transcariofileno dos grupos dos terpenos. Para *S. viarum* os compostos de maior intensidade foram Salicilato de Metila, Eugenol e Pentadecanal dos grupos dos ácidos carboxílicos e aldeídos, respectivamente.

Tabela 1- Volatilomas de macerados de folhas de joá bravo (*Solanum viarum*) e guaco (*Mikania cordifolia*) identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Commented	Solanum	Mikania	Calc.	Ref.	Sim.
Compostos	viarum	cordifolia	$\mathbf{RI}^{\mathbf{a}}$	RI^b	% c
Terpenos					
Eucaliptol	+		957	-	-
Mentol	+		1155	1161	99,48
β-Ciclocitral	+		1201	1217	98,67
TransBIoneno	+		1481	1487	99,59
δ-Cadineno	+		1516	1522	99,6
Fitano	+		1464	-	-
β-Pineno		++	844	-	-
Mirceno		+	904	-	-
Felandreno		+	915	-	-
ρ-Cimeno		++	958	992	96,45
β-Felandreno		+	960	990	96,88
Limoneno		+	961	995	96,46

+	1005	1023	98,21
+	1011	1030	98,12
+	1047	1063	98,47
+	1154	1174	98,26
+	1326	1335	99,32
+	1340	1345	99,62
+	1352	1357	99,63
+	1359	1373	98,97
+	1364	1374	99,26
+	1371	1387	98,83
+	1375	1373	99,85
+	1379	1374	99,63
+	1382	1389	99,49
++	1401	1417	98,86
+	1413	1387	98,16
+	1422	1439	98,80
+	1427	1437	99,30
+	1432	1428	99,72
+	1437	1452	98,95
+	1445	1458	99,10
	1.440	1502	06.27
+	1449	1503	96,27
+	1468	1480	99,18
++	1484	1500	98,92
+	1490	1508	98,79
	1514	1522	99,47
+	1527	1537	99,34
	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+ 1011 + 1047 + 1154 + 1326 + 1340 + 1352 + 1359 + 1364 + 1371 + 1375 + 1379 + 1382 ++ 1401 + 1413 + 1422 + 1427 + 1432 + 1437 + 1445 + 1449 + 1468 ++ 1484 + 1490 1514	+ 1047 1063 + 1047 1063 + 1154 1174 + 1326 1335 + 1340 1345 + 1352 1357 + 1359 1373 + 1364 1374 + 1371 1387 + 1379 1374 + 1382 1389 ++ 1401 1417 + 1432 1439 + 1422 1439 + 1427 1437 + 1432 1428 + 1437 1452 + 1445 1458 + 1445 1458 + 1448 1500 + 1484 1500 + 1490 1508 1514 1522

β-Germacreno		+	1542	1559	98,89
Óxido de Cariofileno		+	1568	1582	99,10
Torreyol		+	1659	1644	99,09
α-Eudesmol		+	1669	1652	98,98
T-Muurolol		+	1672	1652	98,80
Alcoóis					
β-Eudesmol		+	1666	1649	98,98
Pentadecanol	+		1787	1773	99,22
Tetradecanol	+		1693	-	-
Fenóis					
Eugenol	++		1361	1356	99,63
Ácido carboxílico					
Salicilato de Etila	+		1258	1266	99,36
Salicilato de Metila	++		1178	1190	98,98
Aldeídos					
Tetradecanal	+		1631	1611	98,77
Octadecenal	+		1698	-	-
Pentadecanal	++		1723	1711	99,30
Benzeno acetaldeído	+		990	-	-
Éteres					
Éter Dioctil	+		1685	-	-
Outros					
1-Isopropil-4-Metil-7-Metileno-		1	1.477	1465	00.19
1,2,3,4,4a,5,6,7-Octahidronaftaleno		+	1477	1465	99,18
Ácido 2-(16-acetoxi-4,8,10,14-					
tetrametil3,11-					
Dioxohexadecahidrociclopenta[A]f		+	1566	1577	99,29
enantren-17-ilideno)-6-metil-hept-					
5-enóico, éster metílico					
Cadina-1,4-Diene <trans-< td=""><td></td><td>+</td><td>1521</td><td>1533</td><td>99,21</td></trans-<>		+	1521	1533	99,21

1-Undeceno	+	1062	1087	97,64
Hidrato Trans Sabineno	+	1022	-	_

aÍndices de retenção calculados por injeção de uma série homóloga de alcanos. bÍndices de retenção de acordo com a literatura (ADAMS, 2007; NIST, 2013). Similaridade entre o espectro de massas do pico e o espectro de massas da biblioteca (NIST, 2013). Os "+" representam presença do composto, enquanto "++" representa composto com pico de alta intensidade no cromatograma.

Fonte: Próprio autor.

5 DISCUSSÃO

O uso de plantas antagônicas como aliadas no manejo de fitonematoides pode representar uma tática sustentável e eficiente quando incorporadas ao solo (OKA, 2009), principalmente no caso de plantas invasoras ou não comerciais. Todas as plantas utilizadas neste trabalho apresentaram toxicidade a *M. javanica*, tanto pela avaliação do contato direto com extrato aquoso quanto aos COVs, indicando potencial antagonista destes materiais e a importância do screening na prospecção de novas alternativas para incorporação e biofumigação do solo (BARROS et al., 2014; SILVA et al., 2019). Após a seleção das espécies *M. cordifolia* e *S. viarum* verificou-se a eficiência ovicida de cada um dos macerados e COVs emitidos sobre os ovos e também na redução da infectividade e reprodução de *M. javanica*, reforçando o potencial uso dessas plantas, que mostraram uma variedade de grupos químicos na emissão de COVs. Apesar de trabalhos mostrarem o efeito tóxico de COVs em nematoides das galhas, poucos focaram na espécie *M. javanica* (DENG et al., 2022).

Muitos dos gêneros ou famílias vegetais estudadas neste trabalho apresentam representantes no controle de fitonematoides (BRENNAN et al., 2020). Dessa maneira, plantas consideradas invasoras ou daninhas podem ser utilizadas no manejo de fitonematoides pela facilidade de ocorrência e distribuição expansiva em áreas agrícolas (MONACO et al., 2009). As espécies *M. cordifolia* e *S. viarum* mostraram efeito altamente tóxico e são amplamente distribuídas na região sul do Brasil com baixa hospedabilidade a *M. javanica* (LOPES et al., 2019; MONACO et al., 2009). Apesar das plantas terem demonstrado efeito tóxico a outros organismos e serem até mesmo consideradas medicinais (ARAÚJO et al., 2020), este trabalho mostra pela primeira vez os extratos e COVs emitidos pelas espécies daninhas causando alta mortalidade em nematoides das galhas. Além de causar mortalidade próxima a 100% nos J2 de *M. javanica*, o extrato aquoso e COVs de *M. cordifolia* e *S. viarum* reduziram mais de 60% a

eclosão dos J2 nos ovos em pelo menos um dos experimentos, onde *S. viarum* apresentou maior toxicidade. A redução na eclosão pelos efeitos tóxicos de extratos e COVs de plantas pode refletir na redução de novos inóculos para plantas hospedeiras, indicando maior possibilidade de eficiência na biofumigação (BARROS et al., 2014; LOPEZ et al., 2017). No solo, os nematoides irão mover-se pelos poros contendo água e compostos que se diluem em água, como no extrato aquoso, ou composto menores, como COVs que alcançam mais facilmente os J2 e ovos (TERRA et al., 2017; SILVA et al., 2018). Por isso, extratos aquosos de espécies vegetais com alto efeito tóxico representam eficientes alternativas para aplicação e avaliação de possíveis antagônicas para incorporação no solo.

A biofumigação com os macerados vegetais apresentou eficácia na redução de galhas e de ovos, demonstrando efeito das plantas na infectividade e reprodução do nematoide. Pelo aumento da concentração dos macerados de plantas no substrato, houve maior efeito dos COVs nos J2 de M. javanica, demonstrando uma correlação no potencial nematicida dos COVs emitidos nos macerados como já verificado em outras espécies vegetais (SILVA et al., 2018, SILVA et al., 2019, GOMES, 2021). Apesar do aumento na quantidade de material vegetal, o uso de somente 1,0 % já apresentou alto efeito tóxico de ambas as plantas em todos os experimentos avaliados. Essa quantidade representa cerca de 14 ton.ha⁻¹, menor que outras espécies consideradas para o controle de nematoide das galhas (GOMES et al., 2018, SILVA et al., 2018). O grupo mais recomendado para biofumigação seria das brassicas, onde parte do material é utilizado pela emissão de glicosinolatos e isotiocianatos (BRENNAN et al., 2020; SILVA, 2016). A recomendação para brássicas chega a 50 ton.ha (PLOEG et al., 2001), cerca de 4 vezes mais que os valores de *M. cordifolia* e *S. viarum* deste trabalho. Como as plantas utilizadas aqui são consideradas invasoras e geralmente eliminadas pelo uso de herbicidas ou mecanicamente, o valor de 14 ton.ha⁻¹ de parte aérea incorporada pode representar algo viável em áreas altamente infestadas com o nematoide. Além disso, a biofumigação com cobertura plástica sobre o solo, acaba por auxiliar na retenção dos voláteis emitidos dos macerados no solo potencializando a supressão dos nematoides (SILVA, 2018; TERRA et al., 2017; OKA., 2009, NEVES et al., 2007).

Os volatilomas de *M. cordifolia* e *S. viarum* apresentaram diversidade nos grupos de COVs identificados. O volatiloma de *M. cordifolia* apresentou maior número de terpenos com alta intensidade dos picos. Muitos terpenos já possuem ação reconhecida como nematicidas, podendo ser relacionada a efeitos sobre a permeabilidade de membrana e danos em organelas (BORGES, 2017; GORDIM, 2019). Terpenos como limoneno, β-pineno, p-Cimeno, identificados no volatiloma de *M. cordifolia* e eucaliptol e mentol encontrados em *S. viarum* já

foram relatados com ação nematicida ou repelentes a fitonematoides (NTALLI et al., 2010, ARDAKANI e HOSSEININEJAD, 2022, DENG et al., 2022; LI et al., 2020). No entanto, outros terpenos como Biciclogermacreno e Transcariofileno encontrados em *M. cordifolia* com alta intensidade foram identificados em óleos ou plantas com relatos de nematicidas (KALAISELVI et al., 2019; OKA et al., 2000) e representam compostos de potencial estudo contra *M. javanica*. Outros compostos de menor intensidade detectados no volatiloma de *M. cordifolia* apresentam potencial uso pela detecção em materiais tóxicos a fitonematoides (LAQUALE et al., 2015; KEERTHIRAJ et al., 2021)

No volatiloma de *S. viarum* foram encontrados menos terpenos, mas compostos de outros grupos químicos apresentaram maior numero como ácidos carboxílicos, fenol e aldeídos. Compostos com maior intensidade encontrados em *S. viarum* foram salicilato de metila e eugenol, ambos já relatados como tóxico a espécies de *Meloidogyne* spp. (KIHICA et al., 2017; LI et al., 2013, DENG et al., 2022). No entanto compostos com menor intensidade como pentadecanal, encontrado também em extratos de *S. tuberosum* apresentam potencial nematicida (FARIA et al., 2014; NTALLI et al., 2010; SAINZ et al., 2019; TADIGIRI et al., 2020; CABONI et al., 2013; SILVA et al., 2019; ELTZ, 2021).

Dessa maneira, podemos afirmar que os compostos já caracterizados como tóxicos a espécies de *Meloidogyne* podem estar fortemente envolvidos no controle de *M. javanica* pela incorporação de *M. cordifolia* e *S. viarum* na biofumigação e vários compostos podem estar envolvidos com os efeitos nematicidas em *M. javanica*. Estudos mais aprofundados com os compostos β-pineno, Cimeno, Biciclogermacreno, Transcariofileno, salicilato de metila, eugenol e Pentadecanal com potencial nematicida devem ser realizados na tentativa de prospectar novos compostos nematicidas análogos aos emitidos por plantas como já realizados em vários grupos vegetais (SILVA et al., 2018; GOMES et al., 2020; DENG et al., 2022).

6 CONCLUSÕES

Os macerados de folhas e os COVs emitidos das plantas daninhas avaliadas apresentam atividade tóxica a *M. javanica* com destaque para *S. viarum* e *M. cordifolia* com alto efeito tóxico tanto a J2 quanto aos ovos do nematoide. Consequentemente, a biofumigação com *S. viarum* e *M. cordifolia* reduziu a infectividade e reprodução dos nematoides com uma alta eficiência na concentração de 1,0 % (m/m) no substrato. Os volatilomas de *S. viarume M. cordifolia* mostraram 43 e 16 compostos, respectivamente com muitos COVs já descritos como tóxicos a *Meloidogyne* spp. como β-Pineno, Cimeno, Biciclogermacreno, Transcariofileno, Salicilato de Metila, Eugenol e Pentadecanal demonstrando potencial nematicida a *M. javanica*.

REFERÊNCIAS

ABAD, P et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Natural Biotechnology**, vol. 26, n.8, p. 909- 915, 2008.

ARAÚJO, A. C. J. *et al.*, Caracterização GC-MS-FID e atividade antibacteriana do óleo essencial de Mikaniacordifolia e limoneno contra cepas MDR. **Toxicologia Alimentar e Química**, Vol. 136. 2020.

ARDAKANI, A. S.; HOSSEININEJAD, S. A. Identification of chemical components from essential oils and aqueous extracts of some medicinal plants and their nematicidal effects on *Meloidogyne incognita*. **Journal of Basic & Applied Zoology**, vol. 83, n. 1, 2022.

ARTHUR, C.L.; PAWLISZYN, J. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemestry**, Vol. 62, p. 2145–2148, 1990.

BAVARESCO, L. G.; ARAÚJO, F. F. APLICAÇÃO DE *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DE NEMATOIDES DAS GALHAS EM TOMATEIRO. **Colloquium Agrariae**, vol. 13, p. 41-46, 2017.

BARROS, A. F. *et al.* Tempo de exposição de juvenis de segundo estádio a voláteis emitidos por macerados de nim e de mostarda e biofumigação contra *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, vol. 44, p. 190-199, 2014.

BELLÉ, C. *et al.* Meloidogyne Species Associated with Weeds in Rio Grande do Sul. **Planta daninha**, vol. 37, 2019.

BONETTI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de Meloidogyne exigua em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, 6: 553.

BONTHOUX, S. *et al.* More than weeds: Spontaneous vegetation in streets as a neglected element of urban biodiversity. **Landscape and Urban Planning**, Vol. 185, 2019.

BORGES, D. F. **Efeito Nematicida De Extratos De Plantas Do Cerrado E Óleos Essenciais.**Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais – Brasil, 2017

BRENNAN, R. J. B. *et al.* Biofumigation: An alternative strategy for the control of plant parasitic nematodes. **Journal of Integrative Agriculture**, vol 19, 2020.

CABONI, P. *et al.* Nematicidal Activity of Mint Aqueous Extracts against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol 61 (41), 2013.

CHEN, S. Y.; D. W. DICKSON. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, vol. 32, 2000.

CORTE, G. D. *et al.* Tecnologia de aplicação de agrotóxicos no controle de fitonematoides em soja. **Ciência Rural**, vol. 44, n. 9, p. 1534-1540, 2014.

COSTA, M. J. N. *et al.* Toxicidade de extratos vegetais e de estercos a *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, vol. 27, p. 245-250, 2001.

DANEEL M, *et al.* The host status of Brassicaceae to Meloidogyne and their effects as cover and biofumigant crops on root-knot nematode populations associated with potato and tomato under South African field conditions. **Crop Protection**, vol 110, p. 198–206. 2018.

DIAS, C. R. *et al*. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Vol. 24(2), p. 203-210, 2000.

DENG, X.; WANG, X.; LI, G. Nematicidal Effects of Volatile Organic Compounds from Microorganisms and Plants on Plant-Parasitic Nematodes. **Microorganisms**, vol 10, 2022.

ELTZ, F. C. KRETEKS: uma revisão da literatura sobre os aspectos toxicológicos e o perfil epidemiológico dos cigarros de cravo. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2021.

FARIA, J. M. S. *et al.* In vitro co-culture of Solanum tuberosum hairy roots with Meloidogyne chitwoodi: structure, growth and production of volatiles. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, vol 118, p. 519–530, 2014.

FERREIRA, P. A.; NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; Controle Cultural de Nematoides. Controle alternativo de pragas e doenças: opção ou necessidade? **EPAMIG**. Belo Horizonte. 2021.

JARDIM, I.N. *et al.* (E)-cinnamaldehyde from the essential oil of Cinnamomum cassia controls Meloidogyne incognita in soybean plants. **J Pest Sci**, vol 91, p. 479–487, 2018.

KIHIKA, R. *et al.* Parasitic nematode Meloidogyne incognita interactions with different Capsicum annum cultivars reveal the chemical constituents modulating root herbivory. **Sci Rep,** vol 7, 2017.

FASKE, T. R.; STARR, J. L. Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to abamectin. **Journal of Nematology**, vol. 38, n. 2, p. 240–244, 2006.

GOMES, V. A. TAIOBA (*Xanthosomas agittifolium*) NO MANEJO DE NEMATOIDE-DAS GALHAS. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2021.

GOMES, V. A. *et al.* Activity of papaya seeds (Carica papaya) against *Meloidogyne incognita* as a soil biofumigant. **Journal of Pest Science**. v. 93, n. 2, p. 783–792, 18 jan. 2020.

GORDIM, J. P. E. **Efeito de terpenos purificados de** *Euphorbia* **sp. sobre** *Meloidogyne javanica*. Dissertação (Mestrado em Olericultura) – Instituto Federal Goiano, Morrinhos, GO, 2019.

KEERTHIRAJ, M. et al. Nematicidal and Molecular Docking Investigation of Essential Oils from *Pogoste moncablin* Ecotypes against *Meloidogyne incognita*. **Chem. Biodiversity**, vol 18, 2021.

KALAISELVI, D. *et al.* Mudanças relacionadas à altitude no perfil fitoquímico de óleos essenciais extraídos de *Artemisia nilagirica* e sua atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita*. **Culturas e produtos industriais**, Vol. 139, 2019.

- LAQUALE, S., CANDIDO, V., AVATO, P., ARGENTIERI, M.P. AND D'ADDABBO, T. Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode Meloidogyne incognita on tomato. **Ann Appl Biol**, vol. 167, p. 217-224, 2015.
- LI, Y. *et al.* Adaptation of pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* to β -pinene stress. **BMC Genomics**, vol 21, p. 478, 2020.
- LOPES, A. P. M. *et al.* Weed hosts of Meloidogyne spp. and the effect of aqueous weed extracts on egg hatching. **Weed Research**, Vol. 60, p. 142-149, 2019.
- LÓPEZ, L. E. *et al.* Volatile organic compounds from cotton seed meal are toxic to *Meloidogyne incognita*. **Tropical Plant Pathology**, vol. 42, n. 6, p. 443-450, 9 maio 2017.
- MAZZETTI, V. C. G. Levantamento populacional de nematoides em soja no Rio Grande do Sul e estratégia genética, química e biológica para controle de nematoides de galha. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade de Passo Fundo, RS, 2017.
- MÔNACO A. P. A. *et al.* Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3, a *Meloidogyne javanica* e a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, vol. 33, 2009
- MOREIRA, F. J. C. *et al.* Controle alternativo do nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2 com óleos essenciais no solo. **Summa Phytopathol**, Vol. 41, p. 207 213, 2015.
- NIST, NIST Chemistry Webook-National Institute of Standards and Technology. 2013.
- NTALLI, N. G. *et al.* Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. **Pest Management Science**, Vol. 67(3), 2010.
- OKA, Y. *et al.* Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components against the Root-Knot nematode. **Phytopathology**. Vol. 90, No. 7, 2000.
- OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic amendments. A. review Applied. **Soil Ecology**. 44, p. 101–115, 2009.
- PINHEIRO, J. B.; MELO, R. A. C.; RAGASSI, C. F. Manejo de nematoides em hortaliças sob plantio direto. **Circular técnica 171**. Brasília, DF, 22p, 2019.
- PLOEG, A. T. Effects of amending soil with *Tagetes patula* cv. Single Gold on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. **Nematology**, v. 2, p. 489–493. 2000.
- PLOEG A, STAPLETON, J. Glasshouse studies on the effects of time, temperature and amendment of soil with broccoli plant residues on the infestation of melon plants by *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematology** vol. 3, p. 855–861, 2001.
- REGMI, H.; DESAEGER, J. Integrated management of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in Florida tomato escombining host resistance and nematicides. **Crop Protection**, Volume 134, 2020.

- ROCHA, H. C. R. *et al.* Crescimento, produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de capim citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) em cultivo consorciado com algodoeiro colorido no semiárido mineiro. **Rev. Bras. Plantas Med**, Vol 14, p. 183 187, 2012.
- SABAIANI, P. S. *et al.* Avaliação de impacto ex ante da adoção do fitonematicida Nematus® para controle de nematoides no cultivo de soja. **59º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural SOBE. 2021.**
- SAINZ, P. *et al.* Chemical Composition and Biological Activities of *Artemisia pedemontana* subsp. assoana Essential Oils and Hydrolate. **Biomolecules**, Vol. 2, 2019.
- SANTOS, C. A.; ABBOUD, A. C. S.; CARMO, M. G. F. Biofumigation with species of the Brassicaceae family: a review. CROP PROTECTION. **Cienc. Rural**, Vol. 51 (1), 2021.
- SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology the role of the society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Ed.). Vistas on nematology. **Maryland: Society of Nematologists**, p. 7-14. 1987.
- SIKORA, R. A. *et al.* Integrated Nematode Management in a World in Transition: Constraints, Policy, Processes, and Technologies for the future. **Annual Review of Phytopathology**, Vol. 61, 2023.
- SILVA, G.A. Métodos alternativos de controle de fitonematoides. **RAPP**, v. 19, 2011.
- SILVA, J. C. P. COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE PLANTAS E O ETANOL NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita*. Tese (Doutorado em fitopatologia) Universidade Federal de Lavras, MG. 2016.
- SILVA; J. C. P. *et al.* Plant volatiles reduce the viability of theroot-knot nematode *Meloidogyne incognita* either directly orwhen retained in water. **Plant Dis.**, vol 102, p. 2170–2179. 2018.
- SILVA, M.F. *et al.* Medicinal plant volatiles applied against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, Vol. 130, 2020.
- SILVA, M. F. *et al.* Emissões voláteis de folhas de agrião (*Nasturtium officinale*) e sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) contra *Meloidogyne incognita*. **Controle de Pragas**. 2019.
- SOUSA, R. M. O. F. *et al.* Larvicidal, molluscicidal and nematicidal activities of essential oils and compounds from *Foeniculum vulgare*. **Journal of Pest Science**, v. 88, p. 413–426, 2015.
- TADIGIRI, S. *et al.* Isolation and characterization of chemical constituents from *B. amyloliquefaciens* and their nematicidal activity. Journal of Entomology and Zoology Studies, vol 8(3), p. 2062-2066, 2020.
- THOMAS, S.; SCHROEDER, J.; MURRAY, L. The role of weeds in nematode management. **Weed Science**, Vol 53 (6), 2005.

TOPALOVIĆ, O. *et al.* Microbes attaching to endoparasitic phytonematodes in soil trigger plant defense upon root penetration by the nematode. **Frontiers Plant Science**, vol. 11, p. 138, 2020.

TERRA, W. C. *et al.* Volatile molecules of *Fusarium oxysporum* strain 21 are retained in water and control *Meloidogyne incognita*. **Biological Control, College Station**, Vol. 112, p. 34–40, 2017.

TOPALOVIĆ, O.; HUSSAIN, M.; HEUER, H. Plants and Associated Soil Microbiota Cooperatively Suppress Plant-Parasitic Nematodes. **Front. Microbiol.**, Vol. 28, 2020.

TORRES, R. G. *et al.* **Manejo integrado de nematoides em sistema de plantio direto no cerrado**, 2017. Disponível em: https://docplayer.com.br/13824249-Manejo-integrado-de-nematoides-em-sistema-de-plantio-direto-no-cerrado.html. Acesso em: 26 jul. 2023.

VAN DEN HOOGEN, J. *et al.* Soil nematode abundance and functional group composition at a global scale. **Nature**, vol. 572, n. 7768, p. 194–198, 2019.

WILSCHUT, R. A. *et al.* Belowground Plant–Herbivore Interactions Vary among Climate-Driven Range-Expanding Plant Species with Different Degrees of Novel Chemistry. **Front. Plant Sci.**, Vol 25, 2017.

ZHAN J. et al. Playing on apathogen's weakness: using evolution to guide sustainable plant disease control strategies. **Annu Rev Phytopathol**, vol. 53, p. 19–43. 2015.