

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO SOLO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOLOS E NUTRIÇÃO DE PLANTAS**

EMANUEL DIAS FREITAS

**CONTRIBUIÇÃO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA
INDUÇÃO À RESISTÊNCIA DO TOMATEIRO A *Meloidogyne incognita* RAÇA 2**

**FORTALEZA
2013**

EMANUEL DIAS FREITAS

CONTRIBUIÇÃO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA
INDUÇÃO À RESISTÊNCIA DO TOMATEIRO A *Meloidogyne incognita* RAÇA 2

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Solos e Nutrição de Plantas, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes Filho

FORTALEZA
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

F937c

Freitas, Emanuel Dias.

Contribuição dos fungos micorrizicos arbusculares na indução a resistência do tomateiro A *Meloidogyne incógnita* Raça 2. / Emanuel Dias Freitas. – 2013.

71 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciências do Solo, Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Solos e Nutrição de Plantas, Fortaleza, 2013.

Área de Concentração: Microbiologia Agrícola

Orientação: Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes Filho.

Coorientação: Prof. Dr. Rodrigo de Castro Tavares.

1. Fungos. 2. Micélio. 3. Nematóides das galhas. I. Título.

CDD 631.4

EMANUEL DIAS FREITAS

CONTRIBUIÇÃO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA
INDUÇÃO À RESISTÊNCIA DO TOMATEIRO A *Meloidogyne incognita* RAÇA 2

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, Área de Concentração em
Solos e Nutrição de Plantas, da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Furtado
Mendes Filho

Aprovada em: ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes Filho – Orientador
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Vânia Felipe Freire Gomes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Carmem Dolores Gonzaga Santos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rodrigo de Castro Tavares
Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Aos meus amados pais José Cláudio e Maria Lúcia por todo amor, dedicação, apoio e educação que foram primordiais para mais essa etapa da minha vida;

A minha esposa Juliana Matos Vieira pelo amor, companheirismo, incentivo e alegria que tenho recebido durante todos esses anos juntos;

Ao meu irmão Elton Dias Freitas pela amizade e companheirismo de mais de 20 anos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as oportunidades que me proporcionou até hoje, estando sempre ao meu lado guiando meus passos e dando-me forças para vencer os obstáculos;

À Universidade Federal do Ceará e ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas pelo conhecimento e qualificação que tanto contribuiu para minha formação profissional e pessoal;

Ao Professor Dr. Paulo Furtado Mendes Filho por todo suporte e orientação a mim transmitido, tanto nas atividades acadêmicas quanto na vida pessoal. Pela amizade e confiança construída desde 2008 na época da minha monitoria e que se estendeu até os dias de hoje nas etapas finais do mestrado;

A professora Dra. Vânia Felipe Freire Gomes que me acompanha desde a época de monitoria e que sempre esteve à disposição para me ajudar e contribuir nas atividades científicas;

A professora Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos pela disponibilidade de sempre me receber e esclarecer minhas dúvidas, além de fornecer o inóculo de *Meloidogyne incognita* e disponibilizar gentilmente o laboratório de Nematologia para a realização deste trabalho;

Ao professor Dr. Rodrigo de Castro Tavares que contribui de forma crucial para a idealização deste trabalho, pelo esclarecimento de dúvidas, fornecimento de artigos científicos e por ter aceitado prontamente o convite de participação da defesa de dissertação apesar da grande distância geográfica;

A estudante de doutorado Maria do Carmo Lopes da Silva por toda ajuda e ensinamentos na extração de nematóides;

Aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia Aldênia, Ewerton, Eudes, Junior Tupinambá, Caio, Mario e Narciso que por meio de brincadeiras, bate-papo e ajuda nas análises, transformaram o trabalho árduo em uma atividade menos cansativa e mais prazerosas;

Aos funcionários do Departamento de Ciências do Solo Aldo, Franzé, Edilson, e Marilena e Naurício. Agradeço também aos funcionários da FUNCEME: Antônio José, Tavares e Geórgia pelo apoio durante as análises;

Aos amigos e colegas da pós-graduação Leo Jakson, Daniel Pontes, Rodrigo Girão, Leônia, Gabriel Nuto, Tiago Costa, Ronaldo, Izabel (com “z”), Isabel (com “s”), Sâmia, Gislaine, Wilson, Zé Filho, Camilla Campos, Régis, Bruna, Adriana, Lílian, Jackson, Fabi, Mirela, Deivielison, David e Maia;

Aos amigos e colegas da graduação Dimitri, Kézia Mendes, Leilson, Viviane, Thiago Moura, Neyson, Germânia, Thiago “Mallboro”, Alexandre, Jorge, Diones, Virginia, André e Odílio;

Enfim, todos aqueles que me apoiaram no desenvolvimento deste trabalho. A contribuição de cada um foi indispensável para a realização desta dissertação.

Meus sinceros agradecimentos

Alguns autores já sugeriram que falar que “as árvores escutam” é mais adequado que dizer que “elas falam”. De qualquer modo, a interação mantém se inquestionavelmente fascinante (...).

A. A. Agrawal

RESUMO

Estudos com fungos micorrízicos arbusculares tentam elucidar a contribuição desses microrganismos no transporte de compostos sinalizadores entre plantas, uma vez que, eles formam uma rede micelial subterrânea que conecta as plantas e são capazes de translocar substâncias entre plantas vizinhas. O objetivo deste estudo foi avaliar a contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares na indução à resistência do tomateiro a *Meloidogyne incognita* raça 2. O experimento foi realizado em casa de vegetação e o delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), composto por 4 tratamentos e 5 repetições, totalizando 20 parcelas. Cada parcela constituiu-se por um sistema inicial de vaso duplo conectado (VDC), contendo uma planta em cada lado do vaso, onde uma das plantas foi denominada de emissora (E) e a outra de receptora (R). Os tratamentos foram oriundos da combinação entre os vasos com plantas emissoras com e sem micorriza, respectivamente (EM+ e EM-), conectados a vasos com plantas receptoras com e sem micorriza (RM+ e RM-). O experimento foi realizado em duas etapas, fase I e fase II. Iniciou-se a fase I com a introdução do inóculo de nematóide (4000 ovos e J2 *M. incognita* raça 2) apenas nos lados dos vasos contendo as plantas emissoras, com e sem micorriza (EM+ e EM-), tendo estas permanecido em contato com os nematóides durante 45 dias. Após esse período, procedeu-se a separação dos vasos duplos conectados. A fase II teve início após a separação dos vasos e adição do inóculo do nematóide nas plantas receptoras, permanecendo 45 dias em contato com os nematóides em casa de vegetação. Os resultados mostraram que as plantas emissoras inoculadas com micorrizas foram mais susceptíveis ao parasitismo por *M. incognita* raça 2, apresentando menor desenvolvimento da planta e maior susceptibilidade ao nematóide. As plantas receptoras que estiveram em contato com as plantas emissoras com micorriza (EM+) no período de pré-condicionamento apresentaram melhor crescimento e menor susceptibilidade ao *M. incognita* revelando, dessa forma, que foram estimuladas durante a fase I, a acionar seu mecanismo de defesa contra o patógeno.

Palavras-chave: Sinalização. Rede micelial. Nematóides das galhas. FMA.

ABSTRACT

Studies mycorrhizal fungi try to elucidate the contribution of microorganisms in the transport of signaling between plants compounds, since they form a network that connects the underground mycelial and plant substances are able to translocate between neighboring plants. The aim of this study was to evaluate the contribution of mycorrhizal fungi in inducing resistance of tomato to *Meloidogyne incognita* race 2. The experiment was conducted in a greenhouse and the experimental design was a completely randomized design, consisting of 4 treatments and 5 replicates, totaling 20 plots. Each plot was constituted by a dual system connected initial vessel containing a plant on each side of the vessel, where a plant has been called issuing (I) and one receiver (R). The treatments were derived from the combination of the potted issuing plants with and without mycorrhiza, respectively (IM + and IM-) connected the potted receiver plant with and without mycorrhiza (RM + and RM-). The experiment was conducted in two phases, phase I and phase II. It started with phase I the introduction of nematode inoculum (4000 eggs and J2 *Meloidogyne incognita* race 2) only at the sides of the pots containing the issuing plants with and without mycorrhiza (IM + and IM-), and those remained in contact with nematodes for 45 days. After this period, we proceeded to double the separation vessel connected. Phase II began after the separation vessel and addition of the nematode inoculum in receiver plants 45 days remaining in contact with the nematodes in the greenhouse. The results showed that issuing plants inoculated with mycorrhizal were more likely to parasitism by *M. incognita* race 2, with lower plant development and increased susceptibility to nematodes. The receiver plants that were in contact with the issuing plants with mycorrhiza (IM+) during the preconditioning showed better growth and lower susceptibility to *M. incognita* revealing thereby that were stimulated during Phase I, the activate mechanism of defense against the pathogen.

Keywords: Signaling. Mycelial network. Root-knot nematode. AMF.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Preparo do material para o teste de germinação de esporos de FMA.....	34
Figura 2 -	Ilustração do vaso duplo conectado e seus respectivos componentes.....	35
Figura 3 -	(A) Transplântio das mudas de tomateiros para os VDC; (B) Experimento durante a fase I com plantas emissoras e receptoras nos VDC; (C) Separação dos VDC, dando início a fase II; (D) Experimento durante a fase II, apenas as plantas receptoras dispostas em casa de vegetação.....	39
Figura 4 -	Altura das plantas emissoras submetido ao teste de comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)	43
Figura 5 -	Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) e Massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas emissoras submetidos ao teste de comparação de médias.....	44
Figura 6 -	Teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea das plantas emissoras submetidos ao teste de comparação de médias.....	45
Figura 7 -	Altura das plantas receptoras submetido ao teste de comparação de médias.....	51
Figura 8 -	Massa da matéria seca da parte aérea das plantas receptoras submetidos ao teste de comparação de médias.....	52
Figura 9 -	Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) das plantas receptoras.....	53
Figura 10 -	Teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea das plantas receptoras submetidos ao teste de comparação de médias.....	54
Figura 11 -	Diferentes tamanhos de galhas encontradas nas raízes de tomateiro. Para este experimento, as galhas foram consideradas da esquerda para direita como: grandes (diâmetro > 3 mm), médios (entre 2 e 3 mm) e pequenos (diâmetro inferior a 2 mm).....	60
Figura 12 -	Sistema radicular dos tomateiros submetidos aos 4 tratamentos. (A) tratamento T1 (EM+RM+); (B) tratamento T2 (EM+RM-); (C) tratamento T3 (EM-RM+) e; (D) tratamento T4 (EM-RM-).....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Maiores produtores mundiais de tomate em 2011.....	16
Tabela 2 -	Espécies de FMA e número de esporos que constituíram o inóculo.....	34
Tabela 3 -	Tratamentos aplicados nas parcelas do experimento.....	37
Tabela 4 -	Resultado do número de galhas, massa de ovos, número de ovos e fator de reprodução do nematóide no sistema radicular das plantas emissoras.....	48
Tabela 5 -	Resultado da colonização dos FMA no córtex radicular das plantas receptoras.....	57
Tabela 6 -	Resultados do número de galhas, massa de ovos, número de ovos e fator de reprodução do nematóide no sistema radicular das plantas receptoras.....	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Cultura do tomate.....	15
2.2	Fungos micorrízicos arbusculares (FMA).....	17
2.3	Comunicação entre plantas: papel dos FMA.....	20
2.4	Nematoides causadores de galhas.....	23
2.5	Nematoides das galhas e a cultura do tomate.....	25
2.6	Interação planta-nematoide-micorriza.....	29
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1	Local de instalação do experimento.....	32
3.2	Variedade do tomateiro.....	32
3.3	Preparo do inóculo de <i>Meloidogyne incognita</i>	32
3.4	Inoculação do <i>Meloidogyne incognita</i> nos tomateiros.....	33
3.5	Preparo do inóculo e inoculação da micorriza nos tomateiros.....	33
3.6	Vasos duplos conectados (VCD).....	35
3.7	Tratamentos e condução do experimento.....	36
3.8	Parâmetros avaliados.....	40
3.8.1	<i>Altura da parte aérea (ALT)</i>	40
3.8.2	<i>Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR)</i>	40
3.8.3	<i>Massa da matéria seca da parte aérea (MSPA)</i>	40
3.8.4	<i>Determinação dos teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea da planta</i>	40

3.8.5	<i>Quantificação do número de galhas e presença de massa de ovos do nematóide no sistema radicular do tomateiro.....</i>	41
3.8.6	<i>Colonização micorrízica arbuscular.....</i>	41
3.8.7	<i>Número de ovos de M. incognita e fator de reprodução do nematóide.....</i>	42
3.9	Análise estatística.....	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1	Fase I (pré-condicionamento) - Plantas emissoras.....	43
4.1.1	<i>Resultados do crescimento das plantas.....</i>	43
4.1.2	<i>Avaliação da colonização micorrízica.</i>	46
4.1.3	<i>Avaliação do parasitismo do nematóide no sistema radicular do tomateiro.....</i>	48
4.2	Fase II - Plantas receptoras.....	50
4.2.1	<i>Resultados do crescimento das plantas.....</i>	50
4.2.2	<i>Avaliação da colonização micorrízica.</i>	56
4.2.3	<i>Avaliação do parasitismo do nematóide no sistema radicular do tomateiro.....</i>	58
5	CONCLUSÕES.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66

INTRODUÇÃO

Micorrizas são associações mutualísticas entre fungos e raízes. Esses organismos co-evoluíram formando uma relação perfeita de compatibilidade estrutural e fisiológica. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pertencem ao filo Glomeromycota e colonizam as raízes de quase todos os gêneros das Gimnospermas e Angiospermas.

A maior absorção de fósforo sem dúvidas é o fenômeno mais importante para a planta na relação simbiótica na qual, em contrapartida, o fungo recebe carbono que foi fixado pelo vegetal no processo fotossintético. Além do maior suprimento de P para a planta hospedeira, vários trabalhos demonstram a importância do papel da micorriza para o sucesso do estabelecimento dos vegetais em ambientes de estresse, sejam eles provocados por causas abióticas (temperatura, salinidade, hídrico), ou por causas bióticas (doenças e ataques de insetos). Existem ainda atividades de sinalizações (comunicação) pouco conhecidas que podem ser atribuídos aos fungos micorrízicos. Essas sinalizações podem ser emitidas de planta para planta por meio do micélio fúngico.

Estudos tentam elucidar a contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares no transporte de compostos sinalizadores entre plantas, uma vez que, os FMA são capazes de formar uma rede micelial subterrânea que conecta as plantas e são capazes de translocar carbono, nutrientes e água entre plantas vizinhas, mesmo que estas sejam de espécies diferentes. Alguns autores obtiveram respostas positivas para plantas micorrizadas que sofreram algum dano e foram capazes de induzir as plantas vizinhas a aumentar sua resistência a ataque de insetos herbívoros e a doenças de maneira mais efetiva quando comparadas a plantas não micorrizadas.

Tais resultados ajudam a comprovar que esses fungos podem ser capazes de formar um “canal” subterrâneo de comunicação entre plantas, contribuindo para o aumento da resistência aos danos causados por fitoparasitas, ácaros e insetos, sejam eles da parte aérea (afídeos, lepidópteros, coleópteros, etc.) ou do sistema radicular como os nematoides causadores de galhas.

O tomate é um dos alimentos mais importantes e benéficos para a humanidade. No entanto, essa cultura sofre grandes perdas devido a susceptibilidade a uma gama de doenças e distúrbios fisiológicos, tanto que, em algumas épocas do ano o

custo de produção é tão elevado que muitos agricultores desistem de plantar, provocando o aumento do preço e até o desabastecimento do produto no mercado. Dentre as doenças, o parasitismo provocado por nematóides causadores de galhas, principalmente o *Meloidogyne incognita*, está entre os mais importantes para a tomaticultura, provocando anualmente prejuízos consideráveis nas lavouras de todo o país. A busca pelo controle dos fitonematoides envolve várias técnicas, tais como, o uso de defensivos agrícolas (nematicidas), rotação de cultura, uso de variedades resistentes, controle biológico, etc.

O controle biológico caracteriza-se pelo uso de organismos vivos que visam a diminuição da população de nematoides de uma determinada área, que pode ocorrer através da predação, parasitismo, competição, ou mesmo por meio da indução a resistência da planta, seja por promover uma nutrição adequada ou por estimular a atividade do metabolismo de defesa vegetal. Atualmente, alguns estudos revelam a contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares na proteção de plantas, porém, os resultados ainda são inconclusivos e as informações de como ocorre essa proteção é bastante incipiente. O tomateiro, assim como a maioria das plantas de interesse econômico, é uma espécie micotrófica. Essa associação com FMA pode representar uma valiosa estratégia de sobrevivência do vegetal em ambientes de adversidades seja de natureza biótica ou abiótica.

Diante do exposto, propõe-se com o presente trabalho testar a hipótese de que plantas de tomate colonizados com fungos micorrízicos arbusculares têm maior resistência ao ataque de *Meloidogyne incognita* raça 2, devido à indução promovida por um contato prévio com tomateiro colonizado por FMA e sob o ataque do nematóide. Dessa forma, objetiva-se avaliar a contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares na indução à resistência do tomateiro a *Meloidogyne incognita* raça 2.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do tomate

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tem como seu centro de origem a região compreendida entre Peru, Equador e Bolívia. Posteriormente, a fruta foi levada pelos povos antigos para o México, onde os astecas deram-lhe o nome de “tomatl”. Os tomateiros primitivos produziam frutos pequenos e amarelos, tipo tomate-cereja que nasciam espontaneamente, dispensando o seu cultivo (BARBARA, 2005).

De acordo com Bárbara (2005) os espanhóis levaram o tomate para Europa, no entanto, esta foi recebida com desconfiança devido a semelhança com a mandrágora ou quiçá venenosa (*Mandragora officinarum* L.), uma solanácea venenosa e bastante conhecida na época. Devido a este aspecto, o tomate durante muito tempo foi evitado e, mesmo depois de muitos anos, aqueles que comiam o fruto, seguiam a recomendação de cozinhá-lo durante no mínimo três horas para que houvesse a “eliminação das toxinas”. A partir de 1977 o tomate passou a ser aceito devido o preparo de massas com o molho de tomate pelo cozinheiro italiano Francesco Leonardi, tornando assim, o tomate um dos alimentos mais populares e apreciados da culinária mundial.

O tomate é composto em sua maior parte por água (93 a 95 %) enquanto que 1,5 % é constituído por fibras. Nos 5 % a 7 % restantes, encontram-se compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açúcares, sólidos insolúveis em álcool e outros compostos. Embora as vitaminas estejam presentes em uma pequena proporção do total da matéria seca, essas substâncias são importantes do ponto de vista nutricional (EMBRAPA, 2013). As principais vitaminas encontradas no fruto são as vitaminas A e C, além de conter frutose, ácido fólico, potássio, cálcio e ácidos considerados anticancerígenos (BARBARA, 2005). A cor vermelha é devido a presença de um pigmento carotenóide denominado licopeno. O licopeno é um poderoso antioxidante que combate o efeito dos radicais livres. Ferreira e Matsubara (1997) explicam que o termo radical livre refere-se a átomo ou molécula altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. É este não-emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas. Essas moléculas ficam “soltas”, o que acaba levando a entrar em nossas células, causando a oxidação da mesma. Essas lesões podem levar ao envelhecimento precoce e até mesmo

à várias doenças como cardiopatias, aterosclerose, diabetes e até mesmo câncer.

Em termos de produção global, a China é o maior produtor de tomate. O país é responsável por cerca de 25 % de todo tomate produzido no mundo. Segundo dados da FAO (2013) em 2011 o país produziu 48.576,853 milhões de toneladas, seguido por Índia e Estados Unidos com produção, respectivamente, de 16.826,000 e 12.624,700 milhões de toneladas (Tabela 1). O Brasil atualmente ocupa a 8º posição no ranking de países produtores, com produção de 4.416,650 milhões de toneladas (FAO, 2013).

Tabela 1 – Maiores produtores mundiais de tomate em 2011

Países produtores	Produção (milhões de toneladas)
China	48.576,853
Índia	16.826,000
Estados Unidos	12.624,700
Turquia	11.003,400
Egito	8.105,260
Iran	6.824,300
Itália	5.950,220
Brasil	4.416,650

Fonte: FAO (2013)

De acordo com Carvalho e Pagliuca (2007) o Brasil quase duplicou sua produção nos últimos 20 anos, enquanto que na Europa e nos Estados Unidos o crescimento médio foi de 30 % e 45 %, respectivamente. Os autores apontam a difusão de técnicas de irrigação, o uso intensivo de insumos e a introdução de híbridos mais produtivos e com menores perdas na pós-colheita como alguns dos principais fatores que contribuiram para o aumento da produtividade do tomate nacional. Quando se trata do tomate destinado à indústria, percebe-se que os ganhos atuais em produtividade estão relacionados à concentração dos plantios no cerrado brasileiro com destaque para os estados de Goiás e Minas Gerais. Em relação aos índices produtivos nacionais, em 2012 a tomaticultura ocupou uma área de 64.880 hectares, uma produção de 4.091,825 toneladas e rendimento de 63.068 kg/ha (IBGE, 2012).

Nos aspectos botânico e morfológico, o tomateiro pertence à família

Solanácea, é uma planta perene de porte arbustivo, sendo cultivada anualmente podendo desenvolver-se de forma rasteira, semi-ereta ou ereta, possui inflorescência do tipo racemosa composta por flores hermafroditas, sistema radicular pivotante e sementes pequenas (2 a 3 mm) com forma oval e com coloração creme-acinzentada e coberta por tricomas (ALVARENGA, 2004; PUIATTI *et al.*, 2010). Muitas dessas características foram resultados da domesticação e seleção de cultivares especializadas em alta produção de frutos. No processo de domesticação essa planta tornou-se mais produtiva perdendo, no entanto, a capacidade de competir por elementos vitais à sua sobrevivência (água, luz e nutrientes) passando a depender, desta forma, da intervenção do homem para o controle de plantas invasoras e fitoparasitas, assim como para o fornecimento de água e nutrientes.

O tomateiro, assim como a maioria das plantas cultivadas, faz associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Essa associação pode representar uma estratégia de sobrevivência em solos pobres em nutrientes, principalmente com baixa disponibilidade de fósforo, fenômeno comum nos solos de regiões tropicais. O sucesso desta estratégia é devido ao maior volume de solo explorado pelas hifas dos FMA, que interceptam e translocam para as plantas nutrientes e água, e em troca recebem compostos de carbono formados no processo fotossintético.

São inúmeras as pesquisas que envolvem a interação entre o tomateiro e os FMA no aspecto de proteção da planta, porém, os resultados ainda são controversos. Nessa linha de pesquisa, observamos a aplicação de diferentes espécies de FMA, contudo, os fungos do gênero *Glomus* destacam-se nas pesquisas devido a frequências que estes são usados nos experimentos, principalmente as espécies de *G. mosseae*, *G. clarum*, *G. etunicatum* e *G. intraradices* (SONG *et al.*, 2010; ALEJO *et al.*, 2010; COFCEWICZ *et al.*, 2001).

2.2 Fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

Existe na natureza inúmeras formas de simbiose entre organismos de diferentes espécies que datam de centenas de milhões de anos e que co-evoluíram formando uma relação perfeita de compatibilidade estrutural e fisiológica. Dentre as associações de maior sucesso existentes na natureza, podemos destacar as associações

entre plantas superiores e alguns fungos rizosféricos, relação que recebeu o nome de micorriza (do grego, mico = fungo, e riza = raízes) pelo fisiologista de plantas alemão Albert Bernad Frank em 1885.

De acordo com Moreira e Siqueira (2006) a primeira classificação em grupos distintos foi realizada por Frank, o qual separou as micorrizas em dois grupos bastante distintos, os fungos micorrízicos ectotróficos e os fungos micorrízicos endotróficos, termos não mais empregados. A tendência atual é a categorização dos fungos micorrízicos em sete tipos: arbusculares, ectomicorrizas, ectoendomicorrizas, arbutóides, monotropóides, ericóides e orquidóides. Dentre esses tipos, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses são classificados como Glomeromycota e colonizam as raízes de quase todos os gêneros das Gimnospermas e Angiospermas.

A principal característica dos FMA é a colonização das células do córtex radicular da planta hospedeira inter e intracelularmente, apresentando também a formação de estruturas intracelulares altamente ramificadas denominadas arbúsculos e, em alguns grupos taxonômicos, as vesículas, que são estruturas globosas, ricas em lipídios e que aparentemente possuem função de reserva (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Segundo Silva Junior e Cardoso (2006) os arbúsculos são estruturas fúngicas altamente dicotômicas formadas no interior das células das raízes que representam o sítio de trocas entre o endófito e a planta. Esses autores ainda citam que as hifas extraradiculares dos FMA funcionam como extensões do sistema radicular, aumentando a área de exploração do solo e absorvendo água e nutrientes para as plantas.

Os FMA são biotróficos obrigatórios, ou seja, são incapazes de completar seu ciclo de vida na ausência de uma célula hospedeira viva. A aparente desvantagem deste fato, no entanto, pode ser compensada pela ausência de especificidade existente entre os FMA e os hospedeiros, podendo uma determinada espécie fúngica colonizar diferentes espécies de plantas. Segundo Song *et al.* (2010), os micélios dos fungos micorrízicos podem se estender das raízes de uma planta para outra, desta maneira, formando redes que interligam diferentes plantas de diferentes espécies componentes de um determinado ecossistema.

É importante ressaltar que a capacidade de colonização pode variar entre plantas hospedeiras mesmo quando estas se desenvolvem em um mesmo solo. Também é importante estar ciente de que em experimentos que visam analisar o grau de colonização dos FMA, a resposta pode variar com o solo, incluindo diferenças na

fertilidade (principalmente a disponibilidade de fósforo), perturbações no solo, tipo de planta hospedeira e sua arquitetura, temperatura e disponibilidade de água (ABBOTT *et al.* 1995).

A maior absorção de fósforo, sem dúvida, é o fenômeno mais importante para a planta na relação simbiotrófica com o fungo, em contrapartida, o fungo recebe o carbono que foi fixado pela planta no processo fotossintético. De acordo com Cavalcante *et al.* (2009) o fungo pode receber até mais de 10 % dos fotossintatos produzidos pela planta hospedeira. Além do maior suprimento de P para a planta hospedeira, vários trabalhos demonstram as vantagens dessa associação na natureza. Mendes Filho (2004), ao realizar estudos para avaliar o potencial de reabilitação do solo degradado pela atividade de mineração, verificou que plantas com inoculação micorrízica e que receberam adubação orgânica apresentaram melhor desenvolvimento quando comparadas às plantas não micorrizadas, concluindo que a seleção preferencial de plantas duplamente colonizadas (micotróficas e nodulíferas) para revegetação, é uma prática eficiente e menos onerosa.

Silva *et al.* (2006) avaliaram a influência de 14 isolados de FMA no crescimento e na capacidade da *Brachiaria decumbens* Stapf. em extrair Cd, Zn, Pb e Cu de solos contaminados. Os autores verificaram a redução nos teores de metais na parte aérea da planta, causada pela micorriza que ameniza a toxidez dos metais. Outro fato discutido pelos autores foi a capacidade de alguns isolados (*Acaulospora spinosa*, *A. morrowiae*-UFLA e *Gigaspora gigantea*) serem capazes de aumentar a extração simultânea de Zn, Cd, Cu e Pb do solo pela *B. decumbens*, considerando que esses isolados são os mais promissores para fitoextração de metais pesados em solo contaminado.

Sampaio *et al.* (2012), ao estudarem a severidade causada pelo mal-do-Panamá (fusariose) em bananeiras cv. Maçã, observaram que a utilização de biofertilizantes e a associação simbiótica micorrízica arbuscular contribuíram para um menor índice de severidade da fusariose nas bananeiras. Souza *et al.* (2010) analisaram o efeito da interação entre diferentes espécies de FMA e o *Meloidogyne incognita* (fitonematoide causador de galhas nas raízes dos vegetais) em mudas de tomateiro e verificaram a redução da infectividade do nematoide no sistema radicular das plantas e, sugeriram que os FMA podem ser utilizados como agentes de biocontrole em tomateiros.

Experimento realizado avaliando o efeito da salinidade sobre o FMA e a nodulação rizobiana em sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) mostrou que a salinidade reduziu a colonização micorrízica e a nodulação radicular nas mudas. Contudo, a intensificação das condições de estresse salino aumentou a dependência micorrízica das mudas e, ainda, a colonização com os FMA proporcionou o aumento na produção de matéria seca dos nódulos radiculares da ordem de 1900% (TAVARES *et al.*, 2012), comprovando o efeito sinérgico da interação planta-micorriza-rizóbio. Além dos estresses de natureza bióticos (pragas e doenças) e salinos, outras fontes de estresses como os de natureza nutricionais, hídricas e térmicas são mais tolerados por plantas micorrizadas (COLOZZI FILHO; NOGUEIRA, 2007).

Outro aspecto de grande relevância é o papel dos FMA na qualidade física do solo. De acordo com Moreira e Siqueira (2006) as hifas desempenham funções importantes na agregação e estabilidade dos agregados por meio do envolvimento das partículas do solo. Dentro e em volta dos agregados as hifas formam uma rede biológica que entrelaça e mantém juntas as partículas do solo, além de produzir substâncias cimentantes, que são glicoproteínas denominadas coletivamente de glomalinas. A excreção dessas substâncias é muito importante para estabilização dos agregados em solos com altos teores de areia, contribuindo para diminuir a suscetibilidade desses solos à erosão, a qual se agrava quando estes são submetidos a manejos intensivos e inadequados (CORDEIRO *et al.*, 2005). Essas substâncias não só contribuem para a estabilidade dos agregados, como também aumentam o estoque de carbono no solo estimulando a microbiota edáfica.

Existem ainda atividades de sinalizações (comunicação) pouco conhecidas que podem ser atribuídos aos fungos micorrízicos, sinalizações essas que podem ser emitidas de planta para planta por meio do micélio do microssimbionte. No entanto, esses estudos ainda não são conclusivos, o que demonstra ser uma vasta área do conhecimento (a micorrizologia) que merece mais atenção e estudos.

2.3 Comunicação entre plantas: papel dos FMA

A interação entre os vegetais dentro de uma comunidade natural durante muito tempo era simplificada por uma competição existente por água, nutrientes e luz. No entanto, nos últimos anos nenhum assunto em relação à ecologia vegetal tem

inspirado tantas discussões quanto a comunicação entre plantas. A idéia é simplesmente que as plantas, apesar de imóveis, podem agir de forma a aumentar seus níveis de defesa, respondendo a estímulos de plantas vizinhas que estão sendo atacadas por herbívoros ou patógenos (AGRAWAL, 2000).

De acordo com Song, *et al.* (2010), as plantas estão expostas ao ataque de uma grande variedade de agentes patogênicos e parasíticos. Em resposta, elas têm desenvolvido sistemas eficazes de defesa contra estes agentes com base em uma combinação de defesas constitutivas, bem como as defesas induzidas expressas apenas depois de um sinal inicial de que invasores estão presentes. Segundo Agrawal (2000), as primeiras manifestações de comunicação entre plantas foram desconsideradas por ecologistas por causa de deficiências metodológicas e devido à falta de realismo nos projetos experimentais.

Mesmo nos dias atuais, os mecanismos que controlam a comunicação entre plantas ainda são pouco conhecidos. Isso se deve à falta de metodologias para o estudo desse fenômeno, bem como o conhecimento ainda incipiente a respeito do comportamento dos organismos em resposta as interações com outros organismos. Essas interações ocorrem no solo, por meio das interações com a biota edáfica, bem como sobre a superfície do solo através do envio de substâncias voláteis produzidos pela copa das árvores e que podem funcionar com sinais de alerta para outras plantas.

Mesmo escassas, as informações que temos sobre a comunicação entre plantas limitam-se aos estudos de compostos voláteis produzidos pelos vegetais quando atacadas por insetos herbívoros. Para Frost *et al.* (2008) muitas plantas respondem a herbivoria de insetos através da liberação de compostos voláteis que misturados ao ar servem como uma forma indireta de defesa para as plantas, pois podem atrair os inimigos naturais dos insetos herbívoros, assim como as substâncias podem repelir outros herbívoros. Os autores ainda explicam que a importância ecológica dos compostos voláteis produzidos por indução devido aos ataques às plantas, podem também desempenhar um papel na sinalização entre plantas. Vários estudos relataram o início de respostas da defesa das plantas após a exposição a esses compostos liberados por plantas vizinhas atacadas.

Karban *et al.* (2006) realizaram experimento que demonstrou que plantas de *Artemisia tridentata* Nutt. que sofreram danos (cortes nas folhas) induziam a uma maior resistência às plantas de tabaco nativo ao ataque de herbívoros, quando comparadas as

plantas de tabaco que estavam localizadas próximas a *A. tridentata* não danificadas. Já Dolch e Tschardtke (2000) verificaram em seu experimento que ao desfolharem árvores por meio de cortes artificiais, as árvores mais próximas a estas sofreram menos desfolhação causada pela herbivoria natural quando comparadas àquelas árvores que se situavam a uma maior distância. Dessa forma, podemos inferir que esses compostos têm uma área de atuação que diminui seu efeito sinalizador à medida que se aumenta a distância em relação às plantas emissoras do sinal. Em contrapartida, Frost *et al.* (2008) apontam que ainda não está claro por que essas limitações de distância existem. Tais limitações não podem ser explicadas somente pela distância, uma vez que parasitoides respondem aos compostos voláteis de sinalização ao longo de distâncias muito maiores. Assim, sugere-se que, as limitações relacionadas à distância entre as plantas pode ser reflexo da capacidade fisiológica das plantas para perceber esses sinais ou mesmo para responder a eles.

Agrawal (2000) sugeriu que os sinais de comunicação entre plantas podem ser transportados pelo ar ou por habitantes do solo. Em ambos, existe uma grande variedade de compostos químicos envolvidos, sendo que transportado pelo ar destacam-se o jasmonato, os terpenóides voláteis e os polifenóis (KARBAN *et al.*, 2006; ARIMURA *et al.*, 2000). No solo, com destaque para a rizosfera, Moreira e Siqueira (2006) apontam substâncias tais como ácido benzóico, hidroquinonas, ácido fenilacético, benzoquinonas e flavonóides como substâncias que servem de comunicação entre raízes de espécies vegetais vizinhas, entre raízes e insetos e raízes e microrganismos.

Nas relações simbióticas envolvendo microrganismos diazotróficos com as raízes de vegetais superiores, a sinalização existente entre os parceiros é bem documentada, como ocorre com as bactérias fixadoras de nitrogênio em leguminosas. Alguns autores mais recentemente, tentam elucidar a contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares no transporte de compostos sinalizadores entre plantas, uma vez que os FMA são capazes de formar uma rede micelial subterrânea que conecta as plantas e são capazes de translocar carbono, nutrientes e água entre plantas vizinhas (SIMARD; DURALL *et al.*, 2004).

Song *et al.* (2010) realizaram um experimento com tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) onde existiam plantas doadoras de sinais e plantas receptoras de sinais em associação e não associadas à *Glomus mosseae*, uma espécie de FMA comum no solo. Os resultados mostraram que as plantas que estavam associadas

ao FMA obtiveram maior resistência a *Alternaria solani*, uma espécie fúngica fitopatogênica, verificada pela medição da atividade de enzimas relacionadas à defesa das plantas. Os tratamentos com plantas micorrizadas apresentaram maior atividade enzimática e menor índice de severidade a doença, quando comparadas àquelas plantas que não receberam micorríza.

Tavares (2011) elaborou um sistema de vaso duplo conectado em que se estabeleceram dois compartimentos isolados por uma tela com abertura que só permitia a passagem de micélio de FMA. O único contato entre as plantas do vaso foi através das hifas externas do fungo. O autor realizou teste de escolha a resposta com *Phytoseiulus persimilis* (ácaro predador) a duas fontes simultâneas de odores de plantas com ou sem ácaros herbívoros (*Tetranychus urticae*), micorrizadas ou não. Os resultados mostraram que as plantas micorrizadas, quando atacadas por ácaros herbívoros, foram mais atrativas para os ácaros predadores.

Os resultados obtidos por esses autores podem ajudar a comprovar que os benefícios dos fungos micorrízicos arbusculares vão além da melhoria do estado nutricional das plantas. Esses fungos podem ser capazes de formar uma rede subterrânea de troca de informações entre os vegetais, contribuindo para o aumento da resistência aos danos causados por doenças, fitoparasitas e insetos, sejam eles da parte aérea (ácaros, afídeos, lepidópteros, coleópteros etc.) ou parasitas do sistema radicular como os nematoides causadores de galhas.

2.4 Nematoides causadores de galhas

O Brasil é sempre apontado como uns dos principais produtores de alimentos do mundo e as grandes produtividades devem-se principalmente as condições edafoclimáticas favoráveis para a maioria das culturas de interesse econômico. No entanto, existem vários fatores que afetam de maneira negativa a produção agrícola brasileira e, dentre elas, podemos destacar os problemas fitossanitários. Um sério problema sanitário e que causa prejuízos em praticamente todas as culturas é provocado por nematoides parasitas de plantas.

Os nematoides são organismos pertencentes ao reino Animalia que vivem em inúmeros ecossistemas. De acordo com Agrios (2005) existem várias espécies de

nematóides de vida livre ou sedentária que habitam a água doce, água do mar, bem como o solo. Estes podem alimentar-se de microrganismos, plantas e animais. Inúmeras espécies de nematoides atacam e parasitam humanos e animais causando dessa forma, várias doenças. Outra grande variedade de espécies vivem e alimentam-se de vegetais, podendo parasitar diferentes órgãos tais como folhas, caules e raízes.

Ferraz (2001) ressalta que os nematoides parasitas de raízes, além de danos diretos que causam às plantas devido a redução do crescimento, podem torná-las totalmente improdutivas, já que tais organismos muitas vezes interagem com outros patógenos do solo (bactérias e fungos), facilitando-lhes a entrada no sistema radicular parasitado. O mesmo autor destaca que esses nematoides pertencem a diferentes gêneros, tais como *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Pratylenchulus* e *Rotylenchulus*.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. são conhecidos como os nematoides causadores de galhas nas raízes das plantas parasitadas. As galhas formadas no sistema radicular devem-se a um processo de rediferenciação das células das raízes induzida pelo nematoide que implica na formação de células de alimentação multinucleadas chamadas de células gigantes. A formação das células multinucleadas deve-se a dissolução das paredes celulares e posterior fusão dos conteúdos celulares. A formação das células gigantes é resultante de divisões celulares nucleares repetidas. As células do córtex, o periciclo e o parênquima vascular aumentam de tamanho e se dividem formando as galhas (ARIAS *et al.*, 2009). A hipertrofia celular no cilindro central e hiperplasia no periciclo das raízes é provocada pela secreção esofágica produzida pelo nematoide e inserida através dos estiletos durante a sua alimentação (LORDELLO, 1984). A presença do estilete na cavidade bucal é uma das principais características dos nematoides fitoparasitas, tendo a função de perfurar as células das plantas para extrair alimento (FERRAZ, 2001).

O ciclo de vida do *Meloidogyne* spp. envolve o estágio de ovo, quatro estádios juvenis e um adulto, com a formação de fêmeas ou machos. Das quatro ecdises sofridas, a primeira ocorre no interior dos ovos, do estágio juvenil 1 (J1) para o juvenil do segundo estágio (J2). Do ovo eclode a forma infectiva J2, o qual é vermiforme e móvel, passando a migrar no solo a procura de raízes de um hospedeiro favorável. Essa forma é chamada de pré-parasita ou infestante. Ao penetrar nas raízes das plantas hospedeiras o J2 migra até o cilindro central onde induz a formação de um sítio de alimentação conhecido como célula gigante (MOURA, 1996). De acordo com Agrios

(2005) durante a fase de alimentação na célula nutridora a forma J2 sofre mais duas ecdises, passando para J3 e J4, sendo este o último estágio juvenil. A forma J4 então sofre a última ecdise dando origem a forma adulta, que pode ser fêmea e permanecendo assim na raiz, ou macho que, quando formados, migram para o solo.

Quanto à biologia da fêmea adulta, segundo Lordello (1984), são de coloração esbranquiçada, brilhantes, com forma globosa, providas de um pescoço e com tamanho que varia de menos de 0,5 mm a mais de 2 mm. No aspecto reprodutivo, as fêmeas produzem em média de 400 a 500 ovos, no entanto, existe registro de fêmeas que produziram mais de 2000 ovos. Os ovos são depositados no interior de uma substância gelatinosa formando a massa de ovos. O material gelatinoso protetor que forma a massa de ovos é uma substância resultante da atividade secretora de glândulas retais que flui através do ânus durante o período de oviposição, sendo clara ao ser depositada e escurecendo gradativamente no exterior até tornar-se de coloração pardo-escura (LORDELLO, 1984; ARIAS *et al.*, 2009). Os machos são tipicamente cilíndricos, alongados e com extremidades mais afiladas. O sistema reprodutor é constituído basicamente de testículos, vaso deferente e canal ejaculador, que se abre ventralmente no reto, formando cloaca. Como órgãos de cópula têm-se as espículas, a bolsa-de-cópula e as papilas genitais (FERRAZ; MONTEIRO, 1995). Apesar da existência de estruturas sexuais nos machos, a reprodução do *M. incognita* ocorre de maneira assexuada por partenogênese (AGRIOS, 2005).

Os ovos dos fitonematoides são geralmente semelhantes, independente das dimensões dos adultos. Ferraz e Monteiro (1995) informam que pesquisadores reconhecem na casca do ovo do nematoide três camadas produzidas pelo próprio ovo. A camada mais externa é muito fina (30 nm em ovos de *Meloidogyne*) e não é possível de ser observada ao microscópio óptico. Sob esta camada encontra-se a camada quitinosa e, abaixo desta, encontra-se uma camada lipídica, que certos autores denominam de vitela, a qual atribui a notável resistência às condições ambientais desfavoráveis. Todas as camadas constituintes do ovo apresentam proteínas em sua composição.

Por estarem presentes em grandes áreas de atividades agrícolas, parasitando grande número de espécies de importância econômica, e até mesmo plantas daninhas, os fitonematoides são facilmente dispersados no ambiente. Atribui-se ao trânsito de máquinas agrícolas como o meio mais comum de disseminação desses parasitas, já que essas máquinas circulam dentro e fora da propriedade agrícola, realizando trabalhos

desde o preparo do solo até a colheita. No entanto, existem outros métodos de disseminação como elementos de propagação, além de substratos contaminados, água de irrigação e ferramentas (AGRIOS, 1988).

Os métodos de controle de nematoides são os mais variados possíveis (métodos químicos, físicos, biológicos e culturais) e variam desde o uso de nematicidas de alto custo até o simples manejo da lâmina de água da irrigação e a rotação de cultura. De acordo com Campos *et al.* (1998), o controle químico (nematicidas) se faz pelo uso de moléculas químicas de amplo espectro de ação, alto poder residual e tóxico ao ecossistema, interferindo sobre os microrganismos edáficos. Essa toxidez causa prejuízo ao desenvolvimento de organismos benéficos ao crescimento das plantas, como as micorrizas (LORDELLO, 1984).

Agrios (2005) explana que o uso de plantas transgênicas é um meio promissor para diminuir os prejuízos causados por nematoides, uma vez que, estas plantas são capazes de produzir certos inibidores de proteases que agiriam prejudicando o metabolismo dos fitonematoides. A rotação de cultura é um dos melhores e mais utilizadas formas de controle dos nematoides, pois, é um método de baixo custo e não oferece risco de toxidez ao homem e ao ambiente, além de melhorar as condições físicas, químicas e biológicas do solo, tornando-o mais produtivo (SILVA *et al.*, 2004). A solarização é outro método de obtenção de solo livre de nematoides das galhas. Essa técnica promove a erradicação deste fitoparasita pelo aumento da temperatura do solo catalisado por sacos plásticos, o que torna o método economicamente viável para produção de mudas de frutíferas, hortaliças, e espécies medicinais ou ornamentais (SANTOS *et al.*, 2006).

No controle biológico, podemos destacar resultados experimentais obtidos pelo uso de endósporos de *Pasteuria penetrans* (bactéria parasita obrigatória de alguns fitonematoides), ou preparos contendo fungos como *Trichoderma harzianum* e *Dactylella oviparasitica*, este ultimo é reconhecido por parasitar ovos de *Meloidogyne*. Existe ainda alguns tratamentos experimentais que visam a proteção das plantas pelo uso de fungos micorrízicos arbuscular (esporos de *Gigaspora* e *Glomus*), que pode ser usado no transplântio ou mesmo aplicando os esporos diretamente ao solo (AGRIOS, 2005).

2.5 Nematóide das galhas e a cultura do tomate

A cultura do tomate sofre com o atacado de inúmeros patógenos que causam os mais variados tipos de doenças. Cerca de duzentas doenças e distúrbios fisiológicos já foram relatados afetando a cultura do tomate em todo mundo e, embora raros, mais de cinco dessas doenças ou distúrbios podem aparecer ao mesmo tempo na planta e sua ocorrência pode resultar em grandes danos e prejuízos a cultura. Em algumas regiões do país a tomaticultura é limitada em determinadas épocas de cultivo devido à falta de controle eficaz ou pelo elevado custo de produção com a aplicação de defensivos agrícolas (LOPES; ÁVILA, 2005).

Entre os patógenos de importância econômica para a cultura, os nematoides destacam-se por acarretar sérias limitações à produção a tomaticultura. Charchar e Lopes (2005) apontam como principais nematoides causadores de danos ao tomateiro os endoparasitas migradores (*Pratylenchus* e *Radopholus*), os ectoparasitas (*Belonolaimus*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Longidorus*, *Ditylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhyncus* e *Xiphinema*) e endoparasitas sedentários (*Heterodera* e *Meloidogyne*). De acordo com Souza *et al.* (2010) em quase todas as regiões do mundo, a meloidoginose (doença causada por nematóides do gênero *Meloidogyne* spp.) é um dos problemas fitossanitários mais prejudiciais. Os nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. são os mais importantes fitonematoides da cultura do tomate. Essa planta é susceptível a diversas espécies desse gênero, tais como: *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. javanica* e *M. incognita* (raças 1 a 4), sendo as duas últimas espécies, os fitoparasitas mais comuns em áreas agricultáveis (SANTOS *et al.*, 2006).

Os percentuais anuais de perda na produção de tomate devido os danos causa pelo *Meloidogyne* spp. é de difícil estimativa, esses dados muitas vezes não são contabilizados pelos produtores ou por órgãos governamentais. Charcha e Aragão (2005) em suas pesquisas relatam que, mundialmente, as perdas causadas pelos nematóides das galhas podem variar entre 30 a 80 % na produção do fruto. Os mesmos revelam que em estufa plástica, o fitonematóide pode causa perdas entre 14 a 44 % em tomate e, perda de até 100 % na cultura do pepino. Essas perdas produtivas estão relacionadas principalmente devido a formação de galhas no sistema radicular das plantas parasitadas. Cofcewicz *et al.* (2001) destacam que a formação das galhas, como

resultante da infecção pelo nematoide, provoca uma interrupção e desorganização das estruturas celulares do sistema radicular. Essa interrupção impede a absorção de nutrientes do solo, provocando deficiência mineral e perdas de produtividade de ordem de 25 a 85 % (RESENDE; COSTA, 2000), dependendo da cultura.

Tomateiros atacadas por nematoides caracterizam-se pela presença de galhas e massa de ovos no sistema radicular e pelo baixo vigor e pouco desenvolvimento da parte aérea. Os sistemas radiculares parasitados por esses fitoparasitas são menos eficientes na absorção de água e nutrientes da solução do solo e, por esse motivo, podemos perceber outros sintomas que podem indicar a presença do nematoide nas raízes das plantas tais como crescimento reduzido, sintomas de deficiências minerais, murcha durante os horários mais quentes do dia com recuperação à noite (EMBRAPA, 2013). Além das deficiências nutricionais, o desequilíbrio hormonal é um dos fatores que contribui para a inibição do crescimento e brotação no tomateiro. Isto ocorre devido a interferência na produção e translocação de substâncias provenientes das raízes como a giberelinas, citoquininas e também substâncias que regulam a fotossíntese (ARIAS *et al.*, 2009).

De modo geral, o tomateiro é susceptível aos nematoides do gênero *Meloidogyne* spp., entretanto, o grau de susceptibilidade varia de acordo com a cultivar da planta, espécie de nematoide, época do cultivo e o manejo cultural. Charchar e Aragão (2005) estudaram a reprodução do *Meloidogyne* spp. em 10 cultivares de tomateiro em dois ambientes, em estufa e em campo. Os autores verificaram variações significativas de respostas de acordo com a cultivar e com o ambiente. As cultivares apresentaram um fator de reprodução (FR) que variaram entre 6,0 e 60,7 em ambiente protegido (estufa) e, valores entre 7,7 e 137,7 em campo, mostrando assim, as diferentes respostas a interação nematoide-tomateiro e nematoide-tomateiro-ambiente.

Tomateiros resistentes ao *Meloidogyne* spp. são encontrados originalmente na forma silvestre (*Lycopersicon peruvianum* L.). Obteve-se híbridos bem sucedidos oriundos do cruzamento entre *L. peruvianum* L. e o tomate comercial (*L. sculentum* Mill) (SMITH, 1944 *apud* ARIAS, 2009). O gene que determina a resistência do tomateiro ao nematoide das galhas é denominado de “Mi” e está localizado no cromossomo 6 (TAYLOR, 1975). De acordo com Sorribas *et al.* (2005), tomateiros que apresentam o gene “Mi” podem suprimir o desenvolvimento e reprodução dos nematoides das galhas e, no mercado existe cultivares comerciais de tomateiros que

expressam esse gene. Porém, essas cultivares não são usadas extensivamente devido à baixa demanda do mercado que, provavelmente, não aprecia as características específicas e qualidade dos frutos das cultivares resistentes (SORRIBAS *et al.* 2005).

Jablonska *et al.* (2007) revela outra desvantagem das cultivares resistentes devido a presença do gene “Mi”. De acordo com os autores, esse gene é inativado em temperaturas acima dos 28 °C. Então podemos explicar que, cultivares consideradas resistentes ao *Meloidogyne* spp. em determinadas regiões, poderiam mostrasse susceptíveis, por exemplo, na região Nordeste do Brasil onde as temperaturas facilmente ultrapassam 28 °C. Desta forma, técnicas que visam o controle destes fitonematoides ainda devem ser continuamente melhoradas de modo que possamos encontrar maneiras mais eficiente, de baixo custo e que não causam toxidez ao homem e outros organismos benéficos ao ecossistema.

2.6 Interação planta-nematoide-micorriza

A atuação dos fungos micorrízicos arbusculares na proteção de plantas contra os fitonematoides tem demonstrado resultados bastante diversificado nos trabalhos de pesquisas. Maia *et al.* (2005) discorreram que o efeito protetor da simbiose micorrízica contra patógenos do sistema radicular tem-se mostrado satisfatório contra fungos fitopatogênicos, porém, a interação micorriza-planta-nematoide apresentam resultados contraditórios em relação às respostas obtidas por essa interação.

Apesar da variabilidade dos resultados encontrados nas pesquisas, de maneira geral, o efeito benéfico da micorrização é relatado com maior frequência nos experimentos. Anjos *et al.* (2005) estudaram o efeito da inoculação do fungo micorrízico *Scutellospora heterogama* em relação aos sintomas e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 1 em maracujazeiro doce (*Passiflora alata*) e verificaram que o fungo estimulou o crescimento das mudas e contribuiu para a redução da severidade dos sintomas e reprodução do nematoide.

Em experimento realizado por Sousa *et al.* (2010) usando três espécies de FMA, mostrou a variabilidade de resposta ao testar a interação planta-nematoide-micorriza, em duas espécies pertencentes aos gêneros *Glomus* (*G. clarum* e *G. albida*) e uma espécie do gênero *Acaulospora* (*A. scrobiculata*). Os autores verificaram que *Glomus clarum* e *G. albida* foram capazes de reduzir o número de galhas e a massa de

ovos do nematoide, porém o fungo *Acaulospora scrobiculata* não apresentou resultado que diferisse estatisticamente daqueles obtidos por plantas não micorrizadas (controle). Já Hussey e Roncadori (1982) apresentaram resultados evidenciando um aumento no número de ovos de nematoide em plantas de amendoim (*Arachis hipogae* L.) inoculadas com *G. etunicatum* oito vezes maior quando comparado a plantas não inoculadas.

Alguns autores verificaram o efeito da supressão na reprodução dos nematoides causadores de galhas devido a presença do fungo micorrízico apenas quando a colonização do FMA no córtex radicular da planta hospedeira foi superior a 54% (SALEH; SIKORA, 1984). No entanto, Sousa *et al.* (2010) mostraram que mesmo com um grau de colonização de 77,6 % apresentado pela inoculação com o FMA *Acaulospora scrobiculata*, não foi capaz de suprimir a reprodução de *M. incognita* em tomateiro cv. Santa Clara. Esses e outros trabalhos encontrados na literatura nacional e internacional demonstram que a interação planta-nematoide-micorriza pode apresentar uma grande variabilidade de respostas.

Hussey e Roncadori (1982) agruparam de maneira clara e simplificada (Tabela 2) os possíveis efeitos da interação planta-nematoide-micorriza encontrados em três categorias: neutros, quando nenhuma alteração no FMA, hospedeiro ou nematóide é evidente; positivos, se o FMA compensa os danos causados à planta pelo patógeno e o desenvolvimento e reprodução dos nematoides são suprimidos; negativos, quando a esporulação do FMA, o desenvolvimento e/ou a produção da planta são suprimidos e a reprodução do nematóide é aumentada.

Tabela 2 – Possíveis efeitos resultantes da interação planta-nematoide-micorriza (HUSSEY; RONCADORI, 1982).

Interação	Componentes	Efeitos sobre os componentes
Neutra	Fungo	Colonização radicular e produção de esporos não alterados.
	Planta	Estimulo micorrízico do crescimento e/ou produção vegetal não alterado; supressão do crescimento ou produção do crescimento vegetal não compensados pelo FMA.
	Nematoide	Atração e penetração nas raízes e/ou desenvolvimento e reprodução não alterados.

Positiva	Fungo	Aumento da colonização radicular e produção de esporos.
	Planta	Supressão do crescimento e/ou produção vegetal pelo nematoide compensado pela interação planta-FMA.
	Nematoide	Atração e penetração nas raízes e/ou desenvolvimento e reprodução suprimidos.
Negativa	Fungo	Colonização radicular e/ou produção de esporos suprimidas.
	Planta	Crescimento e/ou produção vegetal respondem negativamente à supressão sofrida pelo FMA causado pelo nematoide.
	Nematoide	Aumento da atração e penetração nas raízes e/ou desenvolvimento e reprodução.

Quando influenciada negativamente pela micorrização, a resposta do nematóide pode ser representada por: redução do número e tamanho das galhas, diminuição do número de ovos e larvas, inibição da penetração e desenvolvimento das larvas, aumento da mortalidade de larvas infectivas, redução no tamanho e número de células gigantes e prejuízo na reprodução. (MAIA *et al.* 2005).

A complexidade da interação entre os três organismos refleti-se nas respostas obtidas nos experimentos e, conforme podemos verifica na literatura, as respostas variam em relação a espécie de planta, espécie de nematoide, espécie de micorriza, grau de colonização micorrízica e concentração do inóculo do nematoide e do FMA. Desse modo, devemos salientar que o estudo do trinômio (planta-nametoide-micorriza) ainda é carente de estudos mais conclusivos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de instalação do experimento

O estudo foi realizado no período de setembro de 2012 a janeiro de 2013 em casa de vegetação do Departamento de Ciências do Solo da Universidade Federal do Ceará – UFC, localizada no município de Fortaleza, Ceará. O clima é do tipo Aw', de acordo com a classificação de Köppen, e situa-se nas seguintes coordenadas geográficas: latitude 3° 44'S e longitude 38° 33' W. Durante o período experimental, a média das temperaturas em casa de vegetação foi de $31,5 \pm 5,5$ °C.

3.2 Definição da Variedade do Tomateiro

A planta utilizada no experimento foi o tomateiro cv. Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Essa cultivar possui crescimento indeterminado, altura em torno de 0,6 m e frutos com tegumento vermelho e forma globular (ISLA, 2012). A escolha dessa espécie vegetal para este estudo justifica-se pela sua alta susceptibilidade aos nematoides das galhas e por essa espécie vegetal associar-se a várias espécies de fungos micorrízicos arbusculares.

3.3 Preparo do inóculo de *Meloidogyne incognita*

O inóculo inicial (ovos e juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* raça 2) foi fornecido pelo Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará. A população de *M. incognita* foi multiplicada em tomateiros cv. Santa Clara plantados em vasos contendo 5 kg de areia comercial autoclavado e mantidos em casa de vegetação. Depois de 45 dias após a inoculação (DAI), os tomateiros foram retirados dos vasos e o sistema radicular com galhas desenvolvidas foi separado da parte aérea e depois lavado em água corrente.

As raízes foram seccionadas em pedaços de aproximadamente 1 cm de comprimento e trituradas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl a 0,5%) em liquidificador em alta rotação durante 15 segundos (COOLEN; D'HERDE, 1972). A

suspensão foi homogeneizada e passada em um conjunto formado por 2 peneiras sobrepostas (20 e 400 mesh). O material retido na peneira de 400 mesh foi transferido para tubos de centrífuga juntamente com caolim e centrifugado durante 5 minutos a uma rotação de 1.750 rpm. Após essa etapa, descartou-se o sobrenadante permanecendo o material de interesse no fundo dos tubos ao qual se adicionou uma solução de sacarose a 45%. Os tubos foram novamente para centrífuga e submetidos durante 1 minuto a uma rotação de 1.750 rpm. Posteriormente, o líquido sobrenadante foi passado pela peneira de 400 mesh, eliminando toda a sacarose com água corrente. O material retido na peneira (ovos e formas juvenis de *M. incognita*) foram devidamente recolhido em becker e calibrado em câmara de Peters com auxílio de um microscópio estereoscópico para a posterior inoculação nas plantas do experimento.

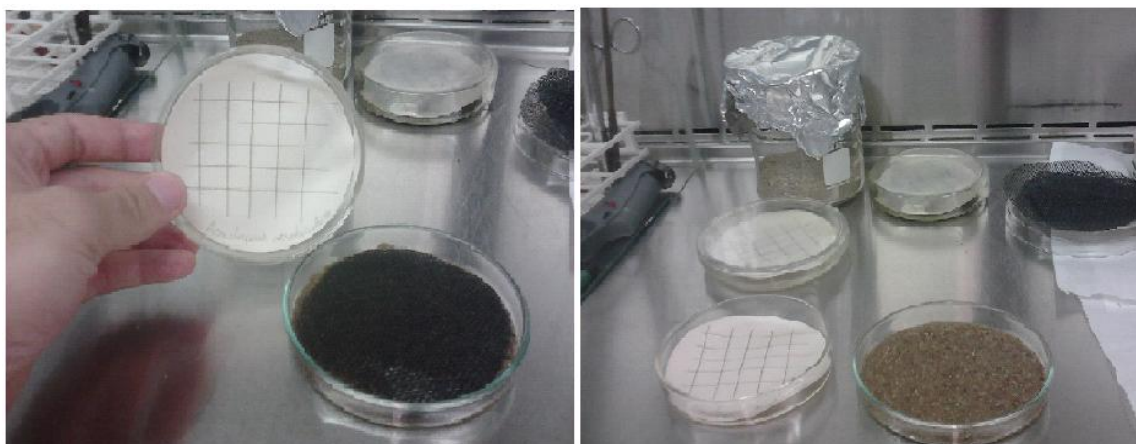
3.4 Inoculação do *Meloidogyne incognita* nos tomateiros

Para a inoculação dos tomateiros, 3 orifícios de aproximadamente 1 cm de diâmetro foram feitos no solo ao redor da muda de tomateiro (10 dias após a emergência) com distância de aproximadamente 2 cm do colo da mesma. Em cada orifício, adicionaram-se alíquotas de 5 ml com a suspensão (contendo ovos de *M. incognita* raça 2) aferida em pipeta de 10 ml de forma que cada planta recebesse um total de 4.000 ovos do nematóide.

3.5 Preparo do inóculo e inoculação da micorriza nos tomateiros

Os esporos de fungos micorrízicos arbusculares foram fornecidos pelo Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Esalq – USP). Para verificar a viabilidade dos esporos, foram preparadas placas de Petri com uma fina camada de areia estéril e papel de filtro estéril umedecido, segundo a metodologia de Brundrett e Juniper (1995). A avaliação da germinação dos esporos ocorreu diariamente sob microscópio estereoscópico (Figura 1).

Figura 1 - Preparo do material para o teste de germinação de esporos de FMA



Fonte: Autor

O inóculo de FMA foi composto por uma mistura de quatro espécies de micorrizas e a densidade de esporos foi determinada após a extração via peneiramento úmido (GERDEMANN; NICHOLSON, 1963) em câmara de contagem com auxílio do microscópio estereoscópico. Os esporos foram adicionados nos vasos duplos conectados (VDC) apenas nos tratamentos com micorriza (plantas emissoras com micorríza [EM+] e plantas receptoras com micorríza [RM+]) no momento do transplante dos tomateiros da sementeira para os vasos. Cada planta recebeu 8 ml com suspensão de esporos, sendo 2 ml de cada espécie de FMA totalizando 361 esporos (Tabela 2).

Tabela 2 – Espécies de FMA e número de esporos que constituíram o inóculo

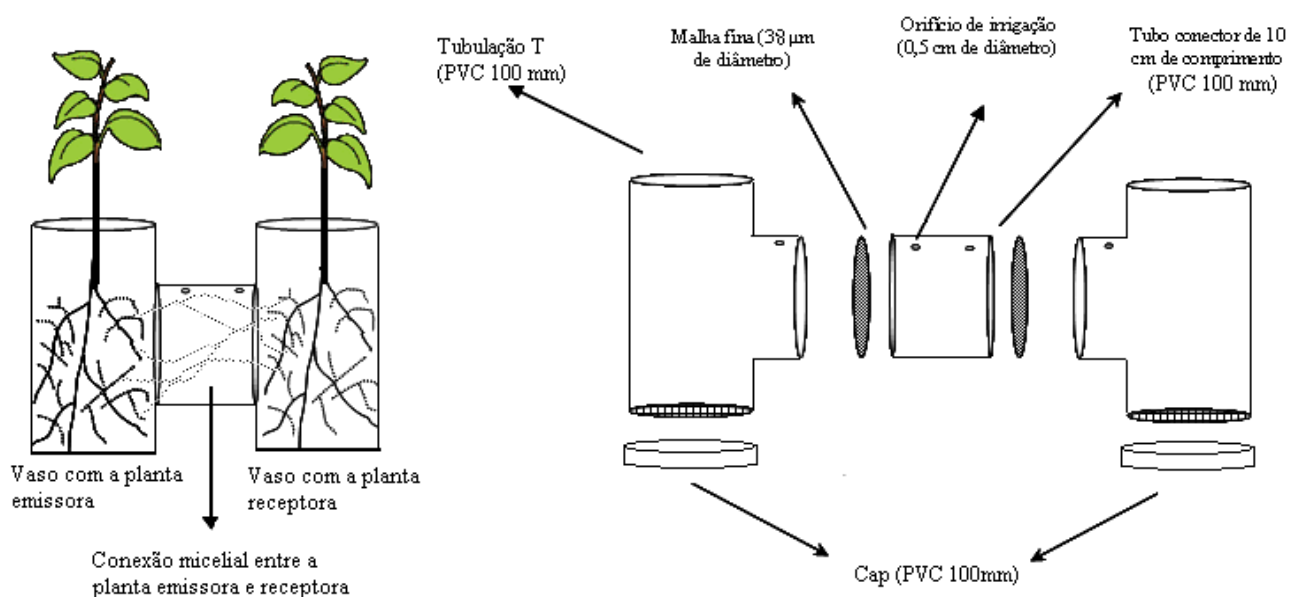
Espécie de FMA	Número de esporos*
<i>Glomus etunicatum</i>	231
<i>Glomus clarum</i>	89
<i>Glomus intraradices</i>	16
<i>Gigaspora rosea</i>	25
Total	361

* Média de cinco repetições do número de esporos encontrados em cada 2 ml de suspensão

3.6 Vasos duplos conectados (VDC)

A configuração do sistema em vasos duplos conectados (VDC) foi idealizada por Tavares (2011) e é formado por duas tubulações de PVC tipo T de 100 mm de diâmetro, interligadas por um tubo de PVC (100 mm de Ø) com 10 cm de comprimento. Nas extremidades do tubo com 10 cm de comprimento colocou-se uma tela de nylon de 38 µm de abertura, com intuito de permitir a passagem apenas das hifas de FMA, conforme mostra a Figura 2. Orifícios de irrigação de 0,5 cm de diâmetro foram perfurados na parte superior da conexão horizontal.

Figura 2 - Ilustração do vaso duplo conectado e seus respectivos componentes

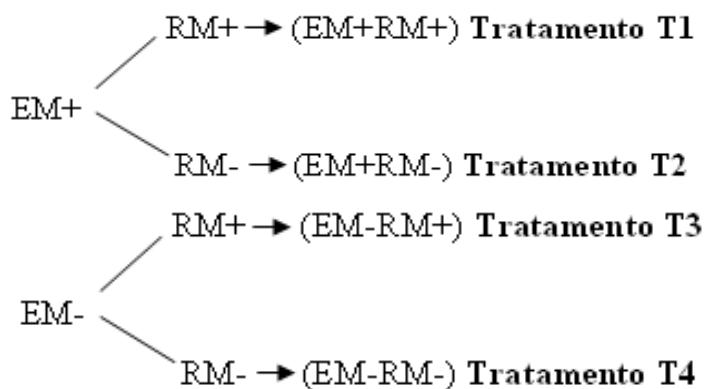


Fonte: Modificado de Tavares, 2011.

Todo o sistema foi preenchido com 5 kg de areia comercial e autoclavada. Para permitir a saída do excesso de água e evitar a passagem da areia na parte inferior do vaso duplo conectado, foi posicionado um cap de PVC de 100 mm de diâmetro perfurado na extremidade inferior da tubulação tipo T.

3.7 Tratamentos e condução do experimento

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), composto por 4 tratamentos e 5 repetições, totalizando 20 parcelas. Cada parcela constituiu-se por um sistema inicial de vaso duplo conectado (VDC), contendo uma planta em cada lado do vaso (Figura 3), onde uma das plantas foi denominada de emissora (E) e a outra receptora (R). Os quatro tratamentos foram oriundos da combinação entre os vasos com plantas emissoras com e sem micorriza, respectivamente (EM+ e EM-), conectados a vasos com plantas receptoras com e sem micorriza (RM+ e RM-), de acordo com o esquema abaixo.



O experimento teve início com o transplântio das mudas de tomateiros cv. Santa Clara com 12 dias de idade (dias após a emergência) da sementeira para os vasos duplos conectados. No momento do transplântio, adicionou-se o inóculo de FMA apenas nos tratamentos determinados para conter plantas com micorrizas (plantas emissoras com micorriza (EM+) (T1 e T2) e plantas receptoras com micorriza (RM+) (T3)). Após a adição dos esporos, aguardou-se um período de 30 dias, estabelecido com intuito de que ocorresse o contato e o estabelecimento do FMA no sistema radicular das plantas dos dois lados dos vasos duplos conectados. O estabelecimento deste período teve como referência estudos realizados por Tavares (2011) com vasos duplos conectados. O autor adicionou inóculo de FMA em um dos lados do vaso e, periodicamente, fez análises no sistema radicular da planta localizada no lado oposto (lado do vaso que não recebeu inóculo). Foi verificado pelo autor que a taxa de colonização micorrízica do compartimento oposto ao que recebeu a inoculação aumentou linearmente com aumento dos dias após a emergência das sementes, sendo

que, aos 25 dias, essa taxa foi de 22,5 % em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

Após o período de estabelecimento do FMA, iniciou-se a fase I (fase de pré-condicionamento) do experimento com a introdução do inóculo de nematoide (4.000 ovos e juvenis do segundo estágio de *M. incognita* raça 2) apenas nos lados dos vasos contendo as plantas emissoras com e sem micorriza (EM+ e EM-), tendo estas, permanecido em contato com os nematoides durante 45 dias. Após esse período, procedeu-se a separação dos vasos duplos conectados. As plantas emissoras foram então coletadas para análise (85 dias após a emergência), permanecendo em casa de vegetação apenas as plantas receptoras para que se desse início a fase II do experimento.

A fase II teve início após a separação dos vasos e adição do inóculo do nematoide (4.000 ovos e juvenis do segundo estágio de *M. incognita* raça 2) nas plantas receptoras, permanecendo por mais 45 dias em (Figura 3). Após esse período as plantas receptoras foram retiradas dos vasos e avaliadas (130 dias após a emergência). O resumo dos tratamentos pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 – Tratamentos aplicados às parcelas do experimento.

Tratamentos	Plantas Emissoras	Plantas Receptoras
Trat. 1 (EM+RM+)	Receberam micorriza no momento do transplântio do tomateiro e após 30 DAT ¹ receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.	Receberam micorriza no momento do transplântio do tomateiro e após a separação dos vasos receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.
Trat. 2 (EM+RM-)	Receberam micorriza no momento do transplântio do tomateiro e após 30 DAT receberam 4.000 de ovos <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.	Não receberam micorriza e após a separação dos vasos receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.
Trat. 3 (EM-RM+)	Não receberam micorriza e após 30 DAT receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.	Receberam micorriza no momento do transplântio do tomateiro e após a separação dos vasos receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.

Trat. 4 (EM-RM-)	Não receberam micorriza e após 30 DAT receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.	Não receberam micorriza e após a separação dos vasos receberam 4.000 ovos de <i>M. incognita</i> , permanecendo em contato com estes durante 45 dias.
---------------------	--	---

1 – Dias após o transplântio

A irrigação do experimento foi realizada duas vezes ao dia, de modo que os vasos sempre permanecessem com umidade próxima a capacidade de campo. Os nutrientes foram fornecidos semanalmente (50 ml) usando-se solução de Hoagland e Arnon (1950), a 100% da força iônica e completa para os tratamentos sem micorriza e, nos tratamentos com micorriza, adicionou-se a solução com ausência de fósforo.

Figura 3 – (A) Transplântio das mudas de tomateiros para os VDC; (B) Experimento durante a fase I com plantas emissoras e receptoras nos VDC; (C) Separação dos VDC, dando início à fase II; (D) Experimento durante a fase II, apenas as plantas receptoras dispostas em casa de vegetação.



Fonte: Autor

3.8 Parâmetros avaliados

As avaliações foram realizadas no final da fase I, usando-se as plantas emissoras, e no final da fase II, usando-se as plantas receptoras. Avaliaram-se os seguintes os parâmetros:

3.8.1 Altura da parte aérea (ALT)

Para verificar o parâmetro de crescimento das parcelas, no momento da coleta mediu-se a altura das plantas, do nível do solo até o ápice da mesma.

3.8.2 Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR)

Após a coleta das parcelas, separou-se a parte aérea do sistema radicular de cada planta sendo, posteriormente, ambas pesadas em balança analítica para a obtenção da massa da matéria fresca.

3.8.3 Massa da matéria seca da parte aérea (MSPA)

A parte aérea das plantas foi colocada em estufa com circulação forçada de ar para secagem a temperatura de 65° C durante aproximadamente 5 dias, até permanecerem com massa constante. Após a obtenção da massa da matéria seca em balança analítica, as amostras foram moídas para determinação dos teores de nutrientes.

3.8.4 Determinação dos teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea da planta

A determinação de nitrogênio, fósforo e potássio foram realizados de acordo com os métodos descritos por Malavolta *et al.* (1997). Obteve-se o conteúdo de nitrogênio pelo método de Kjeldahl, onde o material vegetal seco foi mantido em tubos de digestão com 2 ml de ácido sulfúrico concentrado mais a mistura catalizadora e submetido a uma temperatura de 350 °C para que ocorresse a mineralização do nitrogênio. Posteriormente, procedeu-se a destilação na presença de hidróxido de sódio

(NaOH a 30 %) e fenolfetaleína a 3 % sendo a fase líquida recolhida em erlenmeyer contendo 5 ml de ácido bórico (0,02 N) e titulada com ácido sulfúrico (H_2SO_4 a 0,02 N).

A digestão nitroperclórica foi utilizada como solução extratora do fósforo e do potássio, onde o material vegetal seco foi digerido em tubos contendo 6 ml de uma mistura de ácido nítrico (HNO_3) e ácido perclórico (HClO_4) na proporção 2:1 (v/v) e aquecido gradativamente até a temperatura de 250 °C. Após o extrato atingir a temperatura ambiente foi filtrado e recolhido em balão volumétrico e adicionado água destilada até que completasse o volume de 50 ml. A determinação do potássio deu-se pela leitura direta do extrato no espectrofotômetro de chama enquanto que a leitura do fósforo foi obtida por espectrofotometria, por meio da intensidade da cor do complexo fosfomolibdico produzido pela redução do molibdênio com o ácido ascórbico.

3.8.5 Quantificação do número de galhas e presença de massa de ovos do nematoide no sistema radicular do tomateiro

A quantificação do número de galhas nas raízes e a massa de ovos foi determinada por contagem direta no sistema radicular sob microscópio estereoscópico. Após essa etapa, as raízes foram pesadas novamente e fracionadas em duas porções de igual massa. Uma porção foi utilizada para a determinação da colonização micorrízica arbuscular e a outra foi usada para a determinação do número de ovos de *M. incognita*.

3.8.6 Colonização Micorrízica Arbuscular

A porção do sistema radicular destinada à avaliação da colonização micorrízica foi coletada e armazenada em álcool a 70 % e mantida sob refrigeração até o momento da avaliação. Para a obtenção do percentual de colonização micorrízica nas raízes, realizou-se o clareamento do córtex radicular pelo aquecimento (70 °C) em banho-maria em solução de KOH a 10% até que ocorresse a eliminação do tanino das raízes, segundo a metodologia descrita por Phillips e Hayman (1970). Em seguida, conforme Vierheilig *et al.* (1998), foi realizada a acidificação das raízes com ácido acético a 5 %, corando-as, posteriormente, com tinta de caneta azul a 5 %. As raízes coradas foram preservadas em frascos de vidros contendo uma solução de lactoglicerol e mantidas sob refrigeração até o momento da confecção das lâminas para observação

em microscópio ótico de campo claro. Para a montagem das lâminas, 10 fragmentos de raízes coradas de 1 cm de comprimento foram colocados em cada lâmina, adicionando-se uma gota de lactoglicerol sobre os fragmentos de raízes e, posteriormente, cobrindo com uma lamínula para a observação em microscópio. A quantificação da colonização radicular deu-se pela observação também em microscópio óptico de campo claro da presença de estruturas fúngicas típicas de FMA na região do córtex radicular dos fragmentos corados, tendo a estimativa do percentual de colonização sido realizada de acordo com Giovanetti e Mosse (1980).

3.8.7 Número de ovos de *M. incognita* e fator de reprodução do nematoide

A determinação do número de ovos foi realizada após a extração dos ovos das raízes conforme o método de Coolen e D'Herde, 1972, mencionado anteriormente. A quantificação do número de ovos foi realizada pela contagem em câmara de Peters com auxílio de um microscópio estereoscópico. O fator de reprodução foi obtido pela razão entre a população final (número de ovos) em raízes de cada planta e a população inicial (número de ovos) empregada por ocasião da inoculação em cada planta (4.000 ovos).

$$FR = Pf / Pi$$

Onde: FR – Fator de reprodução do nematoide

Pf – População final do nematoide

Pi – População inicial do nematoide

3.9 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F com auxílio do programa computacional ASSISTART versão 7.6 beta (SILVA; AZEVEDO, 2002) e as médias dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na fase I as análises foram realizadas apenas nas plantas emissoras (EM+ e EM-), ou seja, a única fonte de variação era a presença ou ausência de micorriza nas plantas. Portanto, a estatística foi aplicada comparando-se as médias entre dois tratamentos, respectivamente planta emissora com micorriza (EM+) e planta emissora sem micorriza (EM-) submetida ao parasitismo por *M. incognita* raça 2.

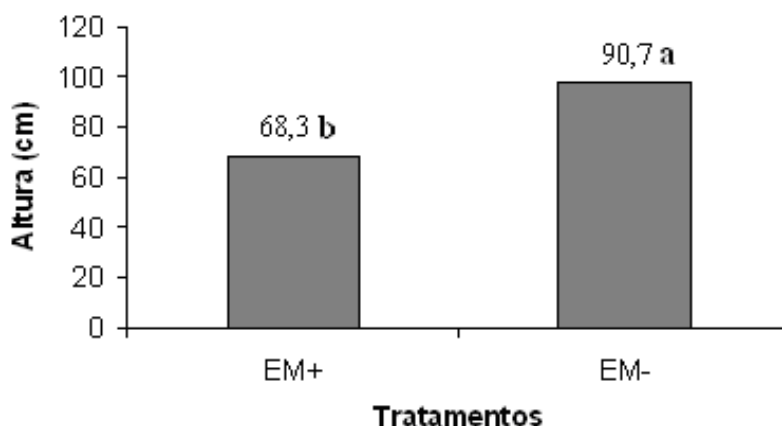
As análises realizadas nessa fase justificam-se pelas respostas que podem ser obtidas em relação a apenas a interação planta-micorriza-nematoide que ocorreu do momento da implantação do experimento até final da fase I (85 dias), além de possíveis comparações com resultados obtidos na fase II (fase final do experimento aos 130 dias).

4.1 Fase I (pré-condicionamento) - Plantas emissoras

4.1.1 Resultados do crescimento das plantas

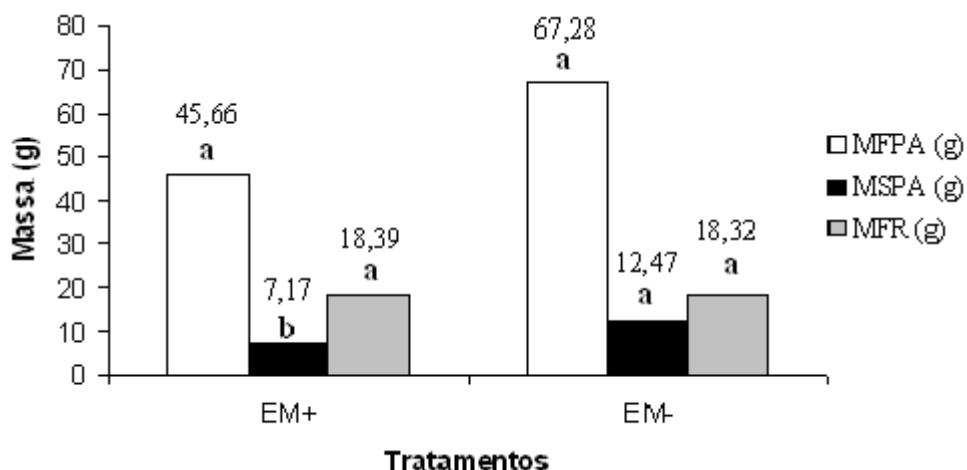
Os resultados da altura das plantas emissoras mostram diferença estatística significativa entre os tratamentos, sendo que as plantas emissoras sem micorrizas (EM-) obtiveram um crescimento superior às plantas emissoras com micorrizas (EM+), conforme observado na Figura 4.

Figura 4 – Altura das plantas emissoras submetido ao teste de comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)



O tratamento EM- apresentou plantas com altura média de 90,7 cm, ou seja, 24,7 % maior que as plantas do tratamento EM+ (68,3 cm). Assim como a altura, a massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas aponta que o maior crescimento ocorreu no tratamento com plantas emissoras sem micorriza (EM-) (Figura 5). Os dados revelam uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os valores encontrados nos tratamentos com micorriza (EM+) e sem micorriza (EM-), respectivamente 7,17 g e 12,47g.

Figura 5 – Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) e massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas emissoras submetidos ao teste de comparação de médias. Médias seguidas por letras iguais em colunas de mesma cor não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

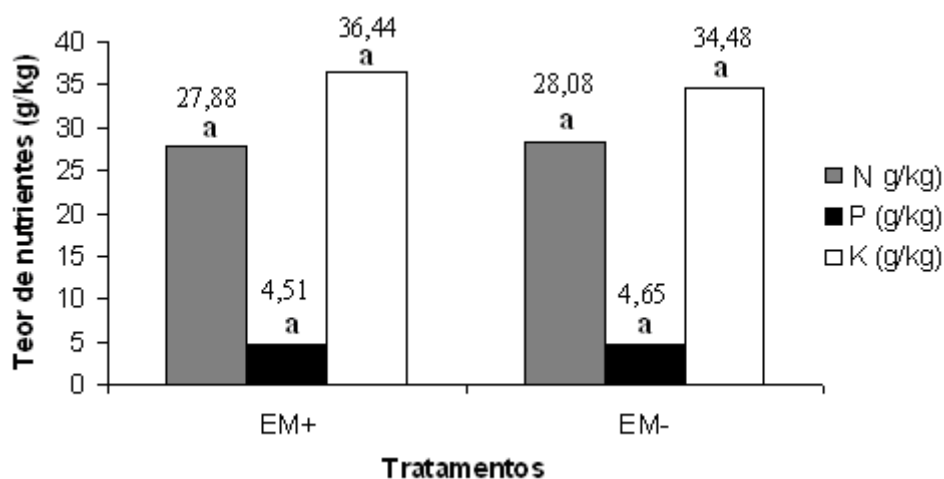


Diferente da altura e da MSPA das plantas emissoras, os valores da massa da matéria fresca, tanto da parte aérea da planta (MFPA) quanto do sistema radicular (MFR), não apresentam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. Para os valores de MFR obtiveram-se resultados próximos entre os tratamentos, para EM+ = 18,39 g e EM- = 18,32 g (Figura 5). No entanto, em relação à massa fresca da parte aérea (MFPA), mesmo existindo uma diferença de 21,62 g entre a maior média (67,28 g) e a menor média (45,66 g), respectivamente, plantas emissoras sem micorriza (EM-) e com micorriza (EM+), essas médias foram consideradas não significativas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) devido ao alto coeficiente de variação que, para este parâmetro, foi de 41,83 %. Nesse caso é importante salientar que os parâmetros relativos à massa da matéria fresca são, em alguns casos, de baixa

confiabilidade já que estes valores variam de acordo com a umidade no vaso no momento da coleta das plantas, com a umidade atmosférica e na própria planta no momento da pesagem.

Os teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea das plantas encontram-se coerentes com os valores observados por outros autores que estudaram tomateiro (ANDERSEN *et al.*, 1999, FAYAD *et al.*, 2002). Esses valores, entretanto, não mostraram diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) entre as plantas emissoras com micorriza (EM+) e sem micorriza (EM-), conforme mostra a Figura 6.

Figura 6 – Teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea das plantas emissoras submetidos ao teste de comparação de médias. Médias seguidas por letras iguais em colunas de mesma cor não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



O potássio foi o nutriente encontrado em maior abundância na parte aérea da planta, seguido pelo nitrogênio. Esses resultados são coerentes com resultados observados por Fayad *et al.* (2002) em seu estudo sobre absorção de nutrientes em tomateiro cv. Santa Clara. Apesar do parasitismo provocado pelo nematoide no sistema radicular, o teor de nitrogênio encontra-se acima de 20,8 g/kg que, de acordo com Andersen *et al.* (1999) em tomateiros, valores inferiores a este, caracteriza a deficiência de N.

O teor de fósforo encontra-se acima do nível crítico (EM+ = 4,51 g/kg e EM- = 4,65 g/kg) estabelecido para o tomateiro, que é de 2,5 g/kg (LORENZ; TYLER, 1983). Percebe-se na avaliação desse parâmetro que apesar da solução nutritiva (solução de Hoagland e Arnon) aplicada nas plantas emissoras com micorrizas (EM+) não conter

fósforo, esse tratamento apresentou plantas com teores de P muito próximos aquelas que receberam a solução nutritiva completa (Figura 6). Esse resultado corrobora com inúmeros trabalhos que mostram a eficiência dos FMA em fornecer fósforo para a planta hospedeira mesmo em solos muito pobres em relação a esse nutriente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Por meio da análise estatística dos resultados do crescimento das plantas emissoras, principalmente em relação à altura e massa da matéria seca, podemos afirmar que as plantas emissoras com micorriza (EM+) foram mais afetadas pelo nematoide no sistema radicular em comparação as plantas emissoras sem micorrizas (EM-). Os danos causados nas raízes devido à presença do *Meloidogyne incognita* foram refletidos na parte aérea da planta devido à diminuição da absorção de água e de nutrientes, como também no transporte de substâncias hormonais, o que influencia diretamente o crescimento, a brotação e a produção de matéria seca (COFCEWICZ *et al.* 2001; ARIAS *et al.*, 2009).

Esse fenômeno foi bem evidenciado nas combinações que envolviam plantas micorrizadas, provavelmente em razão de maior favorecimento da planta ao *M. incognita* (avaliada posteriormente pela presença de maior número de galhas, de massa de ovos e de número de ovos por planta). De fato, as plantas emissoras inoculadas com micorriza (EM+) apresentaram maior suscetibilidade ao nematoide (Tabela 4), o que refletiu nas variáveis respostas de crescimento da planta.

4.1.2 Avaliação da colonização micorrízica

Em relação à avaliação do grau de colonização radicular dos fungos micorrízicos arbusculares, foram preparadas lâminas contendo fragmentos de raízes, e observados conforme Giovanetti e Mosse (1980), tanto nos tratamentos com plantas emissoras com micorrizas (EM+) quanto nos sem micorrizas (EM-). Os resultados obtidos mostraram que o tratamento EM+ apresentou um grau de colonização de 27,3 %, enquanto que no tratamento EM- não ocorreu a presença de nenhuma estrutura fúngica, comprovando dessa forma que não houve contaminação das parcelas experimentais.

O baixo índice de colonização apresentado pelas plantas emissoras com micorriza (EM+) pode ter sido influenciado pela presença do *M. incognita* parasitando o

sistema radicular dos tomateiros. Apesar do presente experimento não contar com parcelas contendo apenas tomateiro inoculado com micorriza (sem a presença do nematóide), podemos verificar nos trabalhos de Cofcewicz *et al.* (2001) e Diedhiou *et al.* (2003) que o grau de colonização micorrízica em tomateiros é maior nos tratamentos em que os nematoides estão ausentes. Alguns autores explanam sobre a influência da presença de fitonematoides sobre a redução da colonização radicular e até mesmo na produção de esporos de FMA (SCHENCK *et al.* 1975). É importante salientar que o efeito antagônico que os nematoides causam sobre o FMA não se deve a um contato direto entre esses organismos mas, indiretamente devido a interrupção e desorganização que os fitonematoides causam no sistema radicular das plantas parasitadas. Cofcewicz *et al.* (2001) atribuíram o baixo percentual de colonização micorrízica arbuscular de plantas de tomate à presença de *M. javanica*. Segundo esses autores, o nematoide age interferindo no fluxo de nutrientes entre os simbiossiontes, diminuindo dessa forma o desenvolvimento do fungo.

Entretanto, baixos índices de colonização não se correlacionam, necessariamente à eficiência dos fungos micorrízicos arbusculares na relação simbiotrófica (MEDEIROS *et al.* 1994; SOUSA *et al.* 2010). Saleh e Sikora (1984), porém, verificaram que o fungo micorrízico *Glomus fasciculatum* induziu efeito de supressão na reprodução do *M. incognita* em algodoeiro (*Gossypium* spp.) apenas quando a colonização radicular foi superior a 54 %. Já Sousa *et al.* (2010) mostraram que mesmo com um grau de colonização de 77,6 % apresentado pela inoculação com o FMA *Acaulospora scrobiculata*, este não foi capaz de reduzir a reprodução de *M. incognita* em tomateiro cv. Santa Clara. A relação entre a colonização do córtex radicular da planta hospedeira pelo FMA e eficiência do fungo continua sendo uma relação controversa na micorrizologia.

Apesar de uma colonização inferior a 30 % apresentado nas plantas emissoras com micorrizas (EM+), essa colonização foi eficiente no fornecimento de fósforo para a planta, pois mesmo recebendo solução nutritiva com ausência P durante o experimento, não diferiram estatisticamente das plantas que receberam P na solução nutritiva.

Em relação ao aspecto de proteção das plantas, os resultados revelaram que as plantas emissoras com micorriza (EM+) tornaram-se mais vulneráveis ao ataque do nematoide (Figura 4, Figura 5 e Tabela 4) quando comparadas às plantas emissoras sem

micorriza (EM-). É provável que as plantas inoculadas com micorrizas tenham se tornado mais atrativas ao *M. incognita* devido a maior produção de exsudatos na região rizosférica (COFCEWICZ *et al.* 2001), que são capazes de atrair e estimular a reprodução dos componentes da biota do solo, dentre elas, os nematoides. Esses fitoparasitas possuem um sensível sistema de sensores que os tornam capazes de selecionar ativamente as plantas necessárias para sua alimentação e reprodução (ZINOVEVA *et al.*, 2004), nesse caso, as plantas micorrizadas mostraram-se mais propícias ao desenvolvimento dos nematoides.

4.1.3 Avaliação do parasitismo do nematoide no sistema radicular do tomateiro

Os resultados obtidos pela avaliação do parasitismo do *M. incognita* no sistema radicular do tomateiro apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) para todos os parâmetros avaliados. Esses parâmetros revelaram que os nematoides apresentaram maior infectividade nas plantas emissoras inoculadas com micorriza (EM+), conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Resultado do número de galhas, de massa de ovos, de número de ovos e fator de reprodução do nematoide no sistema radicular das plantas emissoras.

Tratamentos	Nº de galhas/planta	Massa de ovos/planta	Nº de ovos/planta	FR*
EM+	806,5 a	547,1 a	39.625,45 a	9,91 a
EM-	494,4 b	384,9 b	29.825,80 b	7,45 b
CV (%)	20,69	24,60	28,01	28,01
DMS**	126,39	107,65	9.136,48	2,28

*Fator de reprodução do nematoide. **Diferença mínima significativa. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

As plantas emissoras sem micorrizas (EM-) apresentaram menor número de galhas e de massa de ovos por planta que as plantas do tratamento EM+. Nestas últimas observam-se valores médios de 806,5 galhas/planta e 547,1 massas de ovos/planta

contra valores de 494,4 galhas/planta e 384,9 massas de ovos/planta para os mesmos parâmetros nas plantas emissoras sem micorriza (EM-), ou seja, uma redução de 38,7 % para número de galhas e de 29,6 % para a massa de ovos nas plantas não micorrizadas. O mesmo ocorreu com o número de ovos de nematoide por planta e, conseqüentemente, com o fator de reprodução (FR). O tratamento com plantas emissoras com micorriza (EM+) apresentou 39.625,45 ovos de nematoide/planta e FR igual a 9,91, enquanto que no tratamento sem micorriza (EM-) obtiveram-se 29.825,80 ovos de nematoide/planta e FR de 7,45. Observou-se uma diferença de 24,8 % para esses parâmetros, revelando que houve uma maior reprodução do *M. incognita* nas plantas emissoras com micorrizas (EM+).

Cofcewicz *et al.* (2001) encontraram resultados semelhantes ao estudarem a interação entre *M. javanica* e duas espécies de FMA (*Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita*). Esses autores verificaram uma maior quantidade de galhas e número de massa de ovos em tomateiros com micorrizas, independente da espécie fúngica analisada, em relação às plantas de tomate não micorrizadas. Hussey e Roncadori (1982) apresentaram resultados evidenciando um aumento no número de ovos de nematoide em plantas de amendoim (*Arachis hipogae* L.) inoculadas com *G. etunicatum* oito vezes maior quando comparado a plantas não inoculadas. Sousa *et al.* (2010) destacaram em seu trabalho as diferenças entre a interação de três espécies de FMA com *M. incognita* em tomateiro cv. Santa Clara. Os autores explanam que *Glomus clarum* e *G. albida* foram capazes de reduzir o número de galhas e a massa de ovos do nematoide, porém com o fungo *Acaulospora scrobiculata* não houve diferença estatística significativa quando comparado com plantas sem micorriza (controle).

Segundo Cofcewicz *et al.* (2001) esse aumento na infectividade dos nematoides em plantas colonizadas pode ser atribuída a várias razões. Raízes micorrizadas podem atrair um maior número de juvenis infectivos comparados as raízes não micorrizadas pela maior liberação de substâncias na rizosfera (exsudatos). Os mesmos autores ainda apontam que outra razão para esse fato é que plantas com sistema radicular mais desenvolvido podem atrair mais nematoides devido a maior oportunidade para a penetração dos fitoparasitas (maior sítio de infecção).

Os parâmetros de avaliação da atividade do *M. incognita* refletiram diretamente nos parâmetros de crescimento da planta. Essa atividade pode ser considerada o fator principal que causou a diferença entre os tratamentos com plantas

emissoras com micorriza (EM+) e sem micorriza (EM-) com relação à altura e a massa da matéria seca da parte aérea, onde o tratamento EM- apresentou os melhores resultados. De fato, é possível encontrar um vasto número de estudos que mostram os efeitos negativos relacionados a presença de nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. em tomateiros. Corroborando com Charchar e Lopes (2005), tomateiros infectados por esses nematoides apresentam porte reduzido, folhas pequenas e amareladas, e intensa murcha nas horas mais quentes do dia em consequência da abundante formação de galhas na raiz da planta, o que prejudica a absorção de água e nutrientes do solo. Quanto maior a infectividade do nematoide ao sistema radicular maiores os danos causados à planta e, em casos de uma grande população de fitonematoides as plantas podem até tornarem-se estéreis, com total ausência de flores (FERRAZ, 2001).

4.2 Fase II - Plantas receptoras

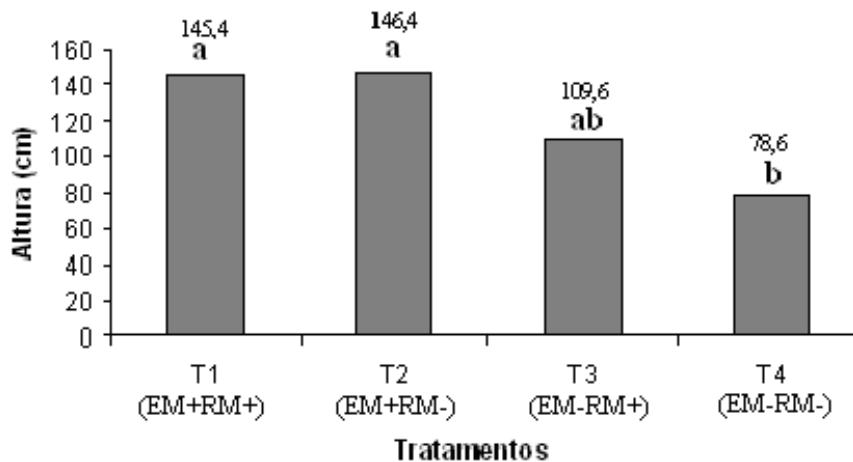
A fase II do experimento contou com o teste de comparação de médias em quatro tratamentos oriundos da interação das fontes de variação: plantas emissoras com micorriza e sem micorriza (respectivamente, EM+ e EM-) interagindo com plantas receptoras com e sem micorriza (respectivamente, RM+ e RM-), conforme esquema apresentado no item 3.7.

As análises realizadas nessa fase apresentaram respostas geradas pela interação planta-micorriza-nematoide submetida a um pré-condicionamento em contato com plantas micorrizadas, ou não, sob ataque do *M. incognita* (fase final do experimento aos 130 dias).

4.2.1 Resultados do crescimento das plantas

Observa-se nos valores de altura das plantas receptoras uma diferença significativa entre os tratamentos, onde as plantas com maiores valores de altura da parte aérea encontram-se nos tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-), respectivamente com médias de 145,4 cm e 146,4 cm, enquanto que as menores médias plantas foram verificadas no tratamento T4 (EM-RM-), conforme a Figura 7.

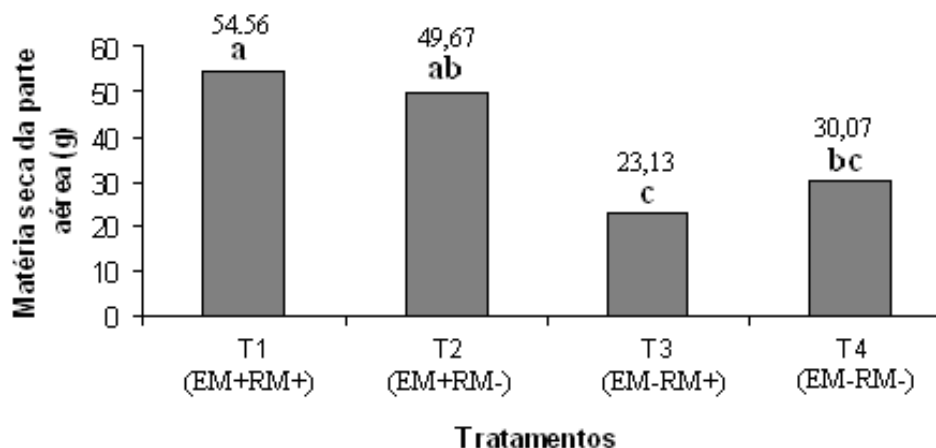
Figura 7 – Altura das plantas receptoras submetido ao teste de comparação de médias (Tukey, $p \leq 0,05$).



Diferente da fase I, os tratamentos com micorriza apresentaram os maiores valores de altura da parte aérea, principalmente as plantas que, no período de pré-condicionamento, estavam conectadas às plantas emissoras inoculadas com micorriza, como no caso do T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-), os quais não diferiram entre si no teste de Tukey ($p \leq 0,05$). No tratamento T3 (EM-RM+), onde apenas o lado do vaso das plantas receptoras continha micorriza, a média da altura (109,6 cm) não diferiu no teste de comparação de médias entre os tratamentos com maior desempenho, T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-), e o tratamento com menor desempenho (T4 EM-RM-). O tratamento T4 (EM-RM-), que apresentou a menor média da altura (78,6 cm), foi composto por parcelas sem micorrizas, tanto nas plantas emissoras quanto nas receptoras. Resposta semelhante foi observada na massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), onde os tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-) apresentaram as maiores médias (54,56 e 49,67 g respectivamente) e não diferiam estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$) para esse parâmetro.

No entanto, os tratamentos que no período de pré-condicionamento (fase I) encontravam-se nos vasos duplos conectados (VDC) em contato com plantas emissoras sem micorriza produziram a menor MSPA, como observado nos tratamentos T3 (EM-RM+) e T4 (EM-RM-), conforme mostra a Figura 8. O tratamento T4 (EM-RM-) apresentou média de 30,07 g de MSPA enquanto que o tratamento T3 (EM-RM+) obteve o menor desempenho para esse parâmetro, ou seja, 23,13 g, entre todos os tratamentos.

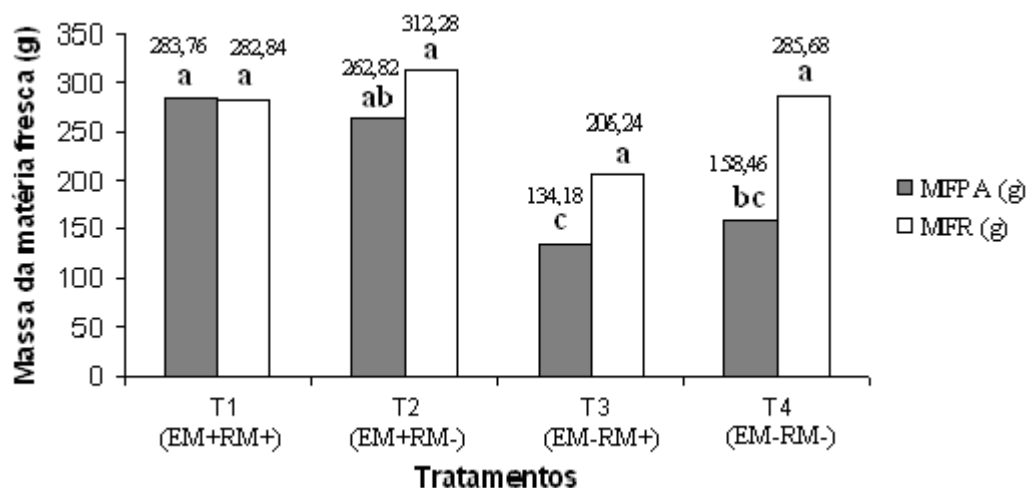
Figura 8 – Massa da matéria seca da parte aérea das plantas receptoras submetidos ao teste de comparação de médias. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



A massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) das plantas receptoras, como já discutido anteriormente, nem sempre são parâmetros tão rigorosos para avaliar crescimento vegetal. A MFR das plantas receptoras não diferiu estatisticamente entre os tratamentos e apresentaram valores próximos (T1 EM+RM+ = 283,76 g, T2 EM+RM- = 312,28 g e T4 EM-RM- = 285,68 g), exceto o tratamento T3 (EM-RM+) com massa igual á 206,24 g e que, apesar de menor que os demais tratamentos, não diferiu estatisticamente dos demais pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), possivelmente em função do alto coeficiente de variação (39 %) apresentado para esse parâmetro (Figura 9).

Os dados obtidos pela MFPA seguiram o mesmo padrão observado na MSPA, onde as maiores médias de massas foram encontradas nos tratamentos T1 (EM+RM+), com 283,76 g, e T2 (EM+RM-), com 262,82 g, ou seja, tratamentos que possuíam plantas emissoras com micorriza (EM+) na fase de pré-condicionamento.

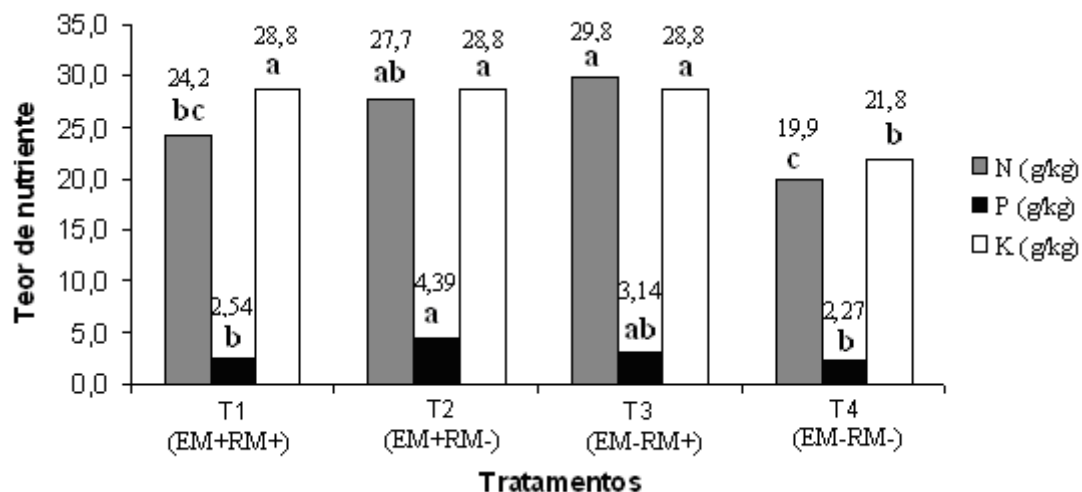
Figura 9 – Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) das plantas receptoras. Médias seguidas por letras iguais em colunas de mesma cor não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



As respostas menos satisfatórias foram obtidas novamente no tratamento T3 (EM-RM+), seguido pelo T4 (EM-RM-), respectivamente com valores médios de massas de 134,18 e 158,46 g. O padrão de respostas observado já podia ser esperado para esse parâmetro levando-se em consideração que a massa da matéria fresca (MFPA) é resultante da soma da massa da matéria seca (MSPA) e da umidade contida nos tecidos vegetais que, em média foi de 81,2%.

Assim como na fase I, os teores de nitrogênio e potássio da parte aérea da planta observados na fase II encontram-se coerentes com aqueles observados por outros autores que estudaram tomateiro (ANDERSEN *et al.*, 1999, FAYAD *et al.*, 2002). Entretanto, os valores encontrados para o fósforo, em alguns tratamentos, mostram-se abaixo do nível crítico para a planta (Figura 10). O potássio e o nitrogênio foram os nutrientes encontrados em maior abundância na parte aérea da planta. Apesar da análise de nutrientes da parte aérea se concentrar apenas nos teores de N, P e K neste trabalho, estudos referentes a absorção e acúmulo de nutrientes (macro e micronutrientes) realizados em tomateiro cv. Santa Clara mostram claramente que o K e N são os nutrientes que ocorrem em maior teor no tecido vegetal (FAYAD *et al.*, 2002).

Figura 10 – Teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea das plantas receptoras submetidos ao teste de comparação de médias. Médias seguidas por letras iguais em colunas de mesma cor não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



A presença do nematóide no sistema radicular não interferiu no adequado suprimento de N para as plantas, pois em todos os tratamentos o teor de nitrogênio encontrava-se acima de 20,8 g/kg, valor crítico para tomateiro (ANDERSEN *et al.*, 1999). Mesmo com os teores de N e K adequados em todos os tratamentos, o menor suprimento desses elementos foi verificado no tratamento controle (T4 EM-RM-), respectivamente com médias de 19,9 e 21,8 g/kg (Tukey, $p \leq 0,05$).

O tratamento T2 (EM+RM-) apresentou maior média em relação aos teores de fósforo dentre todos os tratamentos (4,39 g/kg). Os tratamentos T1 (EM+RM+) e T4 (EM-RM-) não diferiram estatisticamente entre si (Tukey, $p \leq 0,05$), no entanto, o tratamento T4 (2,27 g/kg de P) foi o único que apresentou teor de fósforo inferior ao nível crítico que, segundo Lorenz e Tyler (1983) é de 2,5 g/kg para tomateiro. Sugere-se que o alto teor de P obtido na parte aérea das plantas do tratamento T2 (EM+RM-) foi devido a algum possível efeito da solução nutritiva (solução de Hoagland e Arnon) em interação com o FMA (Tabela 5) e que será discutido com mais detalhes na avaliação da colonização micorrízica (item 4.2.2).

A análise das respostas obtidas pelos parâmetros de crescimento da planta (altura, MSPA, MFPA, MFR e teor de nutrientes) mostram a influência positiva do contato prévio das plantas receptoras com as plantas emissoras micorrizadas que,

possivelmente, estimulou o mecanismo de defesa vegetal, permitindo que, ao receberem os nematóides na fase II, as plantas receptoras crescessem melhor mesmo sob ataque do *M. incognita* quando comparadas às plantas não estimuladas. Por meio desses resultados podemos sugerir que a presença do fungo colonizando as plantas emissoras, tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-), foi mais relevante para o melhor desempenho das plantas receptoras dos tratamentos citados do que a presença desses fungos apenas nas plantas receptoras, como ocorreu no tratamento T3 (EM-RM+), ou a ausência total do fungo, como verificado no T4 (EM-RM-).

Os tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-) apresentaram os melhores desempenhos em praticamente todos os parâmetros estudados, mesmo recebendo a mesma quantidade de inóculo do fitonematoide. Por essa razão, inferimos que esses tratamentos receberam um estímulo ou sinalização que pode ter sido enviado por meio de micélios do FMA que colonizavam as raízes das plantas do lado oposto do vaso (emissoras) e que durante 45 dias estiveram submetidos ao parasitismo do *M. incognita*. Ao receberem essa sinalização, as plantas receptoras dos tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-) responderam ao estímulo da planta vizinha, iniciando o mecanismo de defesa induzida (sistema de defesa expressa após alguma injúria), aumentando previamente seus níveis de defesa.

De acordo com Song. *et al.* (2010), as plantas podem responder a um ataque por meio de combinações das defesas constitutivas e induzidas, expressas apenas depois de um sinal inicial de que invasores estão presentes. Porém, as plantas podem ser estimuladas antes mesmo de um ataque direto, isso ocorrendo devido a uma sinalização prévia de plantas vizinhas que estejam sob ataque de insetos ou fitopatógenos (AGRAWAL, 2000).

Essa sinalização, por sua vez, pode ser enviada via atmosfera ou via solo, por meio de microrganismos. Os fungos micorrízicos arbusculares podem atuar efetivamente no transporte de compostos químicos de vegetal para vegetal devido a conexão promovida pela rede micelial subterrânea que conecta o sistema radicular das plantas vizinhas (SIMARD; DURALL *et al.*, 2004).

Os resultados verificados nos tratamentos T3 (EM-RM+) e T4 (EM-RM-) podem ter sido provocados pelo efeito direto do parasitismo do *M. incognita* nas plantas, sem que estas estivessem previamente preparadas para este tipo de ataque. A simples presença de FMA nas plantas receptoras, sem que existisse a presença do FMA

nas plantas emissoras, não contribuiu para o melhor crescimento do vegetal. Diferente disso, o tratamento T3 (EM-RM+), onde a presença do FMA só ocorreu nas plantas receptoras, mostrou resultado semelhante às plantas micorrizadas da fase I, ou seja, menor massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) dentre os tratamentos, além de menor massa fresca da parte aérea da planta (MFPA) e da raiz (MFR). Contudo, a presença da micorriza nesse tratamento também contribuiu para um adequado suprimento de N, P e K, compensando assim a absorção deficiente de nutrientes provocada pela presença das galhas nas raízes (Figura 10). Anjos *et al.* (2010) afirmam que em plantas micorrizadas os danos causados pelo parasitismo podem ser compensados pelo incremento nutricional recebido pelas plantas devido à presença de FMA.

O tratamento T4 (EM-RM-) por sua vez, além de não sinalizado pela planta emissora, fato que conferiu ao tratamento baixos valores de altura, MSPA e MFPA devido a atividade do nematoide, ainda apresentou os menores teores de nutrientes do experimento. Possivelmente a ausência da micorriza na plantas receptoras contribuiu para esse resultado, uma vez que a colonização do FMA poderia ter compensado a absorção inadequada dos nutrientes pelas raízes parasitadas, assim como ocorreu no tratamento T3 (EM-RM+). A evidencia desse fato é consolidada pelo teor de P abaixo do nível crítico apresentado, como já mencionado. Como sabemos, a maior absorção de P pelas plantas hospedeiras é a principal vantagem da associação com FMA (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

4.2.2 Avaliação da colonização micorrízica

Assim como na fase I do experimento (pré-condicionamento), a avaliação do grau de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares foi realizada em todos os tratamentos, incluindo o controle (T4 EM-RM-), encontrando-se os resultados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultado da colonização dos FMA no córtex radicular das plantas receptoras.

Tratamentos	Colonização micorrízica arbuscular (%)
T1 (EM+RM+)	19,0
T2 (EM+RM-)	5,0
T3 (EM-RM+)	21,0
T4 (EM-RM-)	0,0

O grau de colonização tanto na fase I quanto na fase II foram baixos, com um percentual de colonização inferior a 30 % na fase I e inferior a 22 % na fase II. Dentre as razões que podem ter contribuído para esses baixos resultados podemos sugerir a própria presença do fitonematoide, disputando sítios de penetração e até mesmo interferindo no fluxo de nutrientes entre os simbiosites (SCHENCK *et al.* 1975; COFCEWICZ *et al.* 2001; CAVALCANTE *et al.*, 2009).

A colonização micorrízica arbuscular na fase II foi menor do que a ocorrida na fase I. É importante aqui ressaltar que, além da presença do nematóide, a própria idade das plantas no momento da coleta para análise pode ter influenciado esse grau de colonização para a fase II, uma vez que as plantas emissoras foram coletadas na primeira etapa do experimento (final da fase I) aos 85 dias após a emergência (DAE), enquanto que as plantas receptoras foram coletadas no final do experimento (final da fase II), ou seja, com 130 DAE. Assim como o tipo de manejo, a espécie de FMA e do vegetal, além idade da planta, são fatores importantes na determinação do grau de colonização das raízes (AFEK *et al.* 1990; CORDEIRO *et al.* 2005; CAVALCANTE *et al.*, 2009). No entanto, como já discutido anteriormente, ressalte-se que não existe necessariamente uma correlação entre o grau colonização micorrízica na planta hospedeira e a eficiência da simbiose micorrízica (MEDEIROS *et al.* 1994; SOUSA *et al.* 2010).

Os tratamentos T1 (EM+RM+) e T3 (EM-RM+) apresentaram colonização micorrízica de 19 % e 21 %, respectivamente, resultado da adição do inóculo de FMA nos vasos no momento do transplântio das mudas. A ausência de estruturas de FMA foi verificada no tratamento controle (T4 EM-RM-), comprovando a não existência de contaminação cruzada durante a condução do experimento.

O tratamento T2 (EM+RM-) destacou-se nessa análise devido à presença de estruturas de FMA (esporos) no córtex radicular das plantas receptoras, mesmo que estas não tenham recebido inóculo do fungo durante o experimento. Esse resultado reforça a possibilidade de que os esporos de FMA adicionados no lado do vaso contendo a planta emissora (EM+) foram capazes de germinar e estenderem-se vegetativamente através das telas de nylon (38 µm de abertura) do vaso duplo conectado (VDC), colonizando assim algumas raízes das plantas receptoras localizadas no lado oposto do vaso. Tavares (2011) verificou em experimento com VDC, através de análises periódicas e sequenciais que, ao adicionar inóculo de FMA em um dos lados do vaso, a taxa de colonização micorrízica do compartimento oposto ao que recebeu a inoculação aumentou linearmente com aumento dos dias após a emergência das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

A observação da colonização das plantas do tratamento T2 (EM+RM-) contribuiu de forma a esclarecer os resultados obtidos pelo tratamento que possuía micorriza nos dois lados do vaso (T1 EM+RM+), além de comprovar a funcionalidade do vaso duplo conectado (VDC). A presença do FMA do córtex radicular das plantas do tratamento T2 pode ter contribuído de maneira sinérgica com a solução nutritiva completa (com P) para que as plantas apresentassem o maior teor de fósforo dentre todos os tratamentos (Figura 10). Quando estão em associação, os FMA favorecem o crescimento vegetal pela maior absorção de água e nutrientes, principalmente fósforo (CORDEIRO *et al.*, 2005).

4.2.3 Avaliação do parasitismo do nematoide no sistema radicular do tomateiro

Podemos observar na Tabela 6 os valores referentes ao número de galhas e massa de ovos de nematoides por planta, onde se verifica que não houve diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) entre todos os tratamentos para esses parâmetros. Em relação ao número de galhas, os valores variaram entre 941,4 e 1387,2 galhas/planta, enquanto que a presença de massa de ovos por planta variou entre 544,0 e 758,8 massa de ovos/planta.

Tabela 6 – Número de galhas, massa de ovos, número de ovos e fator de reprodução do nematoide no sistema radicular das plantas receptoras.

Tratamentos	Nº galhas / planta	Massa de ovos/planta	Nº ovos / planta	FR*	RFR** (%)
T1 (EM+RM+)	965,6 a	544,0 a	8.319,30 c	2,08 c	83,98
T2 (EM+RM-)	1066,2 a	615,0 a	14.403,33 bc	3,60 bc	72,27
T3 (EM-RM+)	1.387,2 a	758,8 a	16.529,78 b	4,13 b	68,17
T4 (EM-RM-)	941,4 a	644,4 a	51.940,00 a	12,98 a	-
CV (%)	44,51	42,90	17,67	17,67	-
DMS***	878,75	497,72	7295,46	1,82	-

*Fator de reprodução do nematoide. **Redução do fator de reprodução obtido pela fórmula $FR = [(FR \text{ controle} - FR \text{ tratamento})/FR \text{ controle}] \times 100$. ***Diferença mínima significativa. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O número de galhas e a presença de massa de ovos no sistema radicular da planta são parâmetros que, por si só, não revelam a real condição de parasitismo sofrido pelas plantas. Isso porque os tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-) apresentaram valores estatisticamente iguais ao tratamento T4 (EM-RM-) em número de galhas e presença de massa de ovo. Porém, o tratamento T4 foi o mais afetado pela presença do *M. incognita*, como foi verificado por meio dos resultados dos parâmetros de crescimento da planta (altura, massa da matéria seca e matéria fresca da parte aérea, teores N, P e K da parte aérea). Deve-se ressaltar que, em termos de unidade numérica os tratamentos com micorriza (T1, T2 e T3) apresentaram maior número de galhas e massa de ovos por planta (mesmo não havendo diferença estatística significativa) em comparação ao T4. No entanto, o tamanho das galhas observadas nos diferentes tratamentos era bastante distinto, como podemos observar na Figura 11.

Figura 11 – Diferentes tamanhos de galhas encontradas nas raízes de tomateiro. Para esse experimento, as galhas foram consideradas da esquerda para direita como: grandes (diâmetro > 3 mm, conforme Charchar e Aragão, 2005) médios (entre 2 e 3 mm) e pequenos (diâmetro inferior a 2 mm).



Fonte: Autor

Devido aos diferentes tamanhos das galhas apresentadas no sistema radicular das parcelas analisadas, podemos inferir que o número de galhas por planta é, na realidade, um dado incipiente que, quando não está relacionado a outros parâmetros (como número de ovos/planta, fator de reprodução e crescimento vegetal), não pode explicar a condição de infectividade estabelecida na relação fitonematoide-planta.

O número de galhas nos tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-) foram, respectivamente, 965,63 e 1.066,2 galhas/planta. Essas galhas eram de tamanho pequeno (diâmetro inferior a 2 mm) e, quando ocorria a presença de massa de ovos, era possível visualizar apenas uma por galha o que, possivelmente, contribuiu para um menor número de ovos extraídos por planta (T1 = 8.319,30 ovos/planta e T2 = 14.403,33 ovos/planta) e baixo fator de reprodução (FR), respectivamente, 2,08 e 3,60. Verificamos também que os tratamentos T1 e T2 apresentaram as maiores reduções do fator de reprodução (RFR), T1 = 83,98 % e T2 = 72,27 %. O RFR é um parâmetro que mostra, em termos de percentual, a redução na atividade reprodutiva do nematoide dos tratamentos aplicados quando comparados ao tratamento controle, que para efeito de

calculado, tem zero por cento de redução. É importante ressaltar que os valores encontrados para o número de ovos/planta e FR são inferiores aos encontrados em várias referências bibliográficas disponibilizadas (CHARCHAR; ARAGÃO, 2005).

No tratamento T3 (EM-RM+) foi observado em maior frequência galhas de tamanho médio (entre 2 e 3 mm). Já em menores proporções nesse tratamento verificamos galhas pequenas e grandes (Figura 12). Assim como nos outros tratamentos já citados, quando ocorria a presença de massa de ovos, era possível observar apenas uma por galha. Verificamos no tratamento T3, 1.387,2 galhas/planta, 758,8 massa de ovos/planta. Em relação ao número de ovos (16.529,78 ovos de nematoide/planta) e o fator de reprodução (4,13), estes valores foram estatisticamente superiores aos tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-), e inferiores ao T4 (EM-RM-).

Figura 12 – Sistema radicular dos tomateiros submetidos aos 4 tratamentos. (A) tratamento T1 (EM+RM+); (B) tratamento T2 (EM+RM-); (C) tratamento T3 (EM-RM+) e; (D) tratamento T4 (EM-RM-)



Fonte: Autor

No tratamento T4 (EM-RM-) verificamos plantas com um sistema radicular menos abundante, com predomínio de galhas de tamanhos médios e grandes (diâmetro > 3 mm) e, com menor frequência observamos galhas pequenas. Esse tratamento, apesar de apresentar número de galhas estatisticamente igual aos demais tratamentos (941,4 galhas/planta), foi o mais afetado pela presença do *M. incognita*. Esta afirmação é coerente quando verificamos outros parâmetros tais como, número de ovos (51.940,00 ovos de nematoide/planta) e o fator de reprodução (FR= 12,98), que foi superior a todos os tratamentos testados no experimento, revelando assim, o maior sucesso reprodutivo do nematoide nas plantas componentes deste tratamento.

Inferimos que a quantidade de galhas encontradas no tratamento mais afetado pela presença do *M. incognita* (T4 EM-RM-) não foi superior as demais parcelas experimentais, devido a pouca disponibilidade de sítios de infecção (COFCEWICZ *et al.*, 2001), ou seja, um sistema radicular menos desenvolvido e com poucas raízes laterais, quando comparados aos outros tratamentos (Figura 13). Quando as raízes apresentam grandes infestações de nematoide, observamos um sistema radicular mais curto, como menos raízes laterais e poucos pêlos radiculares (TAYLOR; SASSER, 1983), desta forma, diminui a possibilidade de outros nematóides juvenis infectivos encontrem sítios de infecção para penetrar, se estabelecer e completar seu ciclo de vida.

Verificamos com frequência mais de uma massa de ovos de nematoide em uma mesma galha no tratamento T4 (EM-RM-). O que contribuiu para este tratamento apresentar um elevado número de ovos por planta e o mais alto fator de reprodução (12,98), como já foi citado. A análise da presença de massa de ovos nas plantas receptoras, não apresentou diferença significativa ao nível de 5 % de probabilidade em nenhum dos tratamentos. Para este parâmetro, devemos salientar que, a quantificação da presença de massa de ovos sob microscópio estereoscópico, são apenas as massas de ovos visíveis (externas as raízes), desta forma, essa quantificação depende da posição que a fêmea de *M. incognita* encontra-se nas galhas. Então, fêmeas que estão posicionadas na região mais central das raízes, tendem a excretar sua massa de ovos dentro das galhas, desta maneira, estes acabam não sendo quantificados.

O ato de penetrar nas raízes das plantas não garante aos nematoides um sucesso no estabelecimento e reprodução, pois ainda existem interações bioquímicas moleculares que respondem de maneira específica e ainda não totalmente esclarecida

sobre a planta e o parasita. Simeone e Di Vito (1992) realizaram estudos em raízes de duas variedades de pessegueiros (*Prunus persica*), as variedades Nemaguard e GF – 677 (respectivamente, resistente e susceptível a espécies de *Meloidogyne*) e verificaram que os nematoides penetraram da mesma forma tanto nas plantas resistentes, quanto nas plantas susceptíveis, porém, a resposta a esta invasão foi diferente. Nas raízes dos pessegueiros resistentes observaram-se poucas fêmeas e vários juvenis do nematoide, e não ocorreu formação de galhas, porém, as plantas susceptíveis apresentaram grandes quantidades de galhas.

Este resultado nos ajuda a compreender as respostas obtidas para o número de galhas dos tratamentos que não apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), entretanto, verificamos tamanhos de galhas diferentes em função dos tratamentos aplicados às parcelas. Observamos neste trabalho que os nematoides foram capazes de penetrar nas raízes de todas as parcelas, porém, inferimos que os diferentes tamanhos das galhas devem-se a manifestação da defesa da planta que foi diferente para cada tratamento. Em plantas que apresentam alguma resistência ao *M. incognita* mesmo que parcial, o desenvolvimento das galhas é mais lento e as células gigantes pode não se formar ou se formar defeituosa, contribuindo desta forma para o desenvolvimento de um nematoide adulto (fêmea) com baixa produção de ovos (TAYLOR; SASSER, 1983).

Entendemos que a possível sinalização que ocorreu nos tratamento T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-) devido ao FMA, não tornou os tomateiros desses tratamentos em plantas resistentes, porém, é inquestionável que houve uma supressão bastante significativa no nível de susceptibilidade do tomateiro ao *M. incognita* raça 2 quando comparado aos demais tratamentos, principalmente o T4 (EM-RM-). Este fato pode ser confirmado observando os parâmetros de desenvolvimento da planta (item 4.2.1) e a avaliação da atividade do nematoide no sistema radicular (item 4.2.3).

Song *et al.* (2010) realizaram experimento com intuito de verificar a sinalização em tomateiros submetido ao ataque de *Alternaria solani*, onde existiam plantas doadoras (com e sem micorríza) e receptoras (com e sem micorríza) de sinal. Os autores verificaram por análise da atividade de seis enzimas relacionadas ao mecanismo de defesa da planta (peroxidase, polifenoloxidase, lipoxigenase, quitinase e glucanase) que os tratamentos com plantas micorrizadas apresentaram maior atividade enzimática e menor índice de severidade a doença, quando comparadas àquelas plantas que não receberam micorríza. Arias *et al.* (2009) citam em seu trabalho a atividade destas mesmas enzimas desencadeada pelo parasitismo provocado por nematoides em

tomateiro. De acordo com Zinoveva *et al.* (2004) o sistema enzimático pode atuar isoladamente ou em conjunto possibilitando que as células vegetais construam suas defesas químicas ou estruturais contra os fitonematoides.

Desse modo, corroboramos com Anjos *et al.* (2010) ao informar que os fungos micorrízicos são capazes de promover o mecanismo de defesa das plantas para reagir contra os patógenos. Porém, o acionamento do mecanismo de defesa ocorreu pela sinalização prévia enviada por plantas emissoras com micorriza sob infestação do nematoide, e transferido para plantas sadias conectadas a elas via micélio do FMA. As plantas por sua vez, já com o mecanismo de defesa ativo, foram menos susceptíveis ao parasitismo provocado pelo *M. incognita*. Essa menor susceptibilidade foi verificada numa parte aérea mais bem desenvolvida e num sistema radicular com menor atividade reprodutiva do nematoide, como verificamos nos tratamentos T1 (EM+RM+) e T2 (EM+RM-).

Estudos relacionados a atividade enzimática de defesa e ao mecanismo de sinalização permanecem ainda extremamente carente na relação FMA-planta hospedeira. No entanto, tanto este, quanto outros trabalhos (SIMARD; DURALL *et al.*, 2004; SONG *et al.*, 2010; TAVARES, 2011) apontam vários indícios relacionados ao aumento do nível de defesa vegetal devido a presença dos fungos micorrízicos, possivelmente, funcionando como um “canal” de troca de compostos que funcionam como sinalizadores entre plantas. Essas respostas porém, poderão ser adquiridas com futuros trabalhos na área biológica que venham a abranger tanto a fisiologia quanto a bioquímica no trinômio planta-FMA-patógeno.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o presente experimento proporcionaram as seguintes conclusões:

1 – As plantas emissoras inoculadas com micorrizas foram mais susceptíveis ao parasitismo por *M. incognita* raça 2.

2 - As plantas receptoras que estiveram em contato com plantas emissoras micorrizadas no período de pré-condicionamento apresentaram melhor crescimento e redução na infectividade do *M. incognita*;

3 – A micorrização de tomateiros foi efetiva na sinalização e redução da infectividade do nematoide.

4 – Estudos mais detalhados devem ser realizados com intuito de elucidar o mecanismo de sinalização e resposta provocada pelo FMA nas plantas hospedeiras, principalmente, com relação a análises de atividade enzimática atribuída ao mecanismo de defesa da planta.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, L. K.; ROBSON, A.D.; SCHELTEMA, M. A. Managing soils to enhance mycorrhizal benefits in mediterranean agriculture. **Critical Reviews in Biotechnol**, v. 15, n. 3-4, p. 213–228, 1995.
- AFEK, U. *et al.* Mycorrhizal inoculum influence colonization of cotton, onion and pepper seedlings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 6, p. 938-942, 1990.
- AGRAWAL, A.A. Communication between plants: this time it's real. **Trends in Ecology Evolution**, v.15, p. 446, 2000.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 3.ed. New York: Academic Press, 1988. 803p.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5. ed. California: Elsevier Academic Press, 2005. 907p.
- ALEJO, J. C. *et al.* *Glomus intraradices* para el control de *meloidogyne incognita* (kofoid & white) Chitwood en condiciones protegidas. **Fitosanidad**, v. 14, n. 1, 2010.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. 1ª edição. Lavras: Editora UFLA, 2004, p.15-16.
- ANDERSEN, P. C. *et al.* Carbon and nitrogen budgets in spring and fall tomato crops. **HortScience**, v. 34, n. 3, p. 648-652, 1999.
- ANJOS, E. C. T. *et al.* **Interactions between an Arbuscular Mycorrhizal Fungus (*Scutellospora heterogama*) and the Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) on Sweet Passion Fruit (*Passiflora alata*)**. Brazilian Archives of Biology and Technology. v.53 n. 4, p. 801 – 809, 2010
- ARIAS, Y.; *et al.* Aspectos generales de la interacción tomate (*Solanum lycopersicon* L.) - *Meloidogyne incognita*. **Revista Protección Vegetal**. v. 24, n. 1, p. 01 – 13, 2009.
- ARIMURA, G. *et al.* Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. **Nature**. v. 406, p. 512–515, 2000.
- BARBARA, D. **Aromas e sabores da boa lembrança – Tomate**. 3º ed. Editora Senac Rio. Rio de Janeiro, 2005. 148p.
- BRUNDRETT, M. C.; JUNIPER, S. Non-destructive assessment of germination and single-spore isolation of VAM fungi. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 27, p. 85 – 91, 1995.
- CAMPOS, V. P.; SOUZA, J. T.; SOUZA, R. M. Controle de fitonematóides por meio de bactérias. **Revisão Anual de Patologia de Planta**. p. 285 – 327, 1988.

- CARVALHO, J. L.; PAGLIUCA, L. G. Tomate, um mercado que não pára de crescer globalmente. **Revista Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 6, n. 58, p. 6-14, jun. 2007.
- CAVALCANTE, U.M.T.; GOTO, B. T.; MAIA, L.C. **Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular**. In: MOURA, R. M. ; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R (Eds). Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica. Recife:UFPE, Imprensa Universitária, v.5 e 6, 2009.
- CHARCHAR, J.M.; ARAGÃO, F. A. S. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. **Nematologia brasileira**, v. 29, n. 2, p. 243 – 249, 2005.
- CHARCHAR, J.M.; LOPES, C.A. **Nematoides**. In: LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. Doenças do tomateiro. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA Hortaliças, Brasília, DF, 2005. p. 97-100.
- COFCEWICZ, E. T. *et al.* Interação dos fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e o nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia brasileira**, v. 26, n. 1, p. 65 – 70, 2001.
- COLOZZI FILHO, A.; NOGUEIRA, M. A. **Micorrizas arbusculares em plantas tropicais: café, mandioca e cana-de-açúcar**. In: Silveira, A.P.D.; Freitas, S.S.. (Org.). Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental. Campinas: Instituto Agronômico, 2007, p. 38-56.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77p.
- CORDEIRO, M. A. S. *et al.* Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v.35, n.3, p.147-153, 2005.
- DIEDHIOU, P. M. *et al.* Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. **Mycorrhiza**, v. 13, p. 199 – 204, 2003.
- DOLCH, R.; TSCHARNTKE, T. Defoliation of alders (*Alnus glutinosa*) affects herbivory by leaf beetles on undamaged neighbours. **Oecologia**, 125: 504–511, 2000.
- EMBRAPA. **Cultivo de Tomate para Industrialização**. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/> : Acesso em 02 de fevereiro de 2013.
- FAYAD, J.A. *et al.* Absorção de nutrientes pelo tomateiro cultivado sob condições de campo e de ambiente protegido. **Horticultura brasileira**, v. 20, n. 1, p. 90-94, 2002.
- FAO. **Top production – Tomatoes**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. **Nematóides**. In: Bergamin Filho, A.; Kimat, H.; Amorim, L. Manual de fitopatologia. v. 1, 1995, p. 168 – 201.

FERRAZ, L. C. C. B. **As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro**. In: Silva, J. F. V. Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja. Embrapa soja, Londrina-PR, p. 15 – 34, 2001.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**. v. 43, n.1, p.61-68, 1997.

FROST, C.; MESCHER, M. C.; CARLSON, J. E.; DE MORAES, C. M. Why do distance limitations exist on plant-plant signaling via airborne volatiles? **Plant Signaling & Behavior**. v. 3, n. 7, p. 466 - 468, 2008.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. **Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting**. Transaction Britannic Mycological Society, v.46, n. 1, p.235-244, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. Na evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p. 489-500. 1980.

HUSSEY, R. S.; ROCADORI, R. W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. **Plant Disease Reporter**. v. 57, p. 1025 – 1028, 1982.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 32 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia. **Levantamento sistêmico da produção agrícola**. Rio de Janeiro v.25 n.02 p.1-88, 2012.

ISLA. **Isla Sementes**. Disponível em: www.isla.com.br, Acesso em: 20 de agosto de 2012.

JABLONSKA, B. A. *et al.* The Mi-9 Gene from *Solanum arcanum* Conferring Heat-Stable Resistance to Root-Knot Nematodes Is a Homolog of Mi-1. **Plant Physiology**, v. 143, n. 2, p.1044-1054, 2007.

KARBAN, R. *et al.* Damage-induced resistance in sagebrush: volatiles are key to intra- and interplant communication. **Ecology**, v. 87, p. 922–930, 2006.

LOPES, C. A.; AVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. 2º ed. Embrapa hortaliças. Brasília, 2005. 151p.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. São Paulo: Nobel. 1984. 314p.

LORENZ, O. A.; TYLER, K. B. **Plant tissue analysis of vegetable crops**. California. University of California, 1983

MALAVOLTA, E. *et al.* **Avaliação do estado nutricional das plantas - princípios e aplicações**. Piracicaba: Patafós, 1997.

MAIA, L. C.; SILVEIRA, N. S. S.; CAVALCANTE, U. M. T. **Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e patógenos radiculares**. In: MICHEREFF, S. J. (Org.). *Ecologia e Manejo de patógenos em solos tropicais*. 1. ed. Recife: UFRPE, 2005. p. 183-205.

MEDEIROS, C. A. B.; CLARK, R. B.; ELLIS, J. R. Growth and nutrient uptake of sorghum cultivated with vesicular-arbuscular mycorrhiza isolate at varying pH. **Mycorrhiza**. v. 4, p. 185 – 191, 1994.

MENDES FILHO, P. F. **Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada, através de revegetação e do manejo microbiano**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2004. (Tese de Doutorado).

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2º Ed. Editora UFLA: Lavras, 2006. 729 p.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e meloidoginose. Parte I. **Revisão anual de patologia de plantas**. v. 4, p. 209 – 244, 1996.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**. London, v. 55, p. 158-161, 1970.

PUIATTI, M. *et al.* **Fisiologia do desenvolvimento do tomateiro**. In: Tomate. Vitória – ES, p. 85 – 119, 2010.

RESENDE, G. M.; COSTA, N. D. Produtividade de cultivares de tomate industrial do Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 126-129, 2000.

SALEH, H.; SIKORA, R. A. Relationship Between Glomus Fascicula Tum Root Colonization of Cotton and its effect on *Meloidogyne Incognita*. **Nematologica**. v. 30, p. 230 – 237, 1984.

SAMPAIO, D. B. *et al.* Colonização micorrízica arbuscular e tolerância ao mal-do-panama em mudas de bananeira-maçã. **Revista Ciência Agronômica**. v. 43, n. 3, p. 462-469, 2012.

SANTOS, C. D. G.; CARVALHO, S. L. F.; SILVA, M. C. L. Solarização do solo em sacos plásticos para o controle dos nematóides das galhas, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.3, p. 350-356, 2006.

SCHENCK, N.C., KINLOCH, R.A.; DICKSON, D.W. **Interaction of endomycorrhizal fungi and root-knot nematode on soybean**. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B.; TINKER, P.B. (Eds.) *Endomycorrhizas*. London. Academic Press. 1975. p.605-617

SILVA JUNIOR, J. P.; CARDOSO, E. J. B. N. Micorriza arbuscular em cupuaçu e pupunha cultivados em sistemas agroflorestal e em monocultivo na Amazônia Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p.819-825, 2006.

SILVA, R. A. et al. **Distribuição dinâmica populacional e danos provocados por *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniforme* e *Pratylenchus brachyurus* na cultura do algodoeiro no estado de Mato Grosso**. p. 10 – 17, 2004.

SILVA, S.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p.1749-1757, 2006.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002

SIMARD, S. W.; DURALL, D. M. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. **Canadian Journal of Botany**. v.82, p. 1140–1165, 2004.

SIMEONE, M.; DI VITO, M. Reactions to nematodes of selections of peach rootstock. **Acta Horticulturae**, v.315, p. 197 - 202, 1992.

SMITH, P.G. Embryo culture of tomato species hybrid. **American Society for Horticultural Science**, v. 44, p. 413-416, 1944

SONG, Y.Y. *et al.* Interplant Communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks. **Plos one**, v.5, e13324, 2010.

SORRIBAS, F. J. *et al.* Effectiveness and profitability of the Mi resistant tomatoes to control root-knot nematodes. **European Journal Plant Pathology**. v.111, p. 29-38, 2005

SOUSA, C. S. *et al.* Fungos micorrízicos arbusculares no controle de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 1, p. 15-20, 2010.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh. North Carolina State University Graphics. 1978. 111 p.

TAYLOR, D. P. Observations on a resistant and a susceptible variety of tomato in a field heavily infested with *Meloidogyne* in Senegal. **Cahiers O.R.S.T.O.M., Serie Biologie, nematologie**, v. 10, n. 3, p.239-245, 1975.

TAVARES, R. C. *et al.* Colonização micorrízica e nodulação radicular em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 3, p. 409-416, 2012.

TAVARES, R. C. **Funcionalidade de micorrizas arbusculares em cafezais agroecológicos**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2011. (Tese de Doutorado).

TEIXEIRA, L. M. S.; MOURA, R. M. Desenvolvimento larval pós-infecção de três raças de *Meloigogyne incógnita* (Nematoda: Heteroderidae) em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**. v. 9, p. 73 – 105, 1985.

VIERHEILIG, H. *et al.* Ink and vinegar, a simple technique for arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, n.12, p. 5004-5007, 1998.

ZINOVEVA, S. V.; VASYUKOVA, N. I.; OZERETSKOVSKAYA, O. L. Biochemical Aspects of Plant Interactions with Phytoparasitic Nematodes: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**. n. 40, p.111-119, 2004.