

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

**AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE
NEMATOIDES DAS GALHAS**

ANDRESSA DAYANE PEREIRA DA CONCEIÇÃO

PETROLINA, PE

2019

ANDRESSA DAYANE PEREIRA DA CONCEIÇÃO

**AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE
NEMATOIDES DAS GALHAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE *Campus*
Petrolina Zona Rural, exigido para a
obtenção de título de Engenheiro Agrônomo.

PETROLINA, PE

2019

C744

Conceição, Andressa Dayane Pereira da.

Ação de extratos vegetais no controle *in vitro* de nematóides das galhas / Andressa Dayane Pereira da Conceição. - 2019.

38 f.: il.; 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia)-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Petrolina, 2019.

Bibliografia: f. 29-38.

1. Fitopatologia. 2. Controle alternativo. 3. Extrato de alho. 4. Extrato de cravo da índia. I. Título.

CDD 581.2



SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO SERTÃO PERNAMBUCANO

FOLHA DE APROVAÇÃO

Andressa Dayane Pereira da Conceição

**AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE IN VITRO DE
NEMATOIDES DAS GALHAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo, pelo Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Sertão Pernambucano, Campus Petrolina Zona Rural.

Aprovado em: 05/ julho 2019

Banca Examinadora

Dra. Jéssica de Souza Lima (Coorientadora/Presidente)
IF Sertão-PE, Campus Petrolina Zona Rural

Dr. Fábio Nascimento de Jesus (2º Examinador)
IF Sertão-PE, Campus Petrolina Zona Rural

Me. Jorge Tsutomu Hassuike (3º Examinador)
QUALY FRUITS

RESUMO

CONCEIÇÃO, Andressa Dayane Pereira da. Instituto Federal do Sertão Pernambucano – Campus Petrolina Zona Rural, Julho de 2019. **Ação de extratos vegetais no controle *in vitro* de nematoides das galhas.** Orientadora: Dr^a. Jéssica de Souza Lima. Co-orientador: Dr. Fábio Nascimento de Jesus.

A aplicação de extratos vegetais surge como um método muito promissor no controle de fitonematóides, podendo representar a substituição de produtos químicos convencionais. Neste sentido, objetivou-se com esse trabalho avaliar a eficiência dos extratos vegetais hidroalcoólicos de alho (*A. sativum* L.) e cravo da índia (*S. aromaticum*) na eclosão, na imobilização e na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* spp. Os botões florais de cravo da índia e bulbilhos de alho foram coletados no comércio local de Petrolina, PE. Para ambos extratos foram utilizadas as concentrações de 7, 14, 28 e 35%. O tratamento testemunha constou de água destilada. Os ovos e eventuais juvenis (J2) foram extraídos das raízes de tomateiro e empregou-se a metodologia com modificações de Hussey e Barker (1973). Os ovos ou juvenis (J2) foram incubados em BOD (25°C) em tubos do tipo Eppendorf® nos extratos e avaliadas as porcentagens de eclosão, mobilidade e mortalidade dos J2. Os juvenis foram incubados por 24 horas e os ovos por 10 dias. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os valores obtidos foram submetidos à análise de regressão ($p > 0,05$). Os extratos vegetais reduziram a mobilidade de juvenis (J2) de *Meloidogyne* spp. As concentrações de 33,33% e 27,69% dos extratos de alho e cravo da índia foram efetivas na mortalidade de J2 de *Meloidogyne* spp. Todas as concentrações dos extratos de cravo e alho reduziram a eclosão de J2, mas a maior redução ocorreu na concentração de 25,26% e 25,75% para os extratos de alho e cravo da índia, respectivamente. Com a obtenção destes resultados, pode-se inferir que os extratos de alho e cravo da índia mostraram-se promissores para o controle de nematoides das galhas e apontam para a necessidade de estudos mais abrangentes visando verificar a eficiência e estratégias de aplicação em condições de campo.

Palavras-chave: *Allium sativum*, controle alternativo, *Meloidogyne*, *Syzygium aromaticum*

Dedico este trabalho aos meus pais, **Josilia Pereira da Luz e José Carlos Xavier da Conceição**, ao meu marido **Magno da Silva** e meus irmãos, **Daniela e Deivid**.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida.

Aos meus pais pelo apoio.

Ao meu marido pelo amor, carinho, cuidado, pelos momentos felizes e difíceis, por toda paciência e ser minha companhia nas noitadas no Instituto, devido às análises do experimento.

Ao **Instituto Federal do Sertão Pernambucano – Zona Rural** e ao **Centro Vocacional Tecnológico em Agroecologia (CVT)** pela oportunidade de cursar a graduação e fornecer as condições necessárias para a execução do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC).

A minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Jéssica de Souza Lima** e meu co-orientador **Prof^o Dr. Fábio Nascimento de Jesus**, por manter a porta da sala sempre aberta, pela orientação, pelo apoio, sugestões, esclarecimentos, atenção e compreensão, minha eterna gratidão e admiração.

Aos meus amigos, **Ipojucan dos Santos Miranda, Janiclecia Lima, João Batista Coelho Bagagim, Márcia Vieira e Micaele Araújo**, pela amizade acadêmica, por todo apoio, colaboração e companheirismo.

Aos professores **Silver Jonas Alves Farfan e Júlio Cesar Sobreira Ferreira** por terem me dado à primeira oportunidade de desenvolver pesquisa na área de Nematologia.

Ao professor **Marlon Gomes da Rocha** por ter me dado apoio para o desenvolvimento dos testes in vitro no CVT.

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível”.

(Charles Chaplin)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1A: Filtrado de cravo da índia	19
Figura 1B: Filtrado de alho concentrado em rotaevaporador a 40°C, no laboratório de química do IF Sertão-PE	19
Figura 2: Ovos de <i>Meloidogyne</i> spp. visualizados em microscópio óptico, com aumento de 40x	21
Figura 3: Efeito do extrato de alho (<i>A. sativum</i> L.) e cravo da índia (<i>S. aromaticum</i> L.) sobre a imobilidade de nematoides juvenis estágio J2 de <i>Meloidogyne</i> spp.	22
Figura 4: Efeito do extrato de alho (<i>A. sativum</i> L.) e cravo da índia (<i>S. aromaticum</i> L.) sobre a mortalidade de nematoides juvenis no estágio J2 de <i>Meloidogyne</i> spp.	23
Figura 5: Efeito do extrato de alho (<i>A. sativum</i> L.) e cravo da índia (<i>S. aromaticum</i> L.) sobre a eclosão de juvenis (J2) de <i>Meloidogyne</i> spp.	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CVT – Centro Vocacional Tecnológico

J2 – Juvenis de segundo estágio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
3 OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo Geral	17
3.2 Objetivos específicos	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Preparo dos extratos.....	18
4.2 Obtenção de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne</i> spp.....	19
4.3 Mortalidade de juvenis estágio (J2) de <i>Meloidogyne</i> spp. em extratos vegetais	20
4.4 Avaliação da eclosão de J2 de <i>Meloidogyne</i> spp. em extratos vegetais.....	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6 CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

No Submédio do Vale do São Francisco, nas cidades de Petrolina (PE), Juazeiro e Casa Nova (BA), anualmente, são produzidos 43,8 milhões de toneladas de frutas (Consul Agrícola, 2018). Somente as culturas de manga e uva são responsáveis por 96% e 99,9% das exportações do País, respectivamente.

Outras culturas também são desenvolvidas na região como a goiaba, coco verde, melão, melancia, acerola, maracujá, banana e outras frutas (Consul Agrícola, 2018). Porém, ainda são relatadas perdas de produção devido ao ataque de fitopatógenos, principalmente os fitonematóides.

A Região do Submédio do São Francisco apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento e sobrevivência dos nematoides. Os nematoides sobrevivem melhor em regiões com temperatura de solo acima de 28 °C (Embrapa, 2006). *M. incognita* e *M. javanica* são cosmopolitas e bem adaptados às diferentes condições climáticas brasileiras. Para o *M. javanica* a temperatura ideal do solo está na faixa de 29 a 31°C (Inomoto e Asmus, 2009).

Existem nesta Região diversas espécies de frutíferas que têm sofrido grandes prejuízos devido ao ataque de nematoides das galhas (Castro et al., 2017). Na aceroleira, causam amarelecimento, nanismo, queda de produção e até mesmo a morte do hospedeiro (Ritzinger et al. 2006). Na cultura da goiabeira, o *M. enterolobii* tem sido associado à murchas, desfolhas e redução do tamanho e número de frutos (Arieira et. al, 2008). Na cultura da videira, doenças causadas por fitonematóides, principalmente do gênero *Meloidogyne* afetam seriamente a planta (Naves, 2005).

Os fitonematóides do gênero *Meloidogyne* também são relatados em hortaliças, como em cenouras, beterraba, batata doce, pimentão, tomate. Vale destacar, que para a maioria das hortaliças cultivadas não existe registros de produtos nematicidas o que dificulta e aumenta de maneira expressiva o uso indiscriminado de produtos químicos (Pinheiro, 2017).

O manejo de áreas infestadas com nematoides, geralmente, é realizado com base em alguns métodos de controle. Estes incluem o controle preventivo, controle químico, com o uso de nematicidas; o controle cultural por meio da rotação de

culturas resistentes; e o genético, utilizando cultivares ou porta-enxertos resistentes (Castro et al., 2017).

Os nematicidas são prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, além de apresentarem custo elevado (Nico et al., 2004). Assim, a busca de novas estratégias de manejo de fitonematoides devem ser continuamente pesquisadas, a exemplo do uso de extratos de plantas. Diversos produtos à base de diferentes espécies vegetais, com propriedades nematicidas ou nematostáticas, têm-se mostrado promissores para utilização na prática (Martins e Santos, 2016).

Alguns trabalhos mostraram que o composto eugenol extraído do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) apresenta atividade nematicida. O composto eugenol, altera os sistemas vitais dos juvenis (J2), afetando a multiplicação celular e as fases de desenvolvimento embrionário, multiplicação celular, troca de cutícula e saída do ovo paralisando a eclosão (Moreira et al., 2013; Salgado e Campos, 2003).

O ácido alil mercaptano disulfide um ácido carboxílico não aromático é produzido pelo alho (*Allium sativum* L.) apresenta efeito nematicida contra *M. javanica* (Calvet et al., 2001).

Pelo exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito *in vitro* de extratos vegetais hidroalcoólicos na eclosão e mortalidade de juvenis de *Meloidogyne* spp.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Nas culturas tropicais e subtropicais os fitonematóides causam perdas estimadas em 14,6% da produção total, causando prejuízos econômicos em torno de US \$ 173 bilhões anualmente no mundo, e conseqüentemente causando impacto significativo na alimentação da população mundial (Eling, 2013; Nico et al., 2011). No Brasil, de acordo com Machado (2015) as perdas por nematoides na agricultura giram em torno de R\$ 35 bilhões.

Os nematoides em geral, são seres de corpos filiformes, de diâmetro constante, afilando-se de maneira gradual nas extremidades. Os nematoides apresentam dimorfismo sexual. As fêmeas possuem maior variação, são globosas, com formato de pera, piriforme (Ruppert et al., 2005; Oliveira, 2001). As fêmeas são brancacentas, brilhantes, globosas, providas de um pescoço comprido.

O tamanho dos nematoides varia de menos de 0,5 mm a mais de 2 mm (Brass et al., 2008). Os nematoides possuem sistema digestivo completo e sistema nervoso, estilete fino e com nódulos, cutícula que reveste a sua superfície e possuem sistema circulatório e respiratório ausentes (Seixas, 2016).

Os fitonematóides são parasitas que afetam mundialmente as culturas e o principal gênero dentre os nematoides mais prejudiciais à agricultura é o *Meloidogyne* spp. (Jones et al., 2013), devido a sua ampla distribuição mundial e polifagia (Bruinsma; Antonioli, 2015). As espécies do gênero *Meloidogyne* tem a capacidade de parasitar mais de 5500 espécies de plantas (Blok et al., 2008; Djain-Caporalino et al. 2012). Atualmente, estão descritas na literatura mais de 100 espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne* (Seid et al., 2015) parasitando mais de 2000 culturas (Moreira et al., 2018). No Brasil 100 espécies de nematoides já foram registradas parasitando 600 espécies de plantas (Fragoso, 2007).

Os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários obrigatórios que estabelecem um sítio de alimentação ao penetrarem nas raízes das plantas, provocando a hipertrofia e hiperplasia ao redor deste sítio.

Ocasionalmente a formação das galhas nas raízes devido à penetração e infecção (Pinheiro et al., 2012).

O ataque pelos fitonematóides interfere na absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular, prejudicando o crescimento da planta. Os sintomas secundários presentes após a infecção dos nematoides das galhas são na parte aérea da planta como clorose e amarelamento das folhas, deficiência nutricional, murcha nas horas mais quentes do dia, redução do porte da planta, prolongamento do estágio vegetativo, queda da produção, diminuição do tamanho e peso dos frutos (Embrapa, 2004). Os sintomas se apresentam em reboleiras.

A maior parte das espécies do gênero *Meloidogyne* estudadas são: *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* (Elling, 2013), as quais causam a maior parte dos danos às culturas (Moens et al., 2009). Recentemente, *M. enterolobii*, *M. minor* e *M. floridensis* tem ganhado destaque devido às grandes perdas culturais em todo o mundo (Carneiro et al., 2011; Morris et al., 2011; Brito et al., 2015).

O ciclo de vida das espécies de *Meloidogyne* compreende três fases e seis estádios fenológicos: ovo, juvenis (J1, J2, J3 e J4) e adulto (Ferraz; Brown, 2016). Ocorre a ecdise na passagem de cada estágio fenológico (Niblack et al., 2006; Turner & Rowe, 2006). A primeira ecdise ocorre no interior do ovo. Após a primeira ecdise o juvenil de 2º estágio eclode do ovo e vai para o solo ou penetra diretamente em uma raiz. Apenas o juvenil de 2º estágio é a forma infectante do *Meloidogyne*, pois é nessa fase em que o mesmo se movimenta na solução de solo e vão para as raízes das plantas hospedeiras (Pinheiro et al., 2012).

O ciclo de vida do nematoide formador de galhas tem duração de 21 a 28 dias (Ferraz e Brown, 2016). No estágio J4, em condições adversas, como: superpopulação, escassez de alimento e temperaturas extremas, ocorre reversão sexual (Chitwood; Perry, 2009) e parte dos juvenis fêmeas irão se transformar em machos e sair das raízes (Elling, 2013). As fêmeas produzem em média 500 ovos, envoltos em uma matriz gelatinosa (Calderón-Urrea et al., 2016; Warmerdam et al., 2018).

A espécie *M. enterolobii* vem causando danos à produção da goiabeira e inviabilizando várias áreas de cultivo desta frutífera no Submédio do Vale do São Francisco (Castro et al., 2017). Torres et al., (2004) constataram que cerca de 70% das goiabeiras da região do Vale do São Francisco já morreram devido ao ataque do nematoide. A disseminação desse nematoide nessa região também foi favorecida pelo uso comunitário de tratores e implementos contaminados com solo infestado, de mudas contaminadas (Castro et al., 2011), além da disseminação provocada pela enchente decorrente da precipitação pluviométrica em 2004.

As videiras também têm perdas devido ao ataque de nematoides das galhas, perdas anuais, são estimadas em 12,5%, entretanto a redução na produção pode chegar a 20% (Sasser, 1989; Raski e Krusberg, 1984), o que caracteriza estes fitopatógenos como um fator limitante à cultura (Naves, 2005). O gênero *Meloidogyne* é considerado um dos mais importantes causadores de danos em videiras (Somavilla, 2011).

Em Petrolina, no Serrote do Urubu encontraram-se videiras da cultivar Festival com porta-enxerto 'IAC 766-Campinas' infestada por *Meloidogyne incognita*. As plantas se apresentavam com parte aérea pouco desenvolvida, com menor número de folhas e folhagem mais esparsa, distribuída em reboleiras (Somavilla e Quecini, 2012).

Vale destacar, também, que os maiores problemas em hortaliças folhosas, geralmente, ocorrem como consequência da infestação pelo nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), em especial *M. incognita* e *M. javanica*, que são as espécies com maior distribuição nas regiões produtoras.

Em virtude de prejuízos causados pelas infestações de nematoides, nos últimos anos, diferentes métodos de controle têm sido pesquisados, de acordo com Castro et al., (2017) o controle de fitonematoides deve ser bem planejado com a integração de vários métodos e apresentar baixo custo, sendo recomendados, com frequência, métodos culturais como rotação de cultura, alqueive, pousio, revolvimento do solo com irrigação subsequente, a inundação, ressecamento, o aquecimento solo; uso de genótipos resistentes e o controle químico e biológico (Almeida et al., 2005).

Araújo e Marchesi (2009) avaliou o efeito de *Bacillus subtilis* como promotor de crescimento e agente supressor de *Meloidogyne* spp. no cultivo de tomateiro. O tratamento com *B. subtilis* foi comparado com o controle químico, o nematicida Carbofuran. O tratamento com a bactéria proporcionou maior crescimento de parte aérea, redução no número de juvenis e redução no desenvolvimento de massas de ovos na raiz.

No manejo integrado de nematoide, o uso de cultivares resistentes é uma alternativa vantajosa e econômica, comparando ao emprego de nematicidas. Como por exemplo, espécies pertencentes à família Myrtaceae, com resistência a *M. enterolobii*, possibilitariam seu uso como porta-enxerto para as variedades comerciais de goiabeira (Souza, 2014). Somavilla e Quecini (2012) avaliou os porta-enxertos tropicais de videira 'IAC 313-Tropical' e 'IAC 572-Jales' resistentes a *M. arenaria* e *M. incognita*.

Dentre os métodos de controle, o químico ainda é uma das ferramentas importantes para o manejo de fitonematoides. No entanto, diversos autores não recomendam devido ao alto custo desses produtos, alta toxicidade, persistência no solo, amplo espectro de ação sobre organismos benéficos do solo entre outros (Santos, 2015; Ferraz e Santos, 1984). Portanto, têm-se estimulado a redução de uso de produtos químicos e a adoção de métodos de controle menos agressivos.

Neste sentido, métodos alternativos de controle passaram a ser adotados. Assim, a aplicação de extratos vegetais surge como um método muito promissor no controle de fitonematóides, podendo representar a substituição de produtos químicos convencionais e tornar-se uma medida alternativa de controle viável (Gardiano, 2006; Scramim et al., 1987). Princípios nematicidas de origem vegetal, na forma de substâncias como alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos e compostos fenólicos têm sido identificados em várias plantas (Gardiano, 2006).

A procura por produtos alternativos que sirvam como defensivos, e que ocasionem menos danos ao ambiente, sejam estes biológicos, orgânicos ou naturais, vem crescendo devido às seguintes características: baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, eficiência no combate aos insetos e aos microrganismos nocivos, não favorecendo a ocorrência de formas de resistência em pragas e patógenos, custo reduzido para aquisição e emprego, simplicidade quanto

ao manejo e aplicação e a alta disponibilidade para aquisição, pois o material pode ser adquirido dentro da própria propriedade agrícola. Os extratos vegetais é um dos produtos alternativos que tem dentre as vantagens, poderem ser produzidos pelos próprios agricultores e usados em cultivos orgânicos (Pascual-Vilalobos, 1996).

Os extratos vegetais podem ser preparados por diferentes metodologias para o controle de fitopatógenos, na literatura pode-se encontrar o uso de extratos aquosos, extratos etanólicos e extratos hidroalcoólicos. O uso de extratos hidroalcoólicos tem como vantagem a captura de todas as substâncias presentes no material vegetal, ou seja, as substâncias polares e apolares. Os óleos essenciais também são utilizados no controle de fitonematóides.

Neves et al., (2005a) estudaram a atividade de extrato aquoso de sementes de mamão sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* em testes realizados in vitro e constataram redução na eclosão de *M. javanica* em 95,3% e de *M. incognita* em 99,3 %. Em outro trabalho, Neves et al., (2005b) também estudaram o efeito nematostático e nematicida de sementes de mamão sobre *M. javanica* e *M. incognita* e relataram que houve 100 % de eficiência na morte de juvenis de ambas as espécies do nematoide, demonstrando que a semente de mamão pode ser eficiente opção de controle desses organismos.

Pedrosa et al. (2005) estudaram a supressividade de nematóides das espécies *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em cana-de-açúcar por adição de vinhaça ao solo e constataram que a vinhaça exerceu efeito sobre a eclosão, assim como redução da densidade de ovos e juvenis dos nematoides.

Mateus (2012) testou in vitro os extratos aquosos de gervão, mulungu, pau-amargo, picão e tansagem, nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 g L⁻¹ sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*, em que todos os extratos e doses testadas reduziram a eclosão, sendo que na maior dosagem foi onde houve a maior redução das eclosões. Os extratos aquosos de tansagem apresentaram os melhores resultados com até 100% de redução na porcentagem de eclosão para ambos os nematoides.

Mioranza et al. (2016) avaliou o potencial nematicida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita* nas concentrações de 1%,

5%, 10% e 15%. A concentração de 15% foi a que apresentou maior eficiência. Para a porcentagem de J2 mortos após 48 h de incubação, foi observada a porcentagem máxima de 93,06% de J2 mortos na concentração calculada de 14,66% de extrato de cúrcuma. Para o teste de eclosão todas as concentrações do extrato apresentou queda de porcentagem de J2 eclodidos conforme se aumentou as concentrações de extrato de cúrcuma. O valor calculado de 17,39% foi o valor mínimo de eclosão.

Sangi *et al.* (2018) avaliou o efeito de extratos aquosos de diferentes espécies do gênero *Piper* no controle de *M. incognita* em ensaios *in vitro* e *in vivo* em mudas de *Coffea canephora* e demonstrou sua eficiência como efeito nematicida em ambos os testes.

Neste sentido, é importante salientar que para avaliação da eficiência dos extratos vegetais no controle de nematoides é necessário à realização de ensaios *in vitro*, pois é um parâmetro a ser avaliado antes dos testes em campo, pois avalia as atividades dos extratos a ser testados e determina as concentrações eficientes dos mesmos para o controle dos fitonematóides. Além de reduzir custos e tempo para avaliação dos efeitos dos extratos vegetais no campo.

O controle de várias espécies de nematoides pode ser obtido pela incorporação ao solo de resíduos vegetais, como mucuna-preta, casca de uva, pó de semente de mamão e torta de nim (Nico *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2005; Cosmis *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2008).

Diante do exposto tem surgido a necessidade de pesquisas com novas formas de controle eficazes e menos agressivas. Neste sentido, o presente estudo investigou o potencial de diferentes extratos vegetais e suas concentrações para o controle de nematoides das galhas, sendo este fitopatógeno causador de prejuízos em diversas culturas na região do Submédio do Vale do São Francisco.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito *in vitro* de extratos vegetais de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e alho (*Allium sativum* L.) na eclosão, mobilidade e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp.

3.2 Objetivos específicos

- Elaborar extratos vegetais hidroalcoólicos de alho e cravo da Índia;
- Testar *in vitro* diferentes concentrações de extratos de alho e cravo da Índia na imobilidade e mortalidade de juvenis (J2) e identificar a concentração mais efetiva;
- Verificar a ação de extratos hidroalcoólicos de alho e cravo na eclosão de juvenis (J2) de *Meloidogyne* spp.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados em duas etapas. Na primeira etapa, foram elaborados os extratos vegetais no laboratório de química do Instituto Federal do Sertão Pernambucano *Campus* Petrolina Zona Rural (IF SERTÃO-PE). Na segunda etapa, foram realizados testes para verificar o efeito dos extratos vegetais na eclosão, imobilidade e mortalidade de juvenis no estágio J2 de *Meloidogyne* spp. no laboratório do Centro Vocacional Tecnológico em Agroecologia- CVT desta instituição.

4.1 Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos vegetais foram coletados no comércio local de Petrolina, Pernambuco: (1) botões florais de cravo da Índia (*S. aromaticum*) e (2) bulbilhos de alho (*A. sativum* L.). Os bulbilhos de alho descascados foram secos em estufa com circulação de ar por 72 horas a 45°C. O material vegetal de cada espécie foi, então, triturado, pesado 30 g e misturado em 500 mL de álcool etílico (96%) e 500 mL de água destilada por 72 horas em temperatura ambiente (26 °C ± 1°C). Após 72 horas, cada amostra foi filtrada em papel filtro e armazenada em frasco de vidro. O filtrado foi concentrado a baixa pressão, a 40°C, em evaporador rotativo (Figura 1A, 1B), até a evaporação total do solvente (Figura 1). Os extratos foram mantidos sob refrigeração até a sua utilização.



Figura 1 – A: Filtrado de cravo da índia; **B:** Filtrado de alho concentrado em rotaevaporador a 40°C, no laboratório de química do IF Sertão-PE.

4.2 Obtenção de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* spp.

Os ovos foram obtidos de raízes de tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) cultivar Santa Clara 5800, infectadas por nematoides das galhas, isoladas de raízes de quiabeiros encontradas na horta orgânica do Instituto Federal do Sertão Pernambucano *Campus* Petrolina Zona Rural, mantidas em casa de vegetação por 60 dias. As raízes com sintomas de galhas foram coletadas, lavadas em água corrente e imersas em solução de hipoclorito de sódio (0,5%). Feito isso, as raízes foram friccionadas com mãos para obtenção das massas de ovos. Essa suspensão foi vertida na peneira de 200 mesh acoplada à peneira de 500 mesh, e com auxílio de jatos de água da pisseta foi colocada em um béquer de acordo com a técnica de Hussey e Barker (1973).

Os juvenis de segundo estágio foram obtidos a partir da suspensão de ovos mantida em temperatura ambiente ($26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) por 6 dias. Logo após, realizou-se a contagem do número de juvenis (J2) com auxílio de câmara de Peters, em

microscópio óptico, no aumento de 40x. A suspensão de juvenis foi calibrada para 50/0,5 mL.

4.3 Mortalidade de juvenis estágio (J2) de *Meloidogyne* spp. em extratos vegetais

O efeito dos extratos vegetais de cravo da Índia e alho na mortalidade de juvenis (J2) foi avaliado em laboratório em tubos do tipo Eppendorf®. O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando os extratos cravo da Índia e alho nas concentrações de 14, 21, 28 e 35%, com quatro repetições por tratamento. No tratamento testemunha foi utilizada água destilada. Os tubos foram mantidos em BOD a 25°C. A avaliação foi realizada com 24 horas e 48 horas.

Exposição (24 horas): Os juvenis (J2) foram expostos a cada extrato e incubados por 24 horas. Após a incubação foi contabilizado a mobilidade dos juvenis (nematóides móveis e imóveis) com auxílio da câmara de Peters verificando o efeito nematostático dos extratos. Em seguida, a suspensão foi levada a peneira de 500 mesh para eliminação do extrato em água corrente e coletou-se 1 mL da suspensão que foi mantida em BOD a 25°C por 24 horas para posterior contagem.

Recuperação (48 horas): Após 24 horas de ressuspensão, os nematóides foram novamente quantificados na câmara de Peters, para avaliar o efeito nematocida dos extratos. Foram considerados mortos, os nematóides que com 48 horas após a incubação permaneceram imóveis.

4.4 Avaliação da eclosão de J2 de *Meloidogyne* spp. em extratos vegetais

O ensaio foi conduzido em tubos do tipo Eppendorf® e mantido em BOD a 25°C por 10 dias. Em cada Eppendorf® foram adicionados ovos de nematóides (Figura 2) e os extratos de cravo da Índia e alho nas concentrações de 14%, 21%, 28% e 35%. O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado com

quatro repetições por extrato. Pipetou-se 0,1 mL da suspensão contendo os ovos e 0,9 mL dos extratos.

As avaliações foram realizadas após montagem do ensaio (antes da incubação) e prosseguiu no 10º dia subsequente a incubação na BOD a 25°C, conforme metodologia com modificações de Lemes (2018). As contagens dos juvenis eclodidos e ovos remanescentes foi realizada em microscópio óptico (40X).

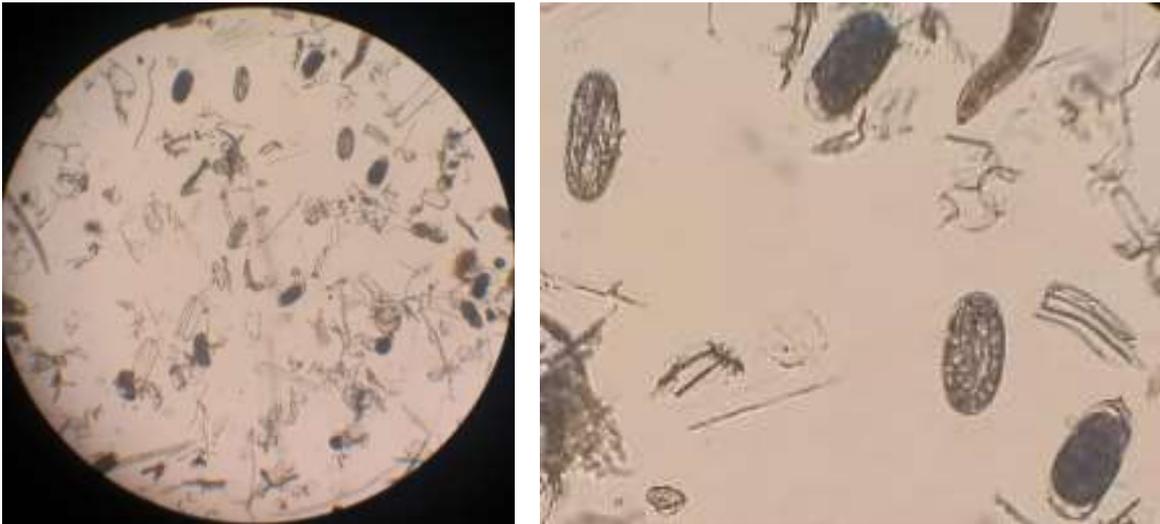


Figura 2 – Ovos de *Meloidogyne* spp. visualizados em microscópio óptico, com aumento de 40x.

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos nos ensaios foram submetidos à análise de variância pelo teste “F” e submetidos à análise de regressão ($p > 0,05$), utilizando o software estatístico SISVAR.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos quanto à porcentagem de imobilidade de juvenis (J2) de *Meloidogyne* spp., nas diferentes concentrações dos extratos hidroalcoólicos de cravo da Índia e alho, encontram-se na Figura 3. Verificou-se efeito quadrático das doses crescentes dos extratos de cravo da Índia e alho sobre a imobilidade dos juvenis (J2), sendo que a concentração de 14% dos extratos de cravo da Índia e alho reduziram a mobilidade de J2 (após 24h) em 88,48% e 87,40%, respectivamente. Além disso, as concentrações a partir de 21% provocaram 100% de imobilidade em juvenis após 24 h, indicando forte efeito nematostático dos extratos. Entretanto, na concentração de 35% dos extratos de alho e cravo da Índia houve decréscimo na mobilidade dos J2, com 94,2% e 99,44% para os respectivos extratos.

Parada e Guzmán (1997) estudando o efeito de diferentes extratos botânicos contra o nematoide *Meloidogyne incognita* em feijão (*Phaseolus vulgaris*) verificaram que o extrato de alho exerceu atividade nematostática *in vitro* sobre *M. incognita*, porém destacaram que a eficácia desse extrato depende em parte da dose utilizada e do tempo de exposição dos nematoides.

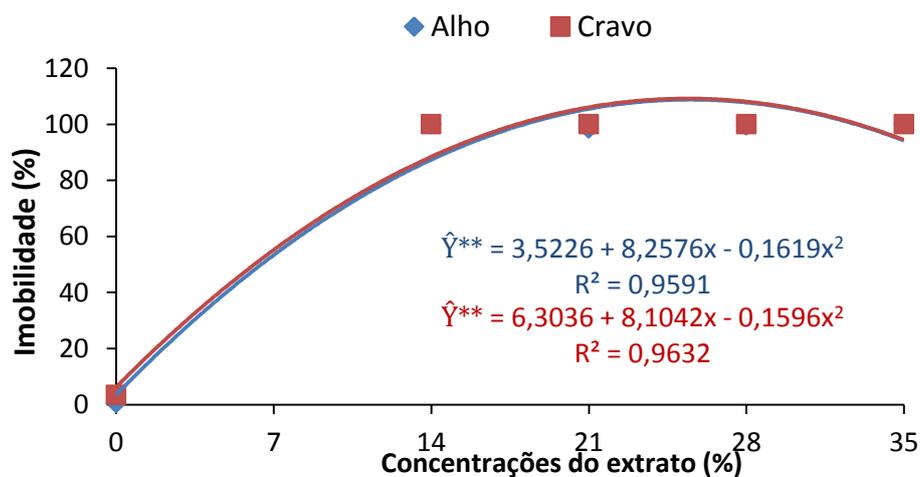


Figura 3 - Efeito do extrato de alho (*A. sativum* L.) e cravo da Índia (*S. aromaticum* L.) sobre a imobilidade de nematoides juvenis estágio J2 de *Meloidogyne* spp.

Observa-se na figura 4, que houve aumento da mortalidade de juvenis (J2) em função das crescentes concentrações dos extratos estudados com 100% da mortalidade na concentração de 35% para o extrato de alho e na concentração de 28% para o extrato de cravo da Índia, comportamento melhor ajustado pelo modelo quadrático de regressão. Sendo que na maior concentração (35%) do extrato de cravo da Índia houve uma redução na mortalidade de J2, o valor do percentual de juvenis mortos ainda se mostrou superior a 96%.

Alguns autores relataram que o composto eugenol extraído do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) como responsável pela atividade nematicida (Moreira et al., 2013; Salgado e Campos, 2003). No alho (*Allium sativum* L.), o alil mercaptano, é o composto que apresenta efeito nematicida (Calvet et al., 2001).

Outros estudos demonstraram o efeito nematicida do cravo da Índia, como exemplo o trabalho desenvolvido por Cruz (2013), que as doses 5 a 30 µl do óleo essencial de cravo da Índia causou a mortalidade de 100% dos juvenis J2 de *Meloidogyne enterolobii*. Neves (2008) observou que o extrato cetônico de alho (concentração 1000 ppm) mostrou efeito nematicida dos juvenis J2 de *M. javanica* com mortalidade superior a 60%. Coimbra et al., (2006) verificaram que o extrato de bulbilhos de alho também apresentou efeito nematicida ao nematoide *Scutellonema bradys* causando mortalidade de 63,8%.

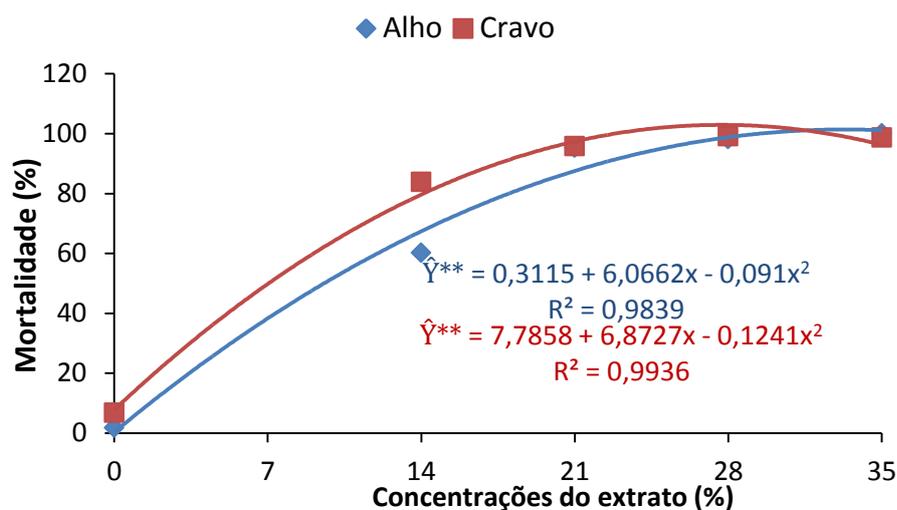


Figura 4 - Efeito do extrato de alho (*A. sativum* L.) e cravo da Índia (*S. aromaticum* L.) sobre a mortalidade de nematoides juvenis no estágio J2 de *Meloidogyne* spp.

As concentrações mais eficientes do extrato de alho estimadas pela otimização da função foram de 25,50% e 33,33% para imobilidade e mortalidade de juvenis (J2), respectivamente. As doses estimadas do extrato de cravo que proporcionou a máxima imobilidade e mortalidade foram de 25,39% e 27,69%, respectivamente.

O modelo quadrático foi o que apresentou o melhor ajuste para descrever a porcentagem de eclosão dos juvenis J2 em função das diferentes concentrações dos extratos utilizados (Figura 5).

Sendo possível determinar que a maior inibição encontrada para os extratos de cravo da Índia e alho foi alcançada a partir da concentração de 21%. Ainda, que, na maior concentração (35%) do extrato de alho e cravo da Índia houve um aumento na eclosão, o valor do percentual de inibição da eclosão ainda se mostrou superior a 90%.

Resultado contrário foi verificado por Neves et al., (2008) que não observaram efeito significativo do extrato de alho sobre a taxa de eclosão de juvenis (J2) de *Meloidogyne javanica* quando comparados com a testemunha. Salgado e Campos (2003) testaram diferentes extratos naturais e verificaram que o extrato aquoso do botão floral de cravo da Índia inibiu 100% a eclosão de *Meloidogyne exigua* quando exposto a concentração de 5% do extrato, em condições in vitro, por 15 dias. Porém, com 10 dias de exposição ao extrato, a menor concentração dos extratos testados não inibiu totalmente a eclosão de J2.

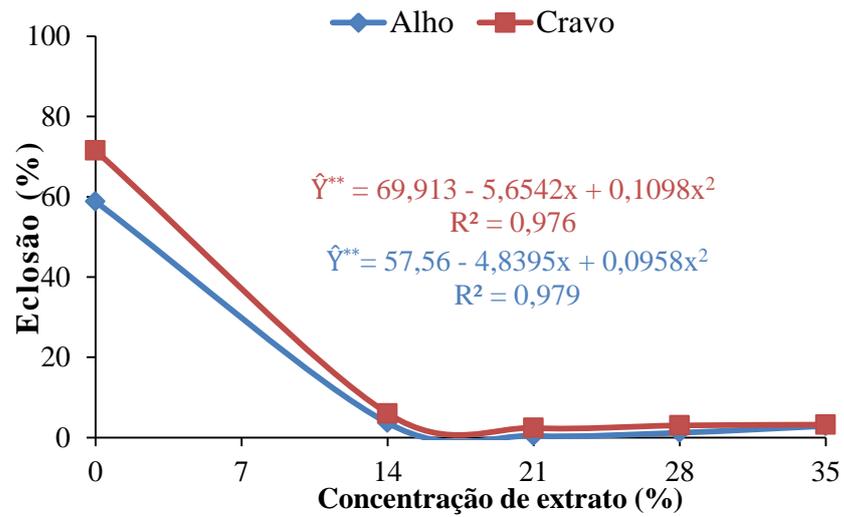


Figura 5 - Efeito do extrato de alho (*A. sativum* L.) e cravo da Índia (*S. aromaticum* L.) sobre a eclosão de juvenis (J2) de *Meloidogyne* spp.

As concentrações mais eficientes do extrato de alho e cravo da Índia estimadas pela otimização da função foram 25,26% e 25,75%, respectivamente.

6 CONCLUSÕES

- Os extratos de alho e cravo da índia apresentaram efeito nematostático e nematicida in vitro, por causarem alta redução da mobilidade e favorecer a mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2);
- As concentrações de 33,33% e 27,69% dos extratos de alho e cravo, respectivamente, foram efetivas na mortalidade de J2;
- Todas as concentrações dos extratos de alho e cravo reduziram a eclosão de J2;
- Os extratos de alho e cravo apresentam potencial de utilização para o controle de nematoides das galhas.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL – Anuário da Agricultura Brasileira. **Coco-da-baía**. São Paulo: FNP, 2016a. p. 271.

AGRIANUAL – Anuário da Agricultura Brasileira. **Coco-da-baía**. São Paulo: FNP, 2016b. p. 296

ALMEIDA, A. M. R. et al. **Doenças da soja**. In: Kimati, H. et al. Manual de fitopatologia. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 569-588.

ARAÚJO, F. F. de; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1558-1561, agosto, 2009.

ARAÚJO, F. F. de; BRAGANTE, R. J.; BRAGANTE C. E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 2, p. 220-224, abr./jun. 2012.

ARIEIRA, C. R. D.; MOLINA, R. DE O.; COSTA, A.T. Nematoides Causadores de Doenças em Frutíferas. **Agro@ambiente Online**, vol.2, no.1, jan/jun, Boa Vista, 2008.

BLOK, V.; JONES, J.; PHILLIPS, M.; TRUDGILL, D. Parasitism genes and host range disparities in biotrophic nematodes: the conundrum of polyphagy versus specialization. **BioEssays**, v.30, p. 249 – 259, 2008.

BRASS, F. E. B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E. Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes à cultura de café. **Revista Científica Eletrônica De Agronomia** – ISSN: 1677-0293, Ano VII – Número 14 – Dezembro de 2008 – Periódicos Semestral.

BRITO, J. A.; DICKSON, D. W.; KAUR, R.; VAU, S.; STANLEY, J. D. The peach root-knot nematode: *Meloidogyne floridensis*, and its potential impact for the peach industry in Florida. **Gainesville: Division of Plant Industry**, 2015. 7p. (Circular Técnica, 224)

BRUINSMA, J. S. S.; ANTONIOLLI, Z. I. Resistance of *Meloidogyne javanica* in soybean genotypes. **Nematoda**, Campos dos Goytacazes, v. 2, p. e032015, 2015.

BULLERMAN, L. B.; LIEU, F. Y.; SEIER, S. A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal of Food Science**. v. 42, p. 1107- 1109, 1977

CALDERÓN-URREA, A. et al. Early development of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **BMC Developmental Biology**, v. 16, n. 10, p. 1-14, 2016.

CALVET, C.; PINOCHET, J.; CAMPRUBÍ, A.; ESTAÚN, V.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Evaluation of natural chemical compounds against root-lesion and root-knot nematodes and side-effects on the infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi. **European Journal of Plant Pathology**. v. 107, p. 601-605, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 223-228. 2001.

CARNEIRO et al. Efeito de fungos nematófagos sobre a reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em goiaba (*Psidium guajava*). **Nematologia Brasileira**, v. 13, n. 6, p. 721-728. 2011.

CASTRO, J. M. C.; SIQUEIRA, T. A. S. Primeiro registro de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira no Estado de Alagoas. **Nematologia Brasileira**, v.34, p. 169-171, 2010.

CASTRO, J. M. C., SANTANA, T. A. S., SIQUEIRA, S. V. C., NOVAES, P. A. R., LIMA, R. G. 2011. Detecção de *Meloidogyne enterolobii* em mudas de goiabeira. In: **Congresso Brasileiro de Nematologia**, 29. Sociedade Brasileira de Nematologia, Brasília, Brasil. p. 238-239.

CASTRO, J. M. da C. **Manejo de nematoides nas culturas do coqueiro e da goiabeira: desafios e perspectivas**. Embrapa Semiárido, 2017.

CASTRO, J. M. da C. et al., Reprodução do nematoide-das-galhas da goiabeira em acessos de *Psidium*. **Comunicata Scientiae** 8(1): 149-154, 2017.

CHARCHAR, J. M.; VIEIRA, J. V.; OLIVEIRA, V. R.; MOITA, A. W. **Cultivo e incorporação de leguminosas, gramíneas e outras plantas no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 em cenoura 'Nantes'**. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba - SP, 2009.

CHITWOOD, D. J.; PERRY, R. N. Reproduction, physiology and biochemistry. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). *Root-knot Nematodes*. Wallingford: **CAB International**, 2009. p. 182-200.

COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. da S.; SOUSA, C. da S.; RIBEIRO, F. L. B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.7, p.1209-1211, julho 2006.

CONSUL AGRICOLA. **Fruticultura no Vale do São Francisco**. Disponível em: <<http://consulagricola.com.br/vale-do-sao-francisco-polo-produtor-de-fruticultura/>>. Acesso em: 06/06/2019.

CONSUL AGRICOLA. **Fruticultura no Vale do São Francisco**. Disponível em: <<http://consulagricola.com.br/vale-do-sao-francisco-e-o-3-maior-produtor-de-frutas-do-mundo/>>. Acesso em: 06/06/2019.

COSMIS, F. C.; MORAES, W.B.; SANTOS, MORES II, L. N. S.; ALVES, F. R.; JESUS JUNIOR, W. C. 2007. Avaliação de sementes de mamão no manejo de *Meloidogyne javanica* em plantas de tomate em casa de vegetação. In: **Congresso Brasileiro De Nematologia**, XXVII, Goiânia. Resumos, p. 63.

COSTA, Mauro Júnior Natalino. **Filtrados de culturas fúngicas e extratos de plantas e de esterco animais, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**. 2000. 70p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

CRUZ, Tatiane Paulino da. **Avaliação da atividade biológica de óleos essenciais sobre *Fusarium solani* e *Meloidogyne enterolobii***. 2013. 76 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2013.

DAR, R. N.; GARG L. C.; PATHAK, R. D. 1965. Anthelmintic activity of *Carica papaya* seeds. **Indian Journal of Pharmacy**, 27: 335-336.

DJAIN-CAPORALINO, C. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), a growing problem in French vegetable crops. **EPPO Bulletin**, 2012.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. **Phytopathology**, v. 103, n. 11, p. 1092-1102, 2013.

EMBRAPA. **Nematoides**. 2004. **Disponível em:** https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/arvore/AG01_37_41020068055.html. **Acesso em:** 07/06/2019.

EMBRAPA. **Doenças – Nematoides**. 2006. **Disponível em:** <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/doencas_nema.htm>. **Acesso em:** 07/06/2019.

FERRAZ, S.; SANTOS, J.M. 1984. Os problemas com nematoides na cultura da cenoura e da mandioquinha-salsa. **Informe Agropecuário** **10**(120):52-56.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251p.

FRAGOSO, R. R. et al. **Interação Molecular Planta-Nematóide**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007.

GARDIANO, Cristiane Gonçalves. **A atividade nematicida de extratos aquosos e tinturas vegetais sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949**. 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; CARVALHO, S. L.; FREITAS, L. G. Avaliação de extratos aquosos de espécies vegetais, aplicados via pulverização foliar, sobre *Meloidogyne javanica*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 376-377, 2008.

GOMMERS, F. J. Biochemical interactions between nematodes and plants their relevance to control. **Helminthological Abstracts**, Series B, Plant Nematology, v. 50, n. 01, 1981, p. 9-24.

GUPTA, R.; SHARMA, N. K. 1991. Nematicidal properties of garlic, *Allium sativum*. **Indian Journal Nematology**, 21: 14-18.

HUSSEY, R.S. & BARKER, R.K. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter** 57:1025-1028. 1973

IFSC. **Morfologia dos nematoides. Disponível em:**

<<https://docente.ifsc.edu.br/felipe.seixas/MaterialDidatico/Parasitologia/nematoides%202016.pdf>>. 2016. **Acesso em:** 06/06/2019.

INOMOTO, M. M.; ASMUS, G. L. Culturas de cobertura e de rotação devem ser plantas não hospedeiras de nematóides. **Visão agrícola**, nº9, julho/ dezembro 2009

JONES, J. T. et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.

KERMANSYAI, R. et al. 2001. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in *papaya* seed extracts. **Phytochemistry**, 57: 427-435.

KRISHNAKUMARI, M. K.; MAJUMDER, S.K. 1960. Studies on anthelmintic activities of seeds of *Carica papaya* Linn. **Annals of Biochemistry and Experimental Medicine**, 20: 551-556.

LAL, J. S. et al. 1976. *In vitro* anthelmintic action of some indigenous medicinal plants on *Ascaridia gali* worms. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, 20: 64-68.

LEMES, C. F. C. et al. Atividade nematicida de extratos de aveia spp. Sobre a eclosão in vitro de juvenis de *Meloidogyne javanica*. **The Official of São Paulo Plant Pathology Association**. Botucatu, v. 44, fevereiro 2018.

LOPES, E.A., S. FERRAZ, L.G. FREITAS, P.A. FERREIRA & D.X. AMORA. 2005. Efeito da incorporação da parte aérea de mucuna preta e de tomateiro sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, 29 (1): 101-104

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; FERREIRA, P.A. 2008. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). **Revista Trópica**, 1 (2): 17-21.

MACHADO, A.C.Z. 2015. **Ataques de nematoides custam R\$ 35 bilhões ao agronegócio brasileiro**. Revista Agrícola. **Disponível em:** <<http://www.ragricola.com.br/destaque/ataques-de-nematoides-custam-r-35-bilhoes-aoagronegocio-brasileiro>>. **Acesso em:** 10/06/2019.

MANTELIN, S.; BELLAFIORE, S.; KYNDT, T. *Meloidogyne graminicola*: a major threat to rice agriculture. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 1, p. 3-15, 2017.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.R. **Doenças do coqueiro**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (eds.). Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. v.2. São Paulo: Agronômica Ceres, 4a ed., p.268-281, 2005.

MARIN, M. V.; SANTOS, L. S.; GAION, L. A.; RABELO, H.; FRANCO, C. A.; DINIZ, G. M.; SILVA, E. H. C.; BRAZ, L. T. Selection of resistant rootstocks to *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* for okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, n. 1, p. 58-64, 2017.

MARTINS, M. DA C. B.; SANTOS, C. D. G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 135-142, 2016.

MATEUS, Milena Aparecida Ferrari. **Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de nematoides das galhas**. 2012. 59f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO-PR, 2012.

MAYTON, H.S., O. CLAUDIA, S.F. VAUGHN & R. LORIA. 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with *allyl isothiocyanate* production in macerated leaf tissue. **Phytopathology**, 86: 267-271.

MIORANZA, T. M.; et al. Potencial nematicida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita*. **Revista de Ciências Agroambientais**, v.14, n.1, p.104-109, 2016.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). Root-knot Nematodes. **Wallingford: CAB International**, 2009. p. 1-17.

MOREIRA, L. C. B.; VIEIRA, B. S.; MOTA JÚNIOR, C. V. DA; LOPES, E. A.; CANEDO, E. J. Ação nematicida do eugenol em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 3, p. 286-291, 2013. e-ISSN 1983-4063

MOREIRA, F. J. C.; ARAÚJO, B. A.; LOPES, F. G. N.; SOUSA, A. A. L.; SOUSA, A. E. C.; ANDRADE, L. B. S.; UCHOA, A. F. Assessment of the *Tephrosia toxicaria* essential oil on hatching and mortality of eggs and second-stage juveniles (J2) root-knot nematode (*Meloidogyne enterolobii* and *M. javanica*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 12, p. 1829-1836, 2018.

MORRIS, K. S.; HORGAN, F. G.; DOWNES, M. J.; GRIFFIN, C. T. The effect of temperature on hatch and activity of second-stage juveniles of the root-knot nematode, *Meloidogyne minor*, an emerging pest in north-west. **Europe Nematology**, v. 13, n. 8, p. 985-993, 2011.

NAVES, R. L. Diagnose e Manejo de Doenças Causadas por Fitonematóides na Cultura da Videira. EMBRAPA Uva e Vinho: Estação Experimental de Viticultura Tropical. **Circular Técnica 57**, Bento Gonçalves, 2005.

NEVES, W. S., COUTINHO, M. M.; ZOOCA, R. J. F.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.. 2005a. Inibição da eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* por extrato aquoso de sementes de mamão. **Fitopatologia Brasileira**, 32 (Suplemento).

NEVES, W. S.; COUTINHO, M. M.; DALLEMOLEGIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; FREITAS, L. G.; FABRY, C. F. S. 2005b. Atividade nematicida de extratos de semente de mamão sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, 32 (Suplemento).

NEVES, W. S; et al. Ação nematicida de óleo, extratos vegetais e de dois produtos à base de Capsaicina, Capsainóides e Alil Isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* (treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba – SP, v.32, p.93-100, 2008.

NIBLACK, T. L.; LAMBERT, K. N.; TYLKA, G. L. A model plant pathogen from the kingdom Animalia: Heterodera glycines, the soybean cyst nematode. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 283-303, 2006.

NICO, A. I.; R.M. J. D.; CASTILLO, P. Control of root-knot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 23, n. 7, p. 581-587, 2004

NICO, J. M.; et al. 2011. Current Nematode Threats to World Agriculture. In: **Genomics Mol. Genet. Plant-Nematode Interact**, p. 347–367.

NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v. 32, n. 3, p. 403-409, 2010

OLIVEIRA, C. M. G. Nematóides parasitos de plantas. In: IMENES, S. L. & ALEXANDRE, M.A.V. (Eds.). Pragas e doenças em plantas ornamentais. São Paulo: Instituto Biológico, 2001. p.38–47. CD-ROM (ISBN 85–88694-01-8).

PARADA, R. Y.; GUZMÁN, R. F. Evaluacion de extractos botanicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*). **Agronomia Mesoamericana**, 8 (1): 108-114, 1997.

PASCUAL-VILALOBOS, M. J. **Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigacion**. 1996. 35f. Monografia – Instituto Nacional de Investigación Agrária y Alimentaria, Madri.

PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; ALBUQUERQUE, P. H. S.; CUNHA, A. C. Supressividade de nematóides em cana-de-açúcar por adição de vinhaça ao solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.9, (Suplemento), p.197-201, 2005.

PINHEIRO, J. B.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R. B.; Ocorrência e controle de nematoides em hortaliças folhosas. **Circular técnica 89**. Embrapa hortaliças. Brasília, DF. 2010.

PINHEIRO, J. B.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R. B. **Nematoides em pimentas do gênero *Capsicum***. Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 104, Brasília – DF, outubro 2012.

PINHEIRO, J.B. 2017. **Nematoides em hortaliças**, Brasília, DF, Embrapa, 194p.

RASKI, D. J.; KRUSBERG, L. R. **Nematode parasites of grapes and other small fruits**. In: NICKLE, W. R. (Ed.). Plant and insect nematodes. New York: Marcel Dekker, 1984. cap.13, p.457-507.

RITZINGER, R.; NORONHA, A. C. S.; FARIAS, A. R. N.; RITZINGER, C. H. S. P.; NASCIMENTO, A. S. **Pragas em viveiro de mudas de aceroleira**. Acerola em Foco, Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, nº12, 2006.

RONCATO, Sidiane Coltro. **Extrato de *Crambe abyssinica* e o constituinte *alil isotiocianato* no controle de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* em *tomateiro***. 2015. 142 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2015.

RUPPERT, E. E., FOX, R. S., BARNES, R. D., **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva**. 7ª ed. São Paulo: Roca, 2005, 1145 p.

SANGI, S. C. et al. Extratos de Piper no Controle Alternativo de Fitonematoides do Gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9 n. 8, Novembro, 2018.

SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V. P. Eclosão e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.28, n.2, p.166-170. 2003

SANTOS, Paulo Sergio dos. **Aplicação em sulco de nematicidas em soja**. 2015. 52f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2015.

SANTOS, C. A. F.; COSTA, S. R. DA; SOUZA, R. R. C. DE. BRS Guaraçá: Porta Enxerto de Goiabeira Resistente ao *Meloidogyne enterolobii*. **Congresso Luso-Brasileiro de Horticultura**, 2017, Lisboa. Inovação ao serviço dos negócios. Lisboa: Associação Portuguesa de Horticultura, 2017.

SASSER, J. N. **Plant parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy**. Raleigh: Department of Plant Pathology and Consortium of international Crop Protection, North Caroline State University, 1989. 115p.

SCRAMIN, S.; SILVA, H. P.; FERNANDES, L. M. S.; YHAN, C. A.; Biological evaluation of fourteen extracts of plant species on *Meloidogyne incognita* race 1. **Nematologia Brasileira**, v. 11, p. 89-102, 1987.

SEID, A.; FININSA, C.; MEKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL, W. M. L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) – a century-old battle. **Nematology**, v. 17, n. 9, p. 995-1009, 2015.

SILVA, G. S. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. In: **Congresso Brasileiro De Fitopatologia**, 39., 2006, Salvador. **Palestra**. Salvador, 2006.

SOMAVILLA, L. **Levantamento, caracterização do nematoide das galhas em videira nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e estudo da resistência de porta-enxertos a *Meloidogyne* spp.** 2010. 81f. Tese (Doutorado em Fitossanidade) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

SOMAVILLA, L. ; GOMES, C. B.; QUECINI , V. M. Registro da ocorrência de *Meloidogyne incognita* no porta-enxerto 'IAC 766-Campinas' no estado de pernambuco e reação de porta-enxertos e de cultivares copa de videira a *Meloidogyne* spp. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 3, p. 750-756, Setembro, 2012.

SOUZA, W. M. A.; RAMOS, R. A.; SILVA, I. C. B.; ALVES, L. C.; COELHO, M. C. O. C. C.; MAIA, M. B. S. Atividade in vitro do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* cham sobre larvas de terceiro estágio de nematódeos gastrintestinais (família trichostrongylidae) de caprinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.119-122, jan./mar., 2011.

TORRES, G. R. C. et al. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, out. 2004.

TURNER, S. J.; ROWE, J. A. **Cyst nematodes**. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. Plant Nematology. Wallingford: CAB International, 2006. p. 91-122.

WARMERDAM, S. et al. Genome-wide 47 association mapping of the architecture of susceptibility to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v. 218, p. 724-737, 2018.

WARWIRCK, D. R. N.; LEAL, E. C.; CHHATTHOO, R. **Doenças do coqueiro**. In: FERREIRA, J. M. S.; WARWIRCK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A. (eds.). A cultura do coqueiro no Brasil. Brasília: Embrapa-SPI; Aracaju: Embrapa-CPATC. 2a. ed. rev. e ampl., p.269-289, 1998.