

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO EXTRATO PIROLENHOSO BIOMPIROL® NO MANEJO DE
NEMATÓIDES EM CANA-DE-AÇÚCAR, OLERÍCOLAS E CITROS, EM DIFERENTES
AMBIENTES**

**Renato Zapparoli Corbani
Orientador: Jaime Maia dos Santos
Co – Orientador: Jairo Osvaldo Cazetta**

JABOTICABAL - S P - BRASIL

2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO EXTRATO PIROLENHOSO BIOPIROL® NO MANEJO DE
NEMATÓIDES EM CANA-DE-AÇÚCAR, OLERÍCOLAS E CITROS, EM DIFERENTES
AMBIENTES**

Renato Zapparoli Corbani

Orientador: Jaime Maia dos Santos

Co – Orientador: Jairo Osvaldo Cazetta

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

Jaboticabal – SP
Abril – 2008

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RENATO ZAPPAROLI CORBANI nasceu em 16 de maio de 1975, na cidade de Ribeirão Preto - SP. Como acadêmico, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônoma na Universidade Estadual Paulista – UNESP/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, em fevereiro de 1994, vindo a graduar-se em dezembro de 1998. Nesse período, foi bolsista do Programa PET (Programa Especial de Treinamento) da CAPES. Em 2003, obteve o Título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola), no departamento de Fitossanidade da UNESP/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, com a pesquisa intitulada “Potencial do Controle Biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com Fungos Nematófagos”, sendo bolsista do CNPq e obtendo auxílio-pesquisa da FAPESP (processo 2000/15040-8) para a execução do projeto. Em 2004, ingressou no curso de Doutorado em Agronomia, na Área de Concentração, Produção Vegetal, na Universidade Estadual Paulista (UNESP/FCAV), Câmpus de Jaboticabal – SP, com bolsa concedida pela empresa Biocarbo Ind. e Com. Ltda.

Dedico este Trabalho

Aos meus pais José Carlos e Maria Estela, pela dedicação, apoio, lição de vida, e ao grande amor depositado em mim, apoiando-me em todas as decisões por mim tomadas. Sou e serei eternamente grato, pois sei que não mediram esforços para a minha formação.

Aos meus irmãos Ricardo e Rodrigo, pelo estímulo, carinho, sendo muito importantes em minha vida.

Ao meu grande amigo Dr. Paulo Roberto Jr.,
pela paciência, incentivo, companheirismo,
otimismo e confiança em mim depositada

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela fé que me permitiu atingir esse objetivo, dando-me muita coragem e entusiasmo para superar todas as barreiras.

Ao Professor e Amigo Jaime Maia dos Santos, pela orientação, empenho e dedicação na condução e realização deste trabalho, pela convivência, amizade e entusiasmo ao transmitir seus conhecimentos, os quais levarei para o resto de minha vida.

Ao Professor Jairo Osvaldo Gazetta, pela valiosa contribuição na execução deste trabalho.

À Empresa Biocarbo Indústria e Comércio Ltda. com sede em Itabirito - MG, na pessoa de sua diretora Sra. Maria Emilia Rezende, pela concessão da bolsa, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

À Central Energética Moreno, na pessoa de seu Diretor Administrativo, Carlos Alberto Moreno, e Engenheiro Agrônomo Ivan, pelo apoio para a realização dos experimentos.

Ao Conselho do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, pela oportunidade que me foi dada para a realização do curso.

À Faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias de Jaboticabal (UNESP/FCAV), pela Infra-estrutura e apoio fornecido durante o curso.

Aos membros da banca examinadora do Exame Geral de Qualificação, Dr. Modesto Barreto, Dra. Margarete Camargo, Dra. Rita de Cássia Panizzi e Dr. Francisco Jorge Cividannes, pela participação e sugestões.

Ao Professor José Carlos Barbosa, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao grande amigo Luciano Melo de Souza, companheiro de todas as horas, pelo incentivo e confiança.

Ao grande amigo Fábio Mazzonetto, com quem tenho aprendido muito, pela confiança e oportunidades em mim depositadas.

Aos funcionários do Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV, André, Sandra e Walmir, pelo auxílio na extração e contagem das amostras, bem como pela amizade.

Às funcionárias da seção de Pós-Graduação, pela atenção e presteza quando solicitadas.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, em especial à Lígia, à Márcia e à Lúcia, por colaborarem sempre que requisitadas.

Aos colegas de curso, Anderson, Adriana, Alaíde, Bruno, Eduardo, Ivo, Luciany, Paulo, Pedro, Sérgio e Vilmar, pela amizade e solidariedade.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização e enriquecimento deste trabalho.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	ix
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Extrato Pirolenhoso.....	3
2.2 Uso do Extrato Pirolenhoso e Outros Extratos no Controle de Pragas e Doenças.....	4
2.3 Uso do Extrato Pirolenhoso como Fertilizante.....	6
2.4 Nematóides em Cana-de-Açúcar.....	8
2.5 Nematóides em Citros.....	9
2.6 Nematóides em Alface.....	9
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Locais de Condução dos Experimentos	11
3.2 Efeito do Extrato Pirolenhoso Biopiról [®] sobre a Eclosão de Juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> in vitro.	11
3.3 Efeito do Extrato Pirolenhoso Biopiról [®] na Atividade de Juvenis de Segundo Estádio de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> in vitro.	13
3.4 Eficácia do Extrato Pirolenhoso Biopiról [®] no Manejo de Populações de Nematóides em Cana-de-Açúcar a Campo.	14
3.5 Eficácia do Extrato Pirolenhoso Biopiról [®] no Manejo de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> em Citros a Campo.	17

3.6 Eficácia do Extrato Pirolenhoso BiopiroI [®] sobre o Manejo de Populações de <i>Rotylenchulus reniformis</i> e <i>Meloidogyne incognita</i> em Alface sob Cultivo Protegido.	21
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Efeito do Extrato Pirolenhoso BiopiroI [®] sobre a Eclosão de Juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> in vitro.	25
4.2 Efeito do Extrato Pirolenhoso BiopiroI [®] na Atividade de Juvenis de Segundo Estádio de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> in vitro.	28
4.3 Eficácia do Extrato Pirolenhoso BiopiroI [®] no Manejo de Populações de Nematóides em Cana-de-Açúcar a Campo.	34
4.4 Eficácia do Extrato Pirolenhoso BiopiroL [®] no Manejo de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> em Citros a Campo.	36
4.5 Eficácia do Extrato Pirolenhoso BIOPIROL [®] no Manejo de Populações de <i>Rotylenchulus reniformis</i> e <i>Meloidogyne incognita</i> em Alface sob Cultivo Protegido.	40
V. CONCLUSÃO.....	42
VI. REFERÊNCIAS.....	43
APÊNDICE A.....	51
APÊNDICE B.....	52
APÊNDICE C.....	53
APÊNDICE D.....	54
APÊNDICE E.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Dados da análise química do solo da área experimental na Fazenda Pedrinha, Município de São Carlos - SP.	16
2	Dados da análise química do solo da área experimental na Fazenda São Sebastião, Município de Monte Alto - SP.	19
3	Dados da análise química do solo da área da estufa do Departamento de Horticultura na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção da UNESP / FCAV – Câmpus de Jaboticabal - SP.	23
4	Comparação das médias de eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiro [®] , em diferentes doses.....	26
5	Comparação das médias de eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne javanica</i> in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiro [®] , em diferentes doses.....	26
6	Comparação das médias de eclosão de juvenis de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> , in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiro [®] , em diferentes doses.....	28
7	Comparação das médias de mobilidade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> e formação de galhas em raízes de tomateiro, relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiro [®] , em diferentes doses.....	30

- 8 Comparação das médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre a atividade de juvenis de *Tylenchulus semipenetrans* in vitro..... 31
- 9 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* in vitro. 33
- 10 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de populações de *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar, a campo, aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação do produto. 35
- 11 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de populações de *Meloidogyne* sp. em cana-de-açúcar, a campo, aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação do produto. 36
- 12 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em citros, a campo, aos 30 dias após a aplicação do produto. 37
- 13 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em citros, a campo, aos 60 dias após a aplicação do produto. 38
- 14 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso

- Biopirol[®], em diferentes doses, sobre o manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em citros, a campo, aos 90 dias após a aplicação do produto. 39
- 15 Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopirol[®], em diferentes doses, sobre o manejo de populações de *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita* em alface, sob cultivo protegido, aos 42 dias após a aplicação do produto. 41

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Câmara de eclosão utilizada nos estudos in vitro do efeito do extrato pirolenhoso Biopiról [®] sobre a eclosão e atividade de juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> . A) Materiais utilizados na confecção da câmara. B) Câmara em uso.	12
2	Recipientes de 500 mL, em caixa de areia, contendo uma mistura de terra e areia 2:1, autoclavada, onde se efetuaram o transplante de mudas de tomateiro cv. Kada Gigante e a inoculação da suspensão de juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> e de <i>M. javanica</i> , tratadas com diferentes concentrações do extrato pirolenhoso Biopiról [®] , em períodos diferentes, para a avaliação do efeito do produto sobre a atividade desses juvenis.	15
3	Aspecto do pomar de laranjeira 'Natal' do Município de Monte Alto-SP, onde o experimento para o estudo da eficácia do extrato pirolenhoso Biopiról [®] , no manejo de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> , foi conduzido.	18
4	Modo de aplicação do extrato pirolenhoso Biopiról [®] no manejo de populações de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> a campo. A) Tanque utilizado para captação de água. B) Calda preparada pronta para ser aplicada com auxílio de um regador. C) Modo de aplicação do produto com auxílio de um regador.	20
5	Experimento em estufa, do Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, para a avaliação da eficácia do manejo de nematóides	

em alface cv. Lucy Brown com o extrato pirolenhoso Biopiról[®]. A) Solo preparado e demarcação das parcelas com aplicação posterior do produto. B) Vista geral do experimento próximo à colheita.

ESTUDO DO EXTRATO PIROLENHOSO BIOPIROL[®] NO MANEJO DE NEMATÓIDES EM CANA-DE-AÇÚCAR, OLERÍCOLAS E CITROS EM DIFERENTES AMBIENTES

RESUMO – No Japão, uma solução aquosa, referida como extrato pirolenhoso, resultante da carbonização de madeira ou bambu, obtida através da condensação da fumaça, vem sendo estudada com fins agrícolas, inclusive como alternativa para os defensivos químicos convencionais. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação do extrato pirolenhoso Biopiro[®] sobre a eclosão e a atividade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica* e *Tylenchulus semipenetrans*, sobre o manejo de populações de nematóides, a campo, em cana-de-açúcar e citros, e em alface sob ambiente protegido. No Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, foram preparadas câmaras de eclosão para a avaliação do extrato pirolenhoso Biopiro[®], em diferentes concentrações, variando de 0,5% até 2,0%, sobre a eclosão e atividade dos nematóides *in vitro*. Nos experimentos a campo, as concentrações do produto variaram de 0,5% até 8,0%. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os resultados evidenciaram que o extrato pirolenhoso Biopiro[®] reduz a eclosão de juvenis de *M. incognita*, de *M. javanica* e de *T. semipenetrans* *in vitro* e a formação de galhas formadas por *M. incognita* e por *M. javanica* em raízes de tomateiro. Nas concentrações de até 4%, não foi eficaz para a redução da população de *Pratylenchus zaei* e *Meloidogyne* sp. em cana-de-açúcar e de *T. semipenetrans* em laranjeira “Natal” enxertada sobre limoeiro cravo. Nas concentrações de até 8,0%, também, não foi eficaz para a redução da população de *Rotylenchulus reniformis* e *M. incognita* em alface ‘Lucy Brown’, em ambiente protegido.

Palavras-chave: *Meloidogyne* spp. *Pratylenchus zaei*. *Rotylenchulus reniformis*, *In vitro*. Atividade nematicida.

STUDY OF PYROLIGNEOUS ACID BIPIROL® OF THE MANAGEMENT OF NEMATODES IN SUGAR CANE, OLERÍCOLAS AND CITROS IN DIFFERENT ENVIRONMENTS

SUMMARY – In Japan, an aqueous solution resulting from the carbonization of wood or bamboo, obtained by the condensation of smoke, referred to as pyroligneous acid has been studied with agricultural purposes, including as an alternative to the conventional chemical control of pests and diseases. This study aimed to evaluate the effect of the pyroligneous acid Biopiról® on the hatching and activity of second stage juvenile of *Meloidogyne incognita*, *M. Javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*; as well as on the management of populations of nematodes, at field conditions in sugar cane and citrus and lettuce under protected environment. In Nematology Laboratory of the Department of Plant Protection of the Universidade Estadual Paulista, Câmpus of Jaboticabal, hatching chambers were prepared for the evaluation of different concentrations ranging from 0.5 % until 2.0 % of the pyroligneous acid Biopiról® on the hatching and activity of the nematodes in vitro. In the field experiments, the concentrations of the product ranged from 0.5% to 8.0%. The data were submitted to the analysis of variance and the means were compared by Tukey test of a 5% probability. Results showed that the pyroligneous acid Biopiról® reduces the hatching of the second stage juveniles of *Meloidogyne incognita*, *M. Javanica* and *Tylenchulus semipenetrans* in vitro. Also, reduces the formation of galls by *M. incognita* and *M. Javanica* in roots of tomato. At the concentrations of up to 4% was not effective in reducing the population of *Pratylenchus zae* and *Meloidogyne sp.* in sugar cane and of *Tylenchulus semipenetrans* in orange cv. Natal grafted on Rangpur lime. In concentrations of up to 8,0% has not been effective in reducing the population of *Rotylenchulus reniformis* and *M. incognita* in lettuce cv. Lucy Brown in protected environment.

Key-words: *Meloidogyne spp.* *Pratylenchus zae*. *Rotylenchulus reniformis*, In vitro. Nematicide activity.

I. INTRODUÇÃO

Aos fitonematóides são atribuídas perdas anuais médias de cerca de 12 % na maioria de nossas culturas (SASSER & FRECKMAN, 1987). O controle dessas pragas é difícil e muitas vezes oneroso. Contudo, a almejada sustentabilidade do sistema produtivo requer o contínuo monitoramento dessas pragas nas áreas de cultivo da propriedade e adoção de práticas de manejo, tanto para redução de perdas atuais quanto para prevenção ao surgimento de novos focos. O manejo de nematóides empregando-se nematicidas-inseticidas usualmente é caro e, além disso, para a grande maioria de nossas culturas, não existe registro desses produtos, não sendo, portanto, permitido o seu uso. Nas áreas urbanas, o emprego desses produtos para o controle de nematóides em parques e jardins, também, não é permitido.

Além das implicações de ordem econômica ligadas ao uso de nematicidas químicos convencionais, as de ordem ecotoxicológica são freqüentemente lembradas, visto que tais produtos geralmente são de alta toxicidade e, por conseguinte, são tidos como potencialmente danosos ao meio ambiente.

Produtos oriundos da decomposição da matéria orgânica, subprodutos da indústria de óleos (tortas e farelos), produtos de plantas tais como nim (*Azadirachta indica* Juss.), alguns tipos de algas marinhas ricas em quitina e outros vem sendo estudados em diferentes partes do mundo. Em alguns desses casos os resultados são palpáveis e alguns produtos já são, inclusive, comercializados para o manejo de nematóides.

Em anos recentes, no Japão, uma solução aquosa resultante da carbonização de madeira ou bambu, obtida através da condensação da fumaça, referida como ácido pirolenhoso, vem sendo estudada com fins agrícolas, inclusive como alternativa para os defensivos químicos convencionais empregados no controle de pragas e doenças.

Culturas tais como a cana-de-açúcar, citros e olerícolas sofrem perdas anuais causadas por nematóides estimadas em cerca de 15,3 %, 14,2 % e 10 a 12 %, respectivamente (SASSER & FRECKMAN, 1987). Dado às extensas áreas de plantio de cana-de-açúcar e citros, o emprego de um produto de menor impacto ambiental que os nematicidas químicos convencionais, certamente redundaria em benefícios expressivos para o meio ambiente. Além disso, as possibilidades de se dispor de um produto de menor custo que os nematicidas convencionais representa uma vantagem a mais. Se confirmada a eficácia do ácido pirolenhoso (Biopiról[®]) no manejo dos nematóides de galhas, dispor-se-á, doravante, de um produto muito menos tóxico que os nematicidas convencionais com amplas possibilidades de uso em hortas e também em áreas urbanas, tanto em parques e jardins, onde os nematóides usualmente causam sérios problemas. Com efeito, em volta dos centros urbanos, por todo o País, inúmeras famílias vivem da produção de hortaliças folhosas que são comercializadas em mercados e pequenos comércios dos bairros. Para essas culturas, os nematóides também são um dos principais problemas. Um produto de baixa toxicidade com ação nematicida representaria um avanço considerável. Por conseguinte, essa pesquisa foi desenvolvida com os seguintes objetivos: a) avaliar a influência do extrato pirolenhoso (Biopiról[®]) sobre a eclosão e a atividade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, *M. javanica* e *T. semipenetrans*; b) avaliar a eficácia do extrato pirolenhoso sobre a população de nematóides, a campo, em cana-de-açúcar; c) avaliar a eficácia do extrato pirolenhoso sobre a população de *T. semipenetrans*, a campo, em citros; d) avaliar a eficácia do extrato pirolenhoso sobre o manejo de nematóides em alface, em ambiente protegido.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Extrato Pirolenhoso

Há muito tempo utilizado no Japão e recentemente introduzido no Brasil, o fino de carvão e o extrato pirolenhoso, subprodutos obtidos da produção de carvão vegetal, são produtos promissores para a utilização na agricultura. No Brasil, a produção de carvão vegetal através da queima de madeira é uma prática bastante antiga. Porém, a grande maioria destina-se à obtenção apenas do carvão comercial sem preocupações quanto ao aproveitamento dos demais componentes (MIYASAKA et al., 2001a).

O extrato pirolenhoso (EP), também conhecido como ácido pirolenhoso ou vinagre de madeira, é obtido pela condensação da fumaça formada pela queima da madeira na produção de carvão vegetal, conforme menção de MAEKAWA (2002). Trata-se de um líquido de cor amarela a marrom-avermelhada, composto, em sua maior parte, por água e mais de 200 compostos orgânicos, dentre os quais ácido acético, álcoois, cetonas, fenóis e alguns derivados de lignina. O extrato pirolenhoso pode ser obtido de diferentes espécies vegetais, como bambu, eucalipto (*Eucalyptus* spp.) e pínus (*Pinus* spp.).

O extrato pirolenhoso, quando deixado em repouso por tempo superior a 100 dias para decantação, divide-se em três fases, sendo que a fase superior contém óleos leves; a fase central – o pirolenhoso puro (Biopiro[®]), e a fase inferior, o alcatrão (MIYASAKA et al., 2001b).

De acordo com os dados levantados por ZANETTI (2004), o extrato pirolenhoso destilado e comercializado no Brasil pela empresa Biocarbo Ind. Com. Ltda., com sede em Itabirito-MG, contém 85% de água, além de fenol (0,2%), guaiacol (0,1%), cresol (0,1%), o-cresol (1,1%), siringol (1,0%), 4-metilsiringol (1,1%), 4-etilsiringol (0,6%), 4-

alilsiringol (0,2%), ácido acético (5,1%), ácido propiônico (0,7%), ácido butírico (0,2%), ácido crotônico (0,1%), acetona (0,2%), acetado de metila (0,6%), 2-ciclopentadiona (0,1%), 3-propionato de etila (0,2%), furfural (0,1%), metanol (0,1%), acetoinpropilenoglicol (0,1%), álcool furfurílico (0,1%), cicloteno (0,4%), maltol (0,1%) e 5-hidroximetil-2-furfural (1,2%).

2.2 Uso do Extrato Pirolenhoso e Outros Extratos no Controle de Pragas e Doenças

Pesquisas desenvolvidas no Japão e observações realizadas na prática revelam que o extrato pirolenhoso repele determinados tipos de pragas e previne algumas doenças, permitindo, inclusive, a diminuição na dosagem de defensivos (MIYASAKA et al., 2001b).

GONÇALVES (2001), estudando a ação do ácido pirolenhoso no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), cultivar Jéssica, verificou que, quando se utilizou o ácido pirolenhoso em diluição de 1:50, obteve-se o controle desse nematóide quando comparado com a testemunha.

KHURMA & SINGH (1997) encontraram efeito tanto na eclosão de J2 de *M. incognita* e de *M. javanica* (Treub) Chitwood quanto na mortalidade dos juvenis desses nematóides quando testaram o extrato de sementes de *Sesbania sesban* (L.) Merr.

CUADRA et al. (2000) também observaram que o ácido pirolenhoso tinha ação nematicida sobre juvenis de *M. incognita*.

Avaliando diferentes extratos e produtos naturais sobre a eclosão e a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* (Goeldi), em câmaras de eclosão, SALGADO & CAMPOS (2003) observaram que o soro do leite e os extratos de canela, fermento biológico e cloreto de sódio causaram 100 % de mortalidade após 24 h do contato dos juvenis de segundo estágio com os extratos. Mortalidade acima de 50% também ocorreu nos extratos de cravo-da-índia e na solução do probiótico Controlmix®. Com relação à eclosão, entre todos os extratos e produtos

testados, a maior inibição ocorreu no soro do leite, no probiótico Controlmix®, em extratos de casca-de-canela e de botão floral de cravo-da-índia.

DIAS et al. (2000) avaliaram o extrato de hortelã em juvenis de *M. incognita* e observaram baixa atividade nematicida, embora tenham registrado, também, efeito nematostático. STEFFEN (2007), testando dez diferentes óleos essenciais de plantas medicinais in vitro sobre *Meloidogyne graminicola* Golden & Birchfield, patógeno de arroz, observou que todos os óleos reduziram a eclosão de juvenis de segundo estágio do nematóide de 16 – 48%, em relação à testemunha.

FURTADO et al. (2002) constataram, in vitro, que o extrato pirolenhoso, na dose de 1 mL L⁻¹, inibiu totalmente o crescimento micelial de *Botrytis cinérea* Persoon ex Fries, *Cylindrocladium clavatum* Hodges & May e *Rhizoctonia solani* Kühn, isolados de mudas de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e também inibiu a germinação dos conídios de *B. cinerea* na proporção de 2,2; 3,1 e 4,3% nas doses de 1; 4 e 6 mL L⁻¹, respectivamente.

MAEKAWA (2002) mencionou que o extrato pirolenhoso, quando aplicado na diluição de 1-10 vezes, controla as ervas daninhas e melhora o crescimento da cultura. Na diluição de 20 a 30 vezes, esteriliza o solo, e nas diluições de 50 a 200 vezes, é indicado para problemas sanitários de raízes. Quando utilizado nas diluições de 300 a 400 vezes, mostra-se eficiente no controle de pragas e patógenos, devendo, preferencialmente, ser misturado a outros extratos de plantas.

Estudando a atividade do licor pirolenhoso em culturas de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Serratia*, MELO et al. (2007) concluíram que a atividade bactericida dos diferentes extratos do licor pirolenhoso foi detectada nas diferentes culturas microbianas e que o extrato bruto apresentou um efeito biocida superior ao do extrato polar. A separação dos extratos pode concentrar frações mais tóxicas do licor, o que justificaria os resultados obtidos.

SOUZA & MIYAZAWA (2006) constataram que a adição de 20 mL de ácido pirolenhoso e 2,0 g de uréia, acrescidos de 10,0 g de matéria seca de mucuna cinza e esterco de galinha, em um vaso plástico de 1000 mL, contendo 500 g de solo seco, evidenciou que o ácido pirolenhoso atua diretamente nas bactérias *Nitrosomonas*

(bactérias nitrificadoras) afetando, diretamente, o processo de nitrificação no solo, retardando assim a oxidação de NH_4^+ .

SILVA et al. (2007) constataram a atividade bactericida dos diferentes extratos do licor pirolenhoso nas diferentes culturas microbianas dos gêneros *Klebsiella* e *Escherichia*. O extrato polar apresentou efeito biocida superior ao do extrato bruto, sendo que a separação dos extratos pode concentrar frações mais tóxicas do licor.

Segundo SAIGUSA (2002), o efeito ativador ou inibidor do EP sobre os organismos vivos depende de sua concentração. A fim de controlar os danos causados por ataque de insetos, deve-se aplicar a solução de extrato pirolenhoso 2 ou 3 vezes ao mês por meio de pulverizações, e, no caso de microrganismos, a solução tem efeito instantâneo e pouco duradouro. O EP é eficiente para recuperar a vitalidade e, ao mesmo tempo, fortalecer o sistema de defesa que existe na planta, reduzindo, assim, o grau de danos causados por microrganismos. No entanto, para assegurar a eficácia do produto, é preciso garantir sua qualidade, que depende da madeira utilizada para queima, do método de obtenção do EP e, também, do modo de preparo das soluções.

2.3 Uso do Extrato Pirolenhoso como Fertilizante

Ainda no Japão, a aplicação de “Sannekka E”, uma mistura comercial de fino de carvão e extrato pirolenhoso, aplicada nas doses 0, 200, 400 e 800 kg/ha, em cobertura, na cana-de-açúcar (soqueira e plantio) evidenciou que, na dosagem 400 kg/ha, houve diferença significativa no comprimento e no número de colmos para os dois plantios, além de aumento de 2-16% e 23-36% no teor de sacarose para cana-planta e soca, respectivamente. Observou-se, também, aumento de 38 e 46% na produção de massa seca para cana-soca (UDDIN et al., 1994). Em outro estudo, a aplicação de 400 kg/ha de “Sannekka E” em outra variedade de cana-de-açúcar, no plantio de verão, proporcionou incremento no tamanho, número e diâmetro de colmos, além de aumentar o teor de sacarose e o crescimento radicular das plantas (UDDIN et al., 1995).

Com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação do Fino de Carvão (FC) ao solo e da combinação de cinco doses de fino de carvão e duas doses de extrato pirolenhoso (EP), ALVES (2006) constatou que a aplicação de FC e EP causou pequenas variações nos atributos de fertilidade do solo, insuficientes para alterar a resposta de crescimento de plantas de milho.

ICHIKAWA & OTA (1998), estudando a cultura do arroz na fase de muda, antes do transplântio, confirmaram que a aplicação do extrato pirolenhoso no solo promoveu maior desenvolvimento da parte aérea e radicular dessas mudas, melhorando, portanto, seu desenvolvimento após o transplântio. SHIRAKAWA et al. (1993) também relataram efeito positivo na atividade fisiológica de plantas de arroz com a aplicação de extrato pirolenhoso no solo. De acordo com TSUZUKI et al. (1989), resultados em laboratório com plantas de arroz em solução nutritiva confirmaram que o extrato pirolenhoso induz a formação e o alongamento de novas raízes e que, segundo o autor, a ação do produto, provavelmente, é hormonal.

Com o intuito de avaliar o efeito do extrato pirolenhoso como um fertilizante orgânico, ESECHIE et al. (1998) estudaram o efeito do produto em plantas de sorgo sob cinco diferentes tratamentos (água, extrato puro, diluições a 10%, 5% e 2,5%). A aplicação de extrato pirolenhoso puro provocou a morte de 60% das plantas. O tratamento com extrato pirolenhoso diluído a 5% proporcionou maior produção de matéria seca, área foliar e altura das plantas.

Trabalho realizado em 1987 e 1988 com a cultura do arroz, no Japão, com a aplicação em cobertura da mistura de extrato pirolenhoso e de fino de carvão, a campo, mostrou, no primeiro ano, aumento de 17% na produção de grãos. Porém, não se obteve diferença significativa no segundo ano, em relação às parcelas da testemunha. Para ambos os períodos, a aplicação da mistura de extrato pirolenhoso e de fino de carvão promoveu aumento da matéria seca e da respiração do sistema radicular (TSUZUKI et al., 1989). Os mesmos autores relataram ainda que, quando adicionado a caixas de produção de mudas de arroz, os produtos promoveram incremento na altura, alongamento das raízes e aumento do volume de raízes secundárias.

2.4 Nematóides em Cana-de-Açúcar

Várias espécies de nematóides causam danos à cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) nas diferentes regiões produtoras do mundo, e os prejuízos à produtividade são crescentes em função da monocultura e intenso uso do solo. Com efeito, 275 espécies de 48 gêneros já foram registradas associadas à cana em termos mundiais, sendo os ectoparasitos os mais freqüentes (NOVARETTI et al., 1974; MOURA & ALMEIDA, 1981; MAQBOOL & HASHMIN, 1987). As perdas causadas por nematóides à cultura, em termos mundiais, já foram estimadas em 15,3% (SASSER & FRECKMAN, 1987). Entretanto, as espécies-chave podem variar de região para região. No Brasil, *Pratylenchus zae* Grahan, *M. javanica* e *M. incognita* são as espécies-chave para a cultura, sendo que *M. javanica* e *P. zae* causam prejuízos da ordem de 20 a 30 % na redução da produção, porém o mais agressivo ainda é *M. incognita*, que chega a reduzir de 40 a 50%, já no primeiro corte (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Sendo a cana cultivada como monocultura contínua, a renovação das lavouras, quase sempre, ocorre sem pousio entre a remoção das soqueiras velhas e o replantio. Essas condições favorecem o desenvolvimento das populações dos fitonematóides (SPAULL & CADET, 1990). Quando se adota a rotação, a cultura utilizada não deveria ser suscetível aos nematóides-chave da cana. Caso contrário, as populações continuariam crescendo e comprometeriam o desenvolvimento da cultura da cana que viria a seguir.

Nos últimos anos, a freqüência de ocorrência de *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Steekhoven, associada à cultura da cana-de-açúcar, tem preocupado muitos nematologistas. Embora estudos da agressividade de *P. zae* e de *P. brachyurus* à cana já tenham sido conduzidos (DINARDO-MIRANDA, 1990), os resultados ainda não foram conclusivos quanto à agressividade de *P. brachyurus* à cultura (DINARDO-MIRANDA, 2005). *Pratylenchus brachyurus* tem sido freqüentemente encontrado em amostras de solo e raízes de cana de diferentes regiões do Brasil que têm sido enviadas ao Laboratório de Nematologia da FCAV/UNESP para análise.

2.4 Nematóides em Citros

A cultura dos citros é onde se encontra um maior número de pragas. Entretanto, poucas são as consideradas pragas-chave da cultura (GRAVENA 1984). Os nematóides *T. semipenetrans* Cobb, conhecidos como “nematóides dos citros”, causadores da doença chamada “declínio lento dos citros” e *P. jaehni* Inserra et al., referidos como “nematóides das lesões radiculares dos citros”, são pragas-chave da cultura no Brasil (SANTOS et al., 2006). As perdas causadas pelo ataque de nematóides na citricultura mundial são estimadas em 14,2% (SASSER & FRECMAN, 1987). Estimativas de CORBANI (2002), para perdas causadas por *T. semipenetrans* no Brasil, na safra de 1999/2000, ultrapassaram R\$ 315 milhões de reais. TERSI et al. (1995) estimaram que, em talhões infestados por *P. jaehni*, em um pomar do Município de Itápolis-SP, a produção foi cerca de três vezes menor do que em talhões do mesmo pomar não infestados pela praga. O manejo dos nematóides com nematicidas tradicionais, além de encarecer a produção tem inconvenientes advindos dos riscos ecológicos e toxicológicos. No Brasil, apenas o aldicarbe tem registro para sua utilização em citros (SANTOS et al., 2006).

2.6 Nematóides em Alface

Os nematóides de galhas têm-se tornado um dos principais problemas enfrentados no cultivo da alface, sendo responsáveis por perdas importantes, uma vez que reduzem a quantidade e a qualidade do produto colhido (SANTOS, 1995).

Segundo FIORINI et al. (2005), a alface é, entre as hortaliças folhosas, a mais importante economicamente para o Brasil, sendo consumida in natura na forma de salada. Devido à sua alta perecibilidade, normalmente é plantada próximo aos centros consumidores, sendo necessário produzi-la nas mais variadas regiões brasileiras, ao longo do ano. Em condições de elevadas temperaturas, tem sido afetada por problemas de pendoamento precoce e ocorrência de *Meloidogyne* spp.

A maioria das cultivares utilizadas apresenta alta suscetibilidade a esse patógeno, que tem alta taxa reprodutiva, acumulando no solo grandes populações de ovos após cultivos consecutivos de espécies consideradas boas hospedeiras (CAMPOS et al., 2001).

De acordo com CHARCHAR & MOITA (1996), cultivares de alface, quando atacadas pelos nematóides das galhas, apresentam comumente debilidade intensa da planta, ocasionada pela densa formação de galhas no sistema radicular. As galhas obstruem a absorção de água e nutrientes do solo, resultando em plantas amareladas, com cabeça de tamanho reduzido, pequeno volume foliar e sem valor para consumo in natura.

De acordo com diversos autores, cultivares de alface do tipo lisa, quando comparadas com as cultivares do tipo crespa, são mais afetadas por nematóides de galhas, tendo-se destacado a cultivar Grand Rapids, de folhas crespas e soltas, como tolerante (CHARCHAR & MOITA, 1996; GOMES et al., 1997; MENDES, 1998; GOMES, 1999). Em muitos casos, porém, a preferência por uma determinada cultivar, tal é o caso de certas redes de "Fast Food", exigiria um tratamento do solo infestado para o controle da população do nematóide com um produto que não exibisse riscos à saúde humana nem à biota do solo.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Locais de Condução dos Experimentos

Os experimentos realizados in vitro foram conduzidos no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal. Já os experimentos a campo foram realizados na Fazenda Pedrinhas, Município de São Carlos, pertencente à Central Energética Moreno e na Fazenda São Sebastião, no Município de Monte Alto-SP.

3.2. Efeito do Extrato Pirolenhoso Biopiról[®] sobre a Eclosão de Juvenis de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Tylenchulus semipenetrans* in vitro

Foram utilizadas câmaras de eclosão preparadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, conforme a técnica de CLIFF & HIRSCHMANN (1985), como ilustrado na Figura 1. Para tanto, um disco de tela de náilon tipo sombrite, de 8,5 cm de diâmetro, foi colocado na placa e, sobre este, outro disco de papel facial, de 10 cm de diâmetro. A seguir, 5 mL de suspensão aquosa de ovos e juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, *M. javanica* e de *T. semipenetrans*, contendo cerca de 200 ovos e juvenis de segundo estádios por mL, foram aplicados sobre o papel, separadamente. As suspensões de ovos de *M. incognita*, *M. javanica* e de *T. semipenetrans* foram preparadas pela técnica de COOLEN & D'HERDE (1972). Após a adição das suspensões, 5 mL de solução do extrato pirolenhoso, em concentração dupla, de modo a propiciar as concentrações finais de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0%, foram adicionados a cada câmara. Adotaram-se quatro repetições por tratamento, sendo cada uma delas constituída por uma câmara.

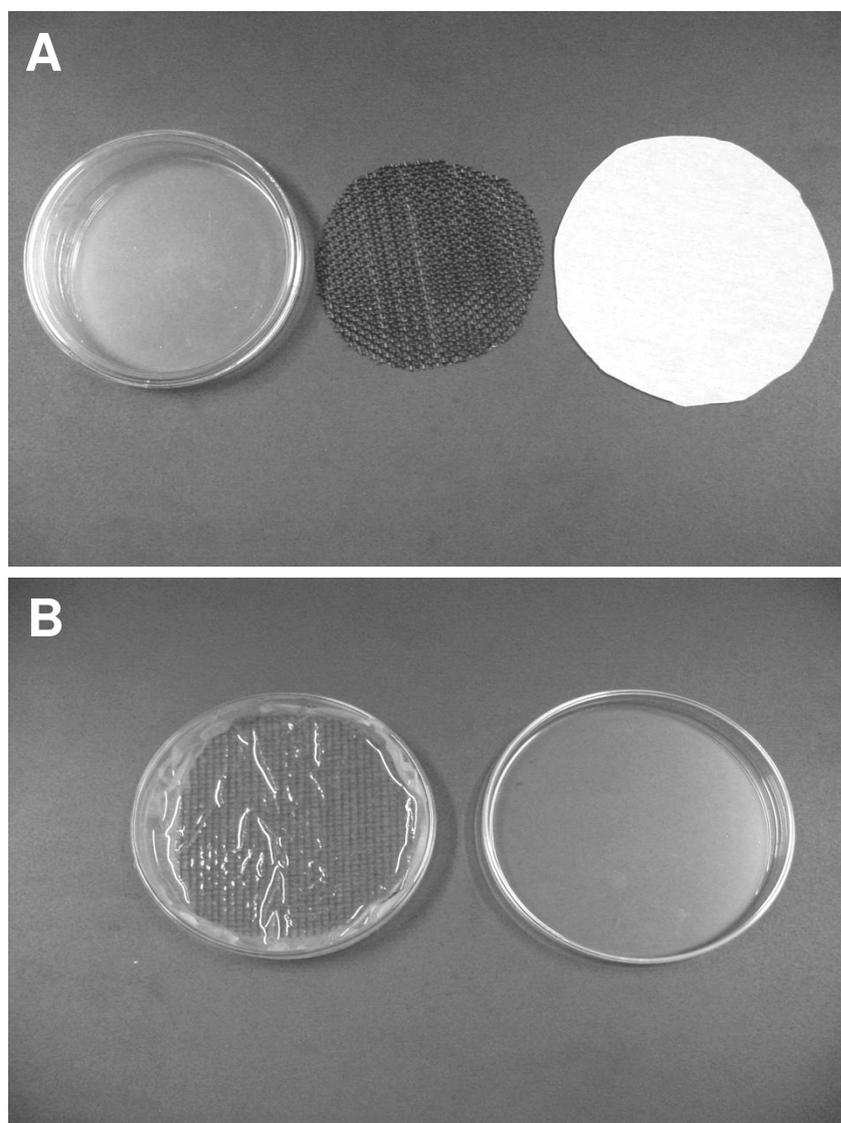


Figura 1. Câmara de eclosão utilizada nos estudos in vitro do feito do extrato pirolenhoso Biopiról[®] sobre a eclosão e atividade de juvenis de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Tylenchulus semipenetrans*. A) Materiais utilizados na confecção da câmara. B) Câmara em uso.

Para o tratamento-testemunha foram adicionados 10 mL de água de poço artesiano/placa, sem tratamento. As câmaras foram mantidas em B.O.D. à temperatura constante de 25°C, no escuro, e, após três horas, as suspensões de juvenis foram retiradas de cada placa e descartadas, sendo repostos iguais volumes de solução do extrato, nas respectivas concentrações, e de água nas câmaras, correspondentes ao tratamento-testemunha. Esse procedimento foi necessário para a remoção dos juvenis que já haviam eclodido na suspensão, antes da adição às câmaras. As câmaras foram mantidas nas condições mencionadas, por cinco dias, com coletas diárias, adições de iguais volumes de água e de solução do extrato pirolenhoso, correspondentes aos respectivos tratamentos. As contagens foram efetuadas com auxílio da câmara de contagem de Peters. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste “F”, e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.3. Efeito do Extrato Pirolenhoso Biopiról[®] na Atividade de Juvenis de Segundo Estádio de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e de *Tylenchulus semipenetrans* in vitro

Foram utilizadas câmaras preparadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, conforme descrito no item anterior. Em seguida, 5 mL de suspensão aquosa de juvenis, contendo cerca de 100 juvenis de segundo estágio/mL de *M. incognita* e *M. javanica* e 200 juvenis de segundo estágio/mL de *T. semipenetrans*, foram aplicados em câmaras separadas sobre o papel. As suspensões de juvenis de *M. incognita*, *M. javanica* e de *T. semipenetrans* foram preparadas pela técnica de CLIFF & HIRSCHMANN (1985). Então, 5 mL de solução do extrato pirolenhoso, em concentração dupla, de modo a propiciar as concentrações finais de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0%, foram adicionados a cada câmara. Foram adotadas quatro repetições por tratamento, sendo cada uma delas constituída por uma câmara. Para o tratamento-testemunha, foram adicionados 10 mL de água de poço artesiano sem tratamento. As câmaras foram mantidas em B.O.D. à temperatura constante de 25°C, no escuro, por dois dias para *M. incognita* e *M. javanica*

e quatro dias para *T. semipenetrans*, com coletas diárias, adições de iguais volumes de água, no tratamento-testemunha, e de solução do extrato pirolenhoso, nas respectivas concentrações, e contagens do número de juvenis ativos e inativos. Os juvenis ativos e inativos das repetições individuais, em cada tratamento, e os obtidos no tratamento-testemunha foram lavados com água de poço artesiano sem tratamento, em peneira de 500 mesh (0,025 mm) e inoculados, a saber: os juvenis de *M. incognita* e os de *M. javanica* foram inoculados em mudas individuais de tomateiro cv. Kada Gigante, produzidas em substrato constituído pela mistura de terra e areia (2:1) previamente autoclavada, contida em copos plásticos descartáveis de 500 mL de capacidade (Figura 2).

Cerca de 30 e 60 dias após a inoculação, as mudas de tomateiro foram retiradas dos copos plásticos, as raízes foram lavadas e foram contados os números de galhas por sistema radicular para a avaliação relativa à *M. incognita* e *M. javanica*. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.4. Eficácia do Extrato Pirolenhoso Biopirol® no Manejo de Populações de Nematóides em Cana-de-Açúcar a Campo

O experimento, visando à avaliação da eficácia de Biopirol® no controle de *Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp. em cana-de-açúcar, foi instalado no período de fevereiro a maio de 2005, durante o plantio de cana da variedade SP 81 3250, na Fazenda Pedrinhas, Município de São Carlos, de propriedade da Central Energética Moreno, cujas análises prévias de amostras de solo revelaram, respectivamente, em média, a presença de 340 e 720 juvenis de *Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp. por 100 cm³ das amostras de solo. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964). Os dados da análise química, realizada no Laboratório de Análise de Solo e Planta do Departamento de Solos e Adubos da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, estão apresentados na Tabela 1.



Figura 2. Recipientes de 500 mL, em caixa de areia, contendo uma mistura de terra e areia 2:1, autoclavada, onde se efetuaram o transplante de mudas de tomateiro cv. Kada Gigante e efetuou-se a inoculação da suspensão de juvenis de *Meloidogyne incognita* e de *M. javanica*, tratadas com diferentes concentrações do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em períodos diferentes, para a avaliação do efeito do produto sobre a atividades desses juvenis.

Tabela 1. Dados da análise química do solo da área experimental na Fazenda Pedrinha, Município de São Carlos - SP.

pH em CaCl ₂	M.O. g/dm ³	P resina mg/dm ³	K	Ca	Mg	H+Al
4,4	21	11	0,9	12	3	38
mmol _c /dm ³						
Micronutrientes mg/dm ³						
B	Cu	Fe	Mn	Zn	S-SO ₄	Al mmol _c /dm ³
0,21	0,3	46	2,1	0,1	0,0	0,0

Os seguintes tratamentos foram adotados:

Tratamento 1: água de poço artesiano (testemunha).

Tratamento 2: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 0,5%.

Tratamento 3: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 1,0%.

Tratamento 4: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 2,0%.

Tratamento 5: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 4,0%.

Tratamento 6: Carbofuran (Furadan 350 SC) 6,0 litros / ha.

Cada parcela foi constituída por 10 linhas de cana (15 metros de largura) por 400 metros de comprimento, com três repetições. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições.

Utilizou-se um tanque pulverizador com capacidade de 300 litros para a aplicação do produto no solo, nas diferentes concentrações sobre os toletes, no ato do plantio. Imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, após a demarcação das parcelas, foi coletada uma amostra composta de 40 amostras simples do solo da área até a profundidade de 20 a 25 cm, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides, em alíquotas de 100 cm³ das amostras.

Foram realizadas avaliações aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação do produto. Uma amostra, composta de 40 amostras simples de solo, foi coletada de cada parcela à profundidade de até 20 a 25 cm. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da FCAV, onde foram processadas.

Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao estereoscópio, com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970). Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em $DLOG(X + 1)$, utilizando-se do software ESTAT (Sistema para Análises Estatísticas, Pólo Computacional, Departamento de Ciências Exatas, UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal - SP), e as médias dos números de nematóides, em 100 cm^3 das amostras de solo, foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.5. Eficácia do Extrato Pirolenhoso Biopiro[®] no Manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em Citros a Campo

O experimento, visando à avaliação da eficácia do extrato pirolenhoso no manejo da população de *T. semipenetrans*, foi instalado no período de janeiro a abril de 2006, em um pomar de laranja-Natal (*Citrus sinensis* L. Osbeck) sobre porta-enxerto 'Limoeiro-Cravo' (*Citrus limonia* L. Osbeck), com 17 anos de idade e espaçamento 8 x 5, na Fazenda São Sebastião, Município de Monte Alto - SP, cujas análises prévias de amostras de solo (JENKINS, 1964) e raízes (COOLEN & D'HERDE, 1972) revelaram, em média, a presença de 350 juvenis de *T. semipenetrans* por 100 cm^3 das amostras de solo, 1.780 juvenis e 9.700 ovos por 10 g de raízes. A Figura 3 ilustra o aspecto do pomar onde o experimento foi instalado. Os dados de análise química, realizada no Laboratório de Análise de Solo e Planta do Departamento de Solos e Adubos da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, estão apresentados na Tabela 2.



Figura 3. Aspecto do pomar de laranjeira 'Natal' do Município de Monte Alto-SP onde o experimento para o estudo da eficácia do extrato pirolenhoso Biopiról[®], no manejo de *Tylenchulus semipenetrans*, foi conduzido.

Tabela 2. Dados da análise química do solo da área experimental na Fazenda São Sebastião, Município de Monte Alto - SP.

pH em CaCl ₂	M.O. g/dm ³	P resina mg/dm ³	K	Ca	Mg	H+Al
6,3	17	56	3,0	52	28	10
mmol _c /dm ³						
Micronutrientes mg/dm ³						
B	Cu	Fe	Mn	Zn	S-SO ₄	Al mmol _c /dm ³
0,37	8,9	8,0	17,5	5,4	5	0,0

Os seguintes tratamentos foram adotados:

Tratamento 1: água de poço artesiano sem tratamento (testemunha).

Tratamento 2: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 1,0%.

Tratamento 3: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 2,0%.

Tratamento 4: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 4,0%.

Tratamento 5: Biopiról[®] diluído em água na concentração de 8,0%.

Tratamento 6: Aldicarb (Temik 150G) na razão de 130 g p.c./planta.

Cada parcela foi constituída por cinco árvores consecutivas, sendo tomadas as três plantas centrais da parcela como área útil para as avaliações. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições.

Imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, após a demarcação das parcelas, foi coletada uma amostra composta de solo e raízes à profundidade de até 20 a 25 cm, das cinco plantas de cada parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras de solo e em 10 g de raízes.

Os tratamentos foram aplicados distribuindo manualmente, com auxílio de um regador, a quantidade do produto sob a projeção da copa das árvores, à razão de 1 L/m², perfazendo um total de 7 L/planta (Figura 4).



Figura 4. Modo de aplicação do extrato pirolenhoso Biopiról® no manejo de populações de *Tylenchulus semipenetrans* a campo. A) Tanque utilizado para captação de água. B) Calda preparada pronta para ser aplicada com auxílio de um regador. C) Modo de aplicação do produto com auxílio de um regador.

As avaliações foram efetuadas aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação dos tratamentos. Uma amostra, composta de 6 amostras simples de solo e raízes, foi coletada na projeção da copa de ambos os lados das três plantas centrais da parcela. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da FCAV, onde foram processadas.

Os nematóides foram extraídos das amostras de solo, pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e os das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao estereoscópio, com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em DLOG ($X + 1$), utilizando-se do software ESTAT (Sistema para Análises Estatísticas, Pólo Computacional, Departamento de Ciências Exatas, UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal - SP), e as médias dos números de nematóides, em 100 cm³ das amostras de solo e em 10 g de raízes, foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.6. Eficácia do Extrato Pirolenhoso Biopirol[®] sobre o Manejo de Populações de *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita* em Alface sob Cultivo Protegido

O experimento, visando à avaliação da eficácia do extrato pirolenhoso no controle de *R. reniformis* Linford & Oliveira e *M. incognita* em alface americana, cultivar Lucy Brown, foi instalado em 26 de outubro de 2006, em uma estufa do Departamento de Produção Vegetal, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção da UNESP/FCAV – Câmpus de Jaboticabal (Figura 5).

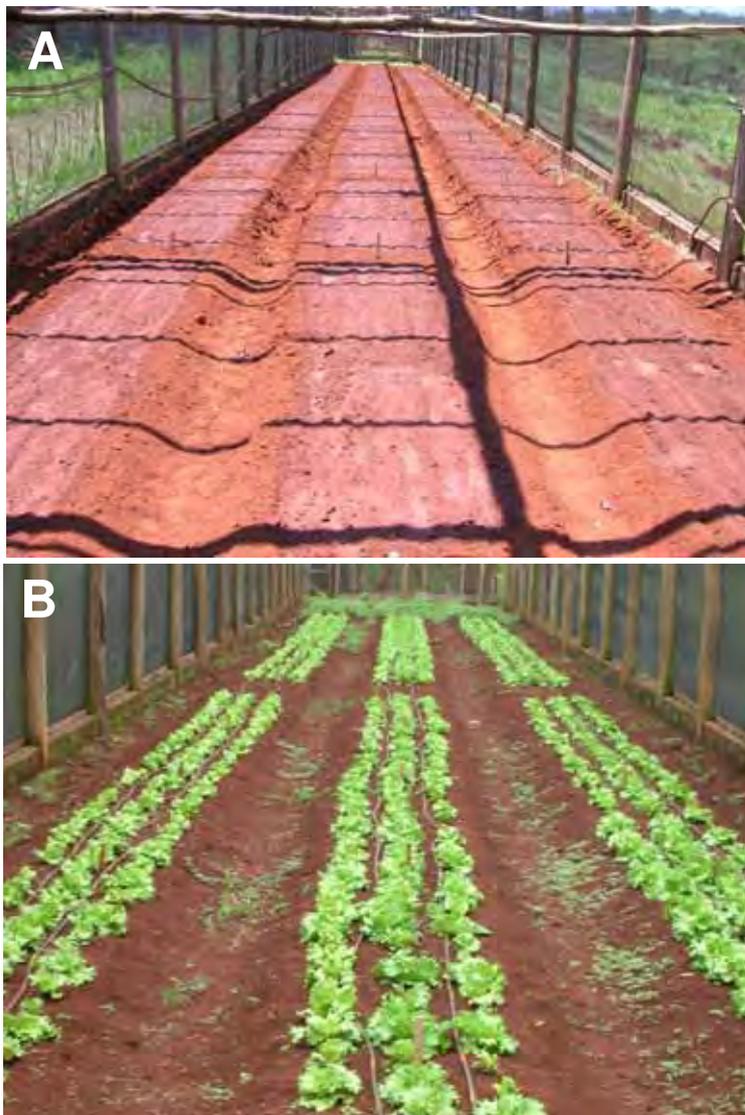


Figura 5. Experimento em estufa, do Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, para a avaliação da eficácia do manejo de nematóides em alface cv. Lucy Brown com o extrato pirolenhoso Biopiról®. A) Solo preparado e demarcação das parcelas com aplicação posterior do produto. B) Vista geral do experimento próximo à colheita.

Imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, após a demarcação das 30 parcelas de 1 x 4 m (4 m²) foi coletada uma amostra composta de solo de cada uma delas, à profundidade de até 20 a 25 cm, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras de solo (JENKINS, 1964), cujas análises prévias revelaram, em média, a presença de 166,4 juvenis e machos de *R. reniformis* e 20,3 juvenis de segundo estágio de *M. incognita*.

Os dados de análise química do solo da estufa, realizada no Laboratório de Análise de Solo e Planta do Departamento de Solos e Adubos da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Dados da análise química do solo da área da estufa do Departamento de Horticultura da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção da UNESP / FCAV – Câmpus de Jaboticabal - SP.

pH em CaCl ₂	M.O. g/dm ³	P resina mg/dm ³	K	Ca	Mg	H+Al
6,3	27	390	6,6	96	40	18
mmol _c /dm ³						
Micronutrientes mg/dm ³						
B	Cu	Fe	Mn	Zn	S-SO ₄	Al mmol _c /dm ³
0,51	5,2	19,0	36,4	10,5	6	0,0

As concentrações do extrato pirolenhoso testadas foram de 0,0% (tratamento-testemunha), 1,0%; 2,0%; 4,0% e 8,0%, com seis repetições. Cada parcela foi constituída por 03 linhas de alface irrigadas por gotejamento, totalizando 39 plantas/parcela. A aplicação do produto nas respectivas concentrações foi realizada com auxílio de um regador manual, sendo aplicados 7 litros do produto por m²,

totalizando 28 litros/parcela, uma semana antes do plantio. As avaliações da população dos nematóides, massa de matéria fresca da parte aérea e massa de matéria fresca de raízes foram realizadas 42 dias após o plantio e, para tanto, coletaram-se 8 plantas/parcela da linha central. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito do Extrato Pirolenhoso Biopiról[®] sobre a Eclosão de Juvenis de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Tylenchulus semipenetrans* in vitro

A Tabela 4 contém os dados relativos às comparações entre as médias dos números de juvenis de segundo estágio de *M. incognita* eclodidos nas diferentes concentrações do extrato pirolenhoso Biopiról[®], no período de cinco dias de avaliação. Os dados indicam que, no primeiro, segundo e terceiro dias de avaliação, não houve diferenças significativas entre os tratamentos. No quarto e no quinto dias de avaliação, o número de juvenis eclodidos nas concentrações de 1,5 e 2,0% do produto foi significativamente menor que na testemunha (água). No quarto dia, o número de juvenis eclodidos não diferiu entre as concentrações do produto. Entretanto, no quinto dia, o número de juvenis eclodidos na concentração de 2% foi menor que na concentração de 0,5 e 1%, mas não diferiu de 1,5% (Tabela 4).

Os dados relativos à comparação entre as médias dos números de juvenis de *M. javanica* eclodidos nas mesmas concentrações do produto, comparados à eclosão em água, estão inclusos na Tabela 5. No segundo dia de avaliação, não houve diferença entre os números de juvenis eclodidos nas diferentes concentrações quando comparadas com a testemunha. No primeiro, terceiro e quarto dias de avaliação, o número de juvenis eclodidos nas concentrações de 1,5 e 2,0% do produto foi significativamente menor que a testemunha (água). No primeiro dia, o número de juvenis eclodidos na concentração de 2,0% foi menor que nas concentrações de 0,5 e 1,0%, não diferindo da concentração de 1,5%. No terceiro dia, o número de juvenis eclodidos não diferiu entre as concentrações. No quarto dia, os números de juvenis eclodidos nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% não diferiram entre si, diferindo do número de juvenis eclodidos em 0,5%. No quinto dia, os números de juvenis eclodidos

em todas as concentrações diferiram da testemunha. Entretanto, as concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% não diferiram entre si, mas o número de juvenis eclodidos na concentração de 2,0% foi significativamente menor que na de 0,5% (Tabela 5).

Tabela 4. Comparação das médias de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses.

Tratamentos ¹	A1	A2	A3	A4	A5
0,0	1,61 a	1,87 a	2,88 a	2,95 a	3,68 a
0,5	1,90 a	2,30 a	2,02 a	2,10 ab	3,03 ab
1,0	1,61 a	2,04 a	2,23 a	2,23 ab	2,86 ab
1,5	2,35 a	1,61 a	2,04 a	1,61 b	2,04 bc
2,0	1,61 a	1,61 a	1,84 a	1,74 b	1,78 c
Teste F	3,10 ^{NS}	2,21 ^{NS}	2,48 ^{NS}	4,11*	10,22**
DMS (Tukey 5 %)	0,7996	0,8672	1,1141	1,1327	1,0549
CV (%)	20,16	21,05	23,17	24,40	18,04

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = terceiro dia de avaliação; A4 = quarto dia de avaliação; A5 = quinto dia de avaliação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. Dados transformados em DLOG (x + 5,0).

Tabela 5. Comparação das médias de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses.

Tratamentos ¹	A1	A2	A3	A4	A5
0,0	2,68 a	2,39 a	2,80 a	2,74 a	3,43 a
0,5	2,58 ab	1,96 a	2,45 ab	2,49 a	2,46 b
1,0	2,42 ab	2,07 a	2,33 ab	2,13 ab	1,80 bc
1,5	1,97 bc	1,80 a	1,61 b	1,61 b	2,21 bc
2,0	1,61 c	1,98 a	1,78 b	1,61 b	1,61 c
Teste F	8,82**	0,66 ^{NS}	4,63**	12,71**	17,10**
DMS (Tukey 1 %)	0,6601	1,1805	1,0004	0,6258	0,7544
CV (%)	13,42	26,480	20,87	13,54	15,01

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = terceiro dia de avaliação; A4 = quarto dia de avaliação; A5 = quinto dia de avaliação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. Dados transformados em DLOG (x + 5,0).

A Tabela 6 contém os dados relativos às comparações entre as médias dos números de juvenis de segundo estágio de *T. semipenetrans* eclodidos nas diferentes concentrações do extrato pirolenhoso Biopiról[®]. O produto reduziu a taxa de eclosão de *T. semipenetrans* em todas as concentrações, à exceção da menor concentração (0,5 %), no quarto dia da avaliação. No primeiro e quarto dias de avaliação, o número de juvenis eclodidos não diferiu entre as concentrações do produto. Entretanto, no segundo, terceiro e quinto dias de avaliação, os números de juvenis eclodidos nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% não diferiram entre si, tendo sido significativamente menor que na concentração de 0,5% (Tabela 6).

A ação do ácido acético, outro componente do extrato pirolenhoso, sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica* também foi demonstrada por BANSAL et al. (1999). Segundo SALGAGO & CAMPOS (2003), ovos com células e embriões em diversos estádios de desenvolvimento são comumente encontrados nas massas de ovos. Essas diferenças nos estádios de desenvolvimento embrionário podem ser uma das causas prováveis das variações que usualmente se observam nos testes envolvendo o estudo da taxa de eclosão dos nematóides.

KHURMA & SINGH (1997) encontraram efeito tanto na eclosão de J2 de *M. incognita* e de *M. javanica* quanto na mortalidade dos juvenis desses nematóides quando testaram o extrato de sementes de *Sesbania sesban* (L.) Merr.

Tabela 6. Comparação das médias de eclosão de juvenis de *Tylenchulus semipenetrans*, in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses.

Tratamentos ¹	A1	A2	A3	A4	A5
0,0	2,83 a	3,18 a	3,07 a	2,86 a	3,67 a
0,5	2,13 b	2,27 b	2,50 b	2,23 ab	2,36 b
1,0	1,79 b	1,74 c	1,61 c	1,61 b	1,61 c
1,5	1,75 b	1,61 c	1,61 c	1,61 b	1,61 c
2,0	1,71 b	1,61 c	1,61 c	1,61 b	1,61 c
Teste F	12,01**	85,21**	39,78**	10,69**	112,81**
DMS (Tukey 1 %)	0,5948	0,3175	0,4685	0,7473	0,3551
CV (%)	13,32	6,98	10,31	17,24	7,49

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = terceiro dia de avaliação; A4 = quarto dia de avaliação; A5 = quinto dia de avaliação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. Dados transformados em DLOG (x + 5,0).

4.2 Efeito do Extrato Pirolenhoso Biopiról[®] na Atividade de Juvenis de Segundo Estádio de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Tylenchulus semipenetrans* in vitro

A Tabela 7 contém os dados relativos aos números de juvenis inativos e ativos de *M. javanica* obtidos no primeiro dia (A1) e no segundo dia (A2) das avaliações, nas concentrações do produto testadas, e o número de galhas que foram formadas por esses juvenis. A variável A3 representa os números de galhas nas raízes de tomateiro formadas pelos juvenis que ficaram um dia expostos ao produto nas diferentes concentrações, contados aos 30 dias após a inoculação, e A4 representa os números de galhas formados pelos juvenis que ficaram dois dias expostos às diferentes concentrações do produto, contados aos 60 dias.

Os dados evidenciam que os números de juvenis inativos, obtidos nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2%, em ambas as avaliações (A1 e A2), foram significativamente maiores que na testemunha, a 1% de probabilidade. Na avaliação em

A1, os números de juvenis inativos nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% não diferiram entre si, entretanto diferiram e foram significativamente maiores que na concentração de 0,5%. Na avaliação em A2, os números de juvenis inativos nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% não diferiram entre si. Entretanto, foram significativamente maiores que na concentração de 0,5%. Nessa concentração, o número de juvenis inativos também não diferiu da concentração de 1%.

Quanto ao número de juvenis ativos, os dados evidenciam que em todas as concentrações do extrato pirolenhoso, em ambas as avaliações (A1 e A2), foi menor que na testemunha (Tabela 7). Na avaliação A1, o número de juvenis ativos foi menor nas concentrações de 1,5 e 2,0%, diferindo estatisticamente das demais, a 1% de probabilidade. Na avaliação A2, o número de juvenis ativos foi menor nas concentrações de 1,5 e 2,0%, não diferindo entre si. Entretanto, a mobilidade dos juvenis na concentração de 1,5% não diferiu da mobilidade dos juvenis na concentração de 1,0%, e a concentração de 1,0% não diferiu da de 0,5% quanto a essa variável.

Quanto ao número de galhas nas raízes de tomateiro, formadas pelos juvenis que foram mantidos um ou dois dias nas diferentes concentrações do produto, avaliados aos 30 ou aos 60 dias após a inoculação, os dados evidenciam que o número de galhas formadas pelos juvenis que foram expostos durante um dia às diferentes concentrações do produto, foi estatisticamente menor que a testemunha, a 1% de probabilidade. Entretanto, na avaliação aos 60 dias, os números de galhas formadas pelos juvenis expostos por dois dias às diferentes concentrações do produto não diferiram da testemunha. Esse fato foi atribuído ao aumento da população do nematóide resultante do ciclo de vida secundário que ocorreu no período. CUADRA et al. (2000) também observaram que o ácido pirolenhoso tinha ação nematicida sobre juvenis de *M. incognita*.

Tabela 7. Comparação das médias de mobilidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* e formação de galhas em raízes de tomateiro, relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses.

Tratamentos ¹	Inativos		Ativos		Número de Galhas	
	A1	A2	A1	A2	A3	A4
0,0	1,61 c	1,61 c	5,99 a	5,38 a	2,69 a	5,33 a
0,5	3,76 b	3,76 b	4,46 b	3,20 b	1,77 b	2,67 a
1,0	5,00 a	4,34 ab	2,75 c	2,47 bc	1,90 b	4,10 a
1,5	4,79 a	4,40 a	1,61 d	1,75 cd	1,74 b	4,02 a
2,0	4,55 a	4,42 a	1,61 d	1,61 d	1,61 b	1,61 a
Teste F	120,60**	82,14**	94,15 **	75,30 **	7,97**	2,34 ^{NS}
DMS (Tukey 1 %)	0,7610	0,7411	0,6243	0,6059	0,6637	4,0965
CV (%)	10,61	11,77	7,250	7,48	15,65	52,90

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação de juvenis inativos; A2 = segundo dia de avaliação de juvenis inativos; A3 = número de galhas formadas pelos juvenis recuperados em A1, aos 30 dias após a inoculação; A4 = número de galhas formadas pelos juvenis recuperados em A2, aos 60 dias após a inoculação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. Dados transformados em DLOG (x + 5).

A Tabela 8 contém os dados relativos aos números de juvenis inativos e ativos de *T. semipenetrans* obtidos no primeiro dia (A1), no segundo dia (A2), no terceiro (A3) e no quarto dia (A4) de avaliações, nas diferentes concentrações do produto testadas.

Quanto ao número de juvenis ativos, os dados evidenciam que, em todas as concentrações do extrato pirolenhoso testadas e em todas as avaliações, os valores dessa variável foram estatisticamente menores que na testemunha, a 1% de probabilidade (Tabela 8). No primeiro dia da avaliação (A1), o número de juvenis ativos foi menor na concentração de 2,0%, diferindo das demais concentrações testadas. Nessa avaliação, o número de juvenis ativos na concentração de 0,5% não diferiu da de 1%, mas ambas diferiram de 1,5%. No segundo dia da avaliação (A2), os números de juvenis ativos nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0% não diferiram entre si, mas diferiram de 0,5%, sendo que os valores dessa variável, na concentração de 0,5%, não

diferiram da de 1%. No terceiro dia (A3) e no quarto (A4), não houve diferença entre as concentrações do produto testadas.

Quanto ao número de juvenis inativos, os dados evidenciam que todas as concentrações do extrato pirolenhoso diferiram estatisticamente da testemunha no primeiro e segundo dias de avaliação, não diferindo entre si. No terceiro dia de avaliação, o número de juvenis inativos foi maior, em todas as concentrações do produto, que na testemunha, sendo que não diferiram entre si, mas as concentrações de 1,5 e 2,0% também não diferiram da testemunha. No quarto dia de avaliação, não houve diferença entre os números de juvenis inativos entre as concentrações do produto e a testemunha (Tabela 8).

Tabela 8. Comparação das médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiroi[®], em diferentes doses, sobre a atividade de juvenis de *Tylenchulus semipenetrans* in vitro.

Tratamentos ¹	A1		A2		A3		A4	
	Inativos	Ativos	Inativos	Ativos	Inativos	Ativos	Inativos	Ativos
0,0	1,61 b	6,39 a	1,61 b	5,47 a	3,70 b	4,43 a	3,44 a	3,68 a
0,5	5,92 a	4,52 b	5,21 a	2,99 b	4,59 a	2,32 b	4,16 a	1,76 b
1,0	5,82 a	3,90 b	5,24 a	2,71 bc	4,72 a	1,61 b	3,98 a	1,78 b
1,5	5,90 a	2,89 c	5,32 a	1,61 c	4,43 ab	1,61 b	3,26 a	1,61 b
2,0	5,63 a	1,61 d	4,93 a	1,61 c	4,47 ab	1,61 b	3,93 a	1,61 b
Teste F	505,76**	79,26 **	161,74**	28,92 **	3,98**	30,99**	3,36**	41,18 **
DMS (Tukey1 %)	0,3664	0,8789	0,5503	1,2825	0,8741	0,9601	0,9169	0,6086
CV (%)	3,37	10,42	5,64	20,40	9,13	18,97	11,17	13,34

¹Concentração do produto Biopiroi[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação de juvenis inativos; A2 = segundo dia de avaliação de juvenis inativos; A3 = terceiro dia de avaliação de juvenis inativos; A4 = quarto dia de avaliação de juvenis inativos. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. Dados transformados em DLOG (x+5).

DIAS et al. (2000) avaliaram o efeito de extrato de hortelã sobre juvenis de *M. incognita* e observaram baixa atividade nematicida, embora tenham registrado, também, efeito nematostático. MAREGGIANI et al. (1997) não observaram atividade nematicida do extrato acetônico de *Mentha* spp. sobre *M. incognita*. Porém, de acordo com

HASEEB et al. (1982), o extrato aquoso de *Mentha viridis* apresentou-se ativo sobre juvenis de *M. incognita*. Segundo ABD-ELGAWAD & OMER (1995), os compostos oxigenados, presentes no óleo essencial carvona, obtidos a partir de espécies de *Mentha*, como *M. spicata* e *M. longifolia*, podem ser parcialmente responsáveis pelo efeito nematicida dessas espécies.

A Tabela 9 contém os dados relativos aos números de juvenis inativos e ativos de *M. javanica* obtidos no primeiro dia (A1) e no segundo dia (A2) das avaliações, nas concentrações do produto testadas, e o número de galhas que foram formadas por esses juvenis. A3 representa os números de galhas nas raízes de tomateiro formadas pelos juvenis que ficaram um dia expostos ao produto nas diferentes concentrações, contados aos 30 dias após a inoculação, e A4 representa os números de galhas formados pelos juvenis que ficaram dois dias expostos às diferentes concentrações do produto, contados aos 60 dias. Os dados evidenciam que os números de juvenis inativos, obtidos nas concentrações de 1, 1,5 e 2%, em ambas as avaliações (A1 e A2), diferiram da testemunha, a 1% de probabilidade, mas não diferiram entre si. A concentração de 0,5% do produto não diferiu da testemunha em nenhuma das avaliações (A1 e A2) quanto à inativação dos juvenis.

Quanto ao número de juvenis ativos, os dados evidenciam que todas as concentrações do extrato pirolenhoso, em ambas as avaliações (A1 e A2), diferiram da testemunha, a 1% de probabilidade, mas não diferiram entre si no segundo dia de avaliação (A2), com exceção da concentração de 0,5%, que diferiu das demais no primeiro dia de avaliação (A1).

Quanto ao número de galhas nas raízes de tomateiro, formadas pelos juvenis inoculados, os dados evidenciam que nem todos os juvenis inativos estavam mortos, uma vez que, inoculados nas raízes do tomateiro, após a exposição ao produto, ainda formaram galhas, embora em número muito reduzido.

Tabela 9. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* in vitro.

Tratamentos ¹	Nº. de juvenis inativos		Nº. de juvenis ativos		Nº. de galhas nas raízes de tomateiro	
	A1	A2	A1	A2	A3	A4
0,0	0,0 c	0,0 b	397,65 a	221,65 a	17,00 a	690,75 a
0,5	36,30 bc	37,25 ab	91,65 b	22,25 b	0,75 b	78,00 b
1,0	129,20 a	74,82 a	11,90 c	7,45 b	1,25 b	110,00 b
1,5	77,70 ab	65,00 a	0,00 c	0,90 b	1,00 b	138,75 b
2,0	89,60 ab	76,40 a	0,00 c	0,00 b	0,50 b	27,00 b
Teste F	8,30**	6,94**	220,76**	33,39**	4,58**	21,35**
DMS(Tukey1%)	75,5545	53,7342	50,1786	72,6901	14,7386	257,7593
CV (%)	51,95	48,51	22,91	65,94	164,52	56,47

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = número de galhas formadas pelos juvenis recuperados em A1, aos 30 dias após a inoculação; A4 = número de galhas formadas pelos juvenis recuperados em A2, aos 60 dias após a inoculação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

Na avaliação dos números de galhas formados pelos juvenis que ficaram um dia expostos às diferentes concentrações de Biopiról[®] e que foram avaliados aos 30 dias após a inoculação (A3), e os números das que foram formadas pelos que ficaram dois dias expostos às diferentes concentrações do produto e que foram avaliadas aos 60 dias (A4), eles não diferiram entre si, mas diferiram da testemunha, a 1% de probabilidade, denotando a ação deletéria do produto sobre os juvenis dos nematóides. Na avaliação dos números de galha aos 60 dias, deve ser considerado que, provavelmente, muitas dessas galhas foram formadas por juvenis oriundos da reprodução dos que penetraram inicialmente, já que o ciclo de vida do nematóide tem duração média de 30 dias (FERRIS & FERRIS, 1998).

Avaliando diferentes extratos e produtos naturais sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua*, em câmaras de eclosão, SALGADO & CAMPOS (2003) observaram que o soro do leite e os extratos de canela, fermento biológico e cloreto de sódio causaram 100 % de mortalidade após 24 h do contato dos J2 com os extratos. Mortalidade acima de 50% também ocorreu nos extratos de cravo-da-índia e no probiótico. Com relação à eclosão, entre todos os extratos e produtos testados, a maior inibição ocorreu no soro do leite, probiótico Controlmix®, em canela e em cravo-da-índia.

STEFFEN (2007), testando dez diferentes óleos essenciais de plantas medicinais in vitro sobre *M. graminicola*, patógeno de arroz, observou que todos os óleos reduziram a eclosão de juvenis de segundo estágio do nematóide, de 16 – 48% em relação à testemunha.

4.3 Eficácia do Extrato Pirolenhoso Biopiroi® no Manejo de Populações de Nematóides em Cana-de-Açúcar a Campo

Em relação ao estudo da eficácia do extrato pirolenhoso BiopiroiL® no manejo da população de *Pratylenchus zae* em cana, a campo, a comparação entre as médias evidenciou que o tratamento-padrão com Furandan 350 SC foi significativamente mais eficaz em reduzir a população do nematóide, apenas em relação à menor concentração do produto (0,5%), mas não diferiu das demais concentrações de extrato pirolenhoso nem mesmo da testemunha, aos 30 dias após a aplicação. As diferentes concentrações do extrato pirolenhoso também não diferiram entre si nem da testemunha. Aos 60 e aos 90 dias após a aplicação, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 10). Contudo, ROSSI & LIMA (2007), estudando a eficácia de *Metarhizium* sp., óleo de Nim a 3% e Biopiro a 5%, concluíram que esses produtos tinham efeito supressor sobre as densidades populacionais de *Pratylenchus* sp. e *Meloidogyne* sp.. Para os nematóides oriundos do solo, óleo de Nim a 3% foi o tratamento com menor média para *Pratylenchus* sp. e *Beauveria* sp., Biopiro a 5% e torta de Nim, para *Meloidogyne* sp.

Todos esses diferiram de Biopiro plus a 3% e a 5%, mas não observaram diferenças significativas entre as médias de densidades populacionais de *Helicotylenchus* sp. Também não observaram diferenças para a produtividade da cana, entre os tratamentos, em que pesem as afirmações de BRIDGE (1996), dando conta de que a torta de Nim apresenta propriedades nematicidas.

Tabela 10. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso BiopiroI[®], em diferentes doses, sobre o manejo de populações de *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar, a campo, aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação do produto.

Tratamentos ¹	30 DAP	60 DAP	90 DAP
0,0	2,5670 ab	1,6094 a	1,6094 a
0,5	3,1860 a	1,6094 a	1,7074 a
1,0	2,4510 ab	1,6094 a	1,6094 a
2,0	2,5422 ab	1,6398 a	1,6094 a
4,0	2,5484 ab	1,6094 a	1,6094 a
carbofuran (Furadan 350 SC) ♦	2,2665 b	1,6094 a	1,6094 a
Teste F	2,23*	1,00 ^{NS}	1,00 ^{NS}
DMS (Tukey 5%)	0,9075	0,0540	0,1742
CV (%)	19,68	1,88	6,03

¹Concentração do produto BiopiroI[®] em porcentagem. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. NS = Não-significativo. ♦ 6,0 L /ha. DAP = Dias após a aplicação. Dados transformados em DLOG (X + 1).

Com relação ao estudo do extrato pirolenhoso BiopiroL[®] no manejo da população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* sp., em cana-de-açúcar, a campo, a comparação entre as médias evidenciou que nenhuma das concentrações do BiopiroI[®] diferiu estatisticamente da testemunha (água) nem do controle químico (Furadan 350 SC), aos 30 e 60 dias após a aplicação do produto. Aos 90 dias após a aplicação, a comparação entre as médias evidenciou que a concentração de 2,0% de BiopiroI[®] diferiu, a 5 % de probabilidade, da testemunha, não diferindo das demais concentrações

do produto nem do controle químico (Furadan 350 SC), conforme os dados da Tabela 11.

Tabela 11. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso BiopiroL[®], em diferentes doses, sobre o manejo de populações de *Meloidogyne* sp. em cana-de-açúcar, a campo, aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação do produto.

Tratamentos ¹	30 DAP	60 DAP	90 DAP
0,0	1,81 a	2,04 a	2,27 a
0,5	1,60 a	1,77 a	2,07 ab
1,0	1,60 a	1,85 a	2,00 ab
2,0	1,61 a	1,64 a	1,61 b
4,0	1,61 a	1,64 a	1,77 ab
carbofuran (Furadan 350 SC) ♦	1,61 a	1,64 a	1,81 ab
Teste F	1,0 NS	1,49 NS	2,94*
DMS (Tukey 5%)	0,3627	0,5811	0,6031
CV (%)	12,41	18,52	17,66

¹Concentração do produto BiopiroL[®] em porcentagem. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. NS = Não-significativo. ♦ 6,0 L/ha. DAP = Dias após a aplicação. Dados transformados em DLOG (X + 1).

4.4 Eficácia do Extrato Pirolenhoso BiopiroL[®] no Manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em Citros a Campo

Em relação ao estudo da eficácia do extrato pirolenhoso BiopiroL[®] no manejo de *Tylenchulus semipenetrans*, a campo, a comparação entre as médias evidenciou que as concentrações de BiopiroL[®] não diferiram estatisticamente da testemunha (água) nem do controle químico com Aldicarb, em nenhum dos intervalos de avaliação (Tabelas 12 - 14).

Tabela 12. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em citros, a campo, aos 30 dias após a aplicação do produto.

Tratamentos ¹	Nº de espécimes no solo (100 cm ³)	Nº de espécimes nas raízes (10 g)	Nº de ovos nas raízes (10 g)
0,0	5,56 a	3,04 a	6,86 a
1,0	5,39 a	4,21 a	6,75 a
2,0	4,31 a	4,39 a	7,14 a
4,0	5,22 a	2,25 a	6,45 a
8,0	4,41 a	2,03 a	6,63 a
aldicarb (Temik 150 G) ♦	4,86 a	2,48 a	6,59 a
Teste F	0,62 ^{NS}	1,62 ^{NS}	1,01 ^{NS}
DMS (Tukey 5%)	3,2609	3,9083	1,1945
CV (%)	23,20	44,95	6,25

¹Concentrações do produto Biopiról[®] em porcentagem. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. NS = Não-significativo. ♦ = 130 g do p.c./árvore. Dados transformados em DLOG (X + 1).

Tabela 13. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em citros, a campo, aos 60 dias após a aplicação do produto.

Tratamentos ¹	Nº de espécimes no solo (100 cm ³)	Nº de espécimes nas raízes (10 g)	Nº de ovos nas raízes (10 g)
0,0	1,64 a	6,08 a	7,97 a
1,0	3,75 a	5,96 a	5,97 a
2,0	5,38 a	5,99 a	7,73 a
4,0	1,92 a	5,47 a	7,63 a
8,0	6,05 a	5,58 a	7,16 a
aldicarb (Temik 150 G) ♦	1,92 a	5,48 a	7,70 a
Teste F	1,65 ^{NS}	1,62 ^{NS}	1,94 ^{NS}
DMS (Tukey 5%)	7,3243	3,9083	0,9783
CV (%)	74,90	44,95	5,99

¹Concentrações do produto Biopiról[®] em porcentagem. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. NS = Não-significativo. ♦ = 130 g do p.c./árvore. Dados transformados em DLOG (X + 1).

Tabela 14. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de *Tylenchulus semipenetrans* em citros, a campo, aos 90 dias após a aplicação do produto.

Tratamentos ¹	N° de espécimes no solo (100 cm ³)	N° de espécimes nas raízes (10 g)	N° de ovos nas raízes (10 g)
0,0	2,33 a	6,19 a	7,24 a
1,0	3,18 a	6,21a	5,86 a
2,0	3,50 a	6,77 a	7,04 a
4,0	4,64 a	5,85a	6,92 a
8,0	3,81 a	3,62 a	6,12 a
aldicarb (Temik 150 G) ♦	3,15 a	2,42 a	7,34 a
Teste F	0,34 ^{NS}	1,60 ^{NS}	0,90 ^{NS}
DMS (Tukey 5%)	6,5019	6,7388	3,1543
CV (%)	66,7400	45,9200	16,4700

¹Concentrações do produto Biopiról[®] em porcentagem. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. NS = Não-significativo. ♦ = 130 g do p.c./árvore. Dados transformados em DLOG (X + 1).

REDDY et al. (1991), em estudos utilizando torta de mamona (*Ricinus communis* L.), torta de karanj (*Pongamia pinnata* L.) Pierre e torta de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) a 20 g por planta e 8 g de sementes de arroz colonizadas por *Paecilomyces lilacinus* (Thorn), por planta, observaram a máxima redução na população de *T. semipenetrans* na rizosfera de plantas cítricas com a combinação de neem + *P. lilacinus*. A menor redução na população do nematóide nas raízes foi obtida com óleo de mamona + *P. lilacinus*.

REDDY et al. (1996), utilizando óleo de mamona (*R. communis*), óleo de karanj (*P. pinnata*) e óleo de neem (*A. indica*), nas doses de 20 ou 40 g por vaso, contendo 2

kg de solo, com 2 ou 4 g de semente de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) colonizadas por *Trichoderma harzianum* Rifai, observaram que o óleo de mamona + *T. harzianum*, na dose de 20 g + 2 g, respectivamente, provocaram a máxima redução na população de *T. semipenetans*.

A utilização de produtos, tais como o extrato pirolenhoso, no entanto, deve ser acompanhada de cuidados especiais. Com efeito, segundo ZANETTI (2004), a presença do extrato pirolenhoso na solução de micronutrientes não interferiu na concentração foliar de Cu e Mn, observando também que as plantas pulverizadas com soluções contendo extrato pirolenhoso (1 a 10 cm³ dm⁻³) + micronutrientes apresentaram menor teor de Fe e maior teor de Ca no sistema radicular.

4.5 Eficácia do Extrato Pirolenhoso BIOPIROL[®] no Manejo de Populações de *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita* em Alface sob Cultivo Protegido

Os dados relativos à eficácia do extrato pirolenhoso Biopiról[®] no manejo da população de nematóides, em alface, estão inclusos na Tabela 15. Entre todas as variáveis analisadas, foi observada diferença significativa entre os tratamentos apenas em relação à estimativa da população de *M. incognita* nas raízes. Com efeito, a média da estimativa da população do nematóide na concentração de 8% do produto foi significativamente menor que as de 4 e 1%. Entretanto, não diferiu da testemunha nem de 2%, sugerindo que diferenças tão pouco pronunciadas, entre os tratamentos, podem advir mais da distribuição espacial irregular da população dos nematóides no solo do que da própria ação direta do produto (Tabela 13). Contudo, GONÇALVES (2001), estudando a ação do ácido pirolenhoso no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro, cultivar Jéssica, verificou que, quando se utilizou o ácido pirolenhoso em diluição de 1:50, obteve-se o controle desse nematóide quando comparado com a testemunha.

Tabela 15. Comparação entre as médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses, sobre o manejo de populações de *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita* em alface, sob cultivo protegido, aos 42 dias após a aplicação do produto.

Tratamentos ¹	MMFA	MMFR	RS (100 cm ³)	RR (10 g)	MiS (100 cm ³)	MiR (10 g)	NOR (10 g)
0,0	1,15 a	0,06 a	3,85 a	3,92 a	1,92 a	2,79 ab	3,91 a
1,0	1,43 a	0,06 a	3,88 a	3,48 a	1,77 a	4,29 a	4,17 a
2,0	1,28 a	0,06 a	3,82 a	3,76 a	1,61 a	2,66 ab	3,42 a
4,0	1,38 a	0,06 a	3,77 a	4,30 a	1,77 a	3,49 a	3,77 a
8,0	1,27 a	0,06 a	3,20 a	3,51 a	1,61 a	1,71 b	3,03 a
Teste F	0,33 NS	0,25 NS	0,61 NS	0,73 NS	0,66 NS	5,96**	1,11 NS
DMS (1%)	0,8090	0,0214	1,5282	1,6620	0,6877	1,6734	1,7780
CV (%)	36,00	20,53	23,90	25,38	22,94	32,44	28,13

¹ Concentrações do produto Biopiról[®] em porcentagem. MMFA = Massa de matéria fresca da parte aérea (média de 8 plantas). MMFR = Massa de matéria fresca das raízes (média de 8 plantas). RS = estimativa da população de *Rotylenchulus reniformis* no solo. RR = estimativa da população de *R. reniformis* nas raízes. MiS = estimativa da população de *Meloidogyne incognita* no solo. MiR = estimativa da população de *M. incognita* nas raízes. NOR = número de ovos dos nematóides nas raízes. Dados transformados em DLOG (x + 5). As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. NS = não-significativo a 1% de probabilidade.

V. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo dão suporte às seguintes conclusões:

- 1) O extrato pirolenhoso Biopiról[®] reduz a eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita*, de *M. javanica* e de *Tylenchulus semipenetrans* in vitro.
- 2) O extrato pirolenhoso Biopiról[®], em condições controladas, reduz a formação de galhas formadas por *Meloidogyne incognita* e por *M. javanica* em raízes de tomateiro.
- 3) O extrato pirolenhoso Biopiról[®], nas concentrações de até 4%, não foi eficaz para a redução da população de *Pratylenchus zae* e *Meloidogyne* sp. em cana-de-açúcar, a campo, e na redução da população de *Tylenchulus semipenetrans* em laranjeira “Natal” enxertada sobre limoeiro-cravo, a campo.
- 4) O extrato pirolenhoso Biopiról[®], nas concentrações de até 8%, não foi eficaz para a redução da população de *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita* em alface ‘Lucy Brown’, em ambiente protegido.

VI. REFERÊNCIAS

ABD-ELGAWAD, M. M.; OMER, E. A. Effect of essential oils of some medicinal plants on phytonematodes. **Anzeiger für Schädlingskunde**. Jahrgang, v. 68, n. 1, p. 82-84, 1995.

ALVES, M. **Impactos na utilização de fino de carvão e extrato pirolenhoso na agricultura**. 2006. 43 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

BANSAL, R. K. et. al. Evaluation of various microbial metabolites on *Meloidogyne javanica*. In: NATIONAL SYMPOSIUM ON RATIONAL APPROACHES IN NEMATODE MANAGEMENT FOR SUSTAINABLE AGRICULTURE, 1999, Anand. **Proceedings...** p.130-132, 1999.

BRIDGE, J. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. **Annual Review Phytopathology**, v. 34, p. 201-225, 1996.

CAMPOS, V. P.; CAMPOS, J. R.; SILVA, L. H. C. P.; DUTRA, M. R. Manejo de nematóides em hortaliças. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. p.125-158.

CHARCHAR, J. M; MOITA, A. W. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.14, n. 2, p. 185-189, 1996.

CLIFF, G. M.; HIRSCHMANN, H. Evaluation of morphological variability in *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, Laurence, v.17, p.445-449, 1985.

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

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 2002. 44 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, FCAV, UNESP, Jaboticabal, 2002.

CUADRA, R. et al. Algunos compuestos naturales com efecto nematocida. **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v. 24, n.15, p.31-37, 2000.

DIAS, C. R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 203-210, 2000.

DINARDO MIRANDA, L. L. **Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *Pratylenchus zae* (Nemata, Pratylenchidae) a duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.)**. 1990 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

DINARDO MIRANDA, L. L. Nematóides e pragas de solo em cana-de-açúcar. Encarte do informações agrônômicas, 110. Disponível em: <[http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/\\$FILE/Enc25-32-110.pdf](http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/$FILE/Enc25-32-110.pdf)> Acesso em: 15, jun., 2005.

ESECHIE, H. A. et al. Assessment of pyroligneous liquid as a potential organic fertilizer. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON ECOLOGICAL AGRICULTURE: TOWARDS

SUSTAINABLE DEVELOPMENT, Muscat. **Proceedings...** Chandigarh: Centre for Research in Rural and Industrial Development, 1998. v.1, p.591-595.

FERRIS, J. M.; FERRIS, V. R. Biology of Plant-Parasitic Nematodes. In: BARKER, K.R.; PEDERSON, G.A.; WINDHAM, G.L. **Plant and nematode interaction: Vistas on nematology.** Madison: American Society of Agronomy, 1998. p.21-35.

FIORINI, C. V. A. et al. Avaliação de populações F² de alface quanto à resistência aos nematóides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p 299-302, 2005.

FURTADO, G R. et al. Efeito do ácido pirolenhoso in vitro sobre isolados de *Botrytis cinerea*, *Cylindrocladium clavatum* e *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, sup., p. 112, 2002.

GOMES, L. A. A. et al. Resistência de cultivares de alface à infecção por *Meloidogyne incógnita* (raças 1, 2, 3). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37, 1997, Manaus. **Anais...** Manaus: SOB, 1997.

GOMES, L. A. A. **Herança da resistência de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. *Grand Rapids* ao nematóide de galhas *Meloidogyne incógnita* (Kofoid & White) Chitwood.** 1999. 70 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

GONÇALVES, R.R. **O uso do ácido pirolenhoso no controle de *Meloidogyne incognita* no tomateiro (*Lycopersicon esculentum*).** 2001. 24f. Monografia (Disciplina de Extensão Rural) – Escola Superior de Agricultura e Ciências, Machado, 2001.

GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas dos citros. **Laranja**, n. 5, p. 323-362, 1984.

ICHIKAWA, T.; OTA, Y. Effect of pyroligneous acid on the growth of rice seedlings. **Japanese Journal of Crop Science**, Miyazaki, v.51, p.14-17, 1998.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reportes**, St. Paul, v. 48, p. 692-695, 1964.

KHURMA, U. R.; SINGH, A. Nematicidal potential of seed extracts: in vitro effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v.25, p.49-54, 1997.

MAEKAWA, K. **Curso sobre produção de carvão, extrato pirolenhoso e seu uso na agricultura**: apostila. APAN – Associação dos produtores de Agricultura Natural, 2002.

MAREGGIANI, G. et al. *In vitro* activity of natural plant products on *Meloidogyne incognita* larvae (Nematode: Meloidogynidae). **Revista de la Facultad de Agronomia**, Maracay, v.16, p.141-145, 1997.

MAQBOOL, M. A.; HASHMIN, S. Effect of granular nematicidas on nematode populations and sugarcane yield. **Revue de Nématologie**, Paris, v. 10, p. 111-113, 1987.

MELO, R. M. et al. Estudo da atividade antimicrobiana do licor pirolenhoso em bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Serratia*. **Faminas**, Muriaé, v. 3, n.1, p. 46, 2007. Suplemento, 1.

MENDES, W. P. **Hospedabilidade e resistência de cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) aos nematóides das galhas *Meloidogyne incognita* (raças 1, 3 e 4) e**

Meloidogyne javanica. 1998. 43 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

MIYASAKA, S.; OHKAWARA, T.; KUNIO, N. **Derivados de carvão vegetal, extrato pirolenhoso e fino de carvão na agricultura natural**: apostila. Miyazaki: APAN, 2001.

MIYASAKA, S. et al. Técnicas de produção e uso do Fino de Carvão e Licor Pirolenhoso In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS: CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS, 1., 2001, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: FCA, 2001. p. 161-176.

MOURA, R. M.; ALMEIDA, A. V. Estudos preliminares sobre a ocorrência de fitonematóides associados à cana-de-açúcar em áreas de baixa produtividade agrícola no Estado de Pernambuco. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA, 5, 1981, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1981. p. 213-220.

NOVARETTI, W. R. T. et al. R. Contribuição ao estudo dos nematóides que parasitam a cana-de-açúcar em São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Nematologia**, Piracicaba, v. 1, p. 27-32, 1974.

REDDY, P .P.; KHAN, R. M.; RAO, M. S. Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cakes and *Paecilomyces lilacinus*. **Afro Asian Journal of Nematology**, Herts, v.1, n. 1, p. 221-222, 1991.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Integrated management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* using pesticides and parasitic fungus, *Paecilomyces lilacinus*. **Pest Management in Horticultural Ecosystemsn**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 61-63, 1996.

ROSSI, C. E.; LIMA, C. B. Controle alternativo de nematóides em cultura orgânica de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 1545-1548, 2007.

SAIGUSA, T. **Aplicação de extrato pirolenhoso na agricultura**: apostila APAN – Associação dos Produtores de Agricultura Natural, 2002.

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, H.S. **Efeitos de sistemas de manejo do solo e de métodos de plantio na produção de alface (*Lactuca sativa* L.) em abrigo com solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica***. 1995. 88f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

SANTOS, J. M.; CAMPOS, A. S.; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Nematóide dos citros. In: JUNIOR, D. M. et al. (Ed.). **Citros**, Cordeirópolis, 2006. p. 607-625.

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A world perspective on nematology: the role of society. In: VEECH, A.J.; DICKSON, W.D. **Vistas on nematology**, DeLeon Springs: Society of Nematologists, 1987. p.7-14.

SHIRAKAWA, N.; FUKAZAWA, M.; TERADA, S. Studies on the pyroligneous acid IV. Plant physiological activities of several main components in pyroligneous acid. **Japanese Journal of Crop Science**, Miyazaki, v.62, p.168-89, 1993.

SILVA, R. M.; et al. Estudo da atividade antimicrobiana do licor pirolenhoso sobre bactérias dos gêneros *E. coli* e *Klebsiella*. **FAMINAS**, Muriaé, v. 3, n. 1, p. 46, 2007. Suplemento, 1.

SPAULL, V. W.; CADET, P. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: C.A.B. International Institute of Parasitology, 1990. p. 461-491.

SOUTHEY, J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. London: Ministry of Agriculture and Food, 1970. 148 p.

SOUZA, F.B.de; MIYAZAWA, M. Avaliação do ácido pirolenhoso na mineralização do nitrogênio dos resíduos orgânicos no solo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29,, 2006, Águas de Lindóia. **Resumos...**

STEFFEN, R.B. **Caracterização, controle alternativo e reprodução de *Meloidogyne graminicola* em cultivares de arroz irrigado submetidos a diferentes regimes de umidade**. 2007. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo): Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

TSUZUKI, E. et al. Effect of Pyroligneous Acid and Mixture of Charcoal with Pyroligneous Acid on the Growth and Yield of Rice Plant . **Japan Journal Crop Science**, Miyazaki, v.58, p.592-597, 1989.

UDDIN, S. M. M. et al. Effect of Mixture of Charcoal with Pyroligneous Acid on cane and sugar yield of spring and ratoon crops of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Japan Journal Crop Science**, Kagoshima, v.38, n.4, p.281-285, 1994.

UDDIN, S. M. M. et al. Effect of the Mixture of Charcoal with Pyroligneous Acid on dry matter production and root growth of summer planted sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Japan Journal Crop Science**, Okinawa, v.64, n.4, p.747-53, 1995.

ZANETTI, M. **Uso de sub-produtos da fabricação de carvão vegetal na formação do porta-enxerto de limoeiro cravo em ambiente protegido.** 2004. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004

APÊNDICE A

Apêndice A. Comparação das médias de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses*.

Tratamentos ¹	A1	A2	A3	A4	A5
0,0	0,00 a	2,30 a	14,05 a	16,75 a	41,45 a
0,5	2,80 a	5,90 a	2,85 ab	4,20 a	17,15 ab
1,0	0,00 a	3,45 a	6,20 ab	7,05 a	13,25 b
1,5	6,70 a	0,00 a	3,45 ab	0,00 a	3,40 b
2,0	0,00 a	0,00 a	1,85 b	0,85 a	1,20 b
Teste F	2,48 ^{NS}	2,00 ^{NS}	3,34 [*]	2,76 ^{NS}	6,69 ^{**}
DMS (Tukey 5 %)	8,1685	7,7113	11,8313	17,7447	27,1391
CV (%)	196,76	151,47	95,33	140,75	81,23

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = terceiro dia de avaliação; A4 = quarto dia de avaliação; A5 = quinto dia de avaliação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. *Dados originais não-transformados.

APÊNDICE B

Apêndice B. Comparação das médias de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses*.

Tratamentos ¹	A1	A2	A3	A4	A5
0,0	9,80 a	7,10 a	14,80 a	11,25 a	28,05 a
0,5	8,55 a	3,90 a	6,65 ab	7,90 ab	6,95 b
1,0	6,75 ab	3,95 a	6,25 ab	3,75 ab	1,40 b
1,5	2,85 ab	1,40 a	0,00 b	0,00 b	4,85 b
2,0	0,00 a	2,75 a	1,20 b	0,00 b	0,00 b
Teste F	5,87 ^{**S}	0,66 ^{NS}	5,03 ^{**}	6,41 ^{**}	9,85 ^{**}
DMS (Tukey 1 %)	7,3612	11,3729	11,3953	8,5504	15,8803
CV (%)	60,27	136,26	90,23	85,44	88,10

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = terceiro dia de avaliação; A4 = quarto dia de avaliação; A5 = quinto dia de avaliação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. *Dados originais não-transformados.

APÊNDICE C

Apêndice C. Comparação das médias de eclosão de juvenis de *Tylenchulus semipenetrans*, in vitro, relativa ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiról[®], em diferentes doses*.

Tratamentos ¹	A1	A2	A3	A4	A5
0,0	12,15 a	19,20 a	18,20 a	14,65 a	35,40 a
0,5	3,95 b	4,75 b	7,40 b	5,25 ab	5,75 b
1,0	1,10 b	0,85 bc	0,00 b	0,00 b	0,00 b
1,5	0,95 b	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
2,0	0,65 b	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Teste F	18,30**	76,77**	11,51**	5,99**	38,07**
DMS (Tukey 1 %)	4,98	4,0893	10,2820	11,4020	10,9015
CV (%)	60,62	37,73	91,91	131,11	60,62

¹Concentração do produto Biopiról[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação; A2 = segundo dia de avaliação; A3 = terceiro dia de avaliação; A4 = quarto dia de avaliação; A5 = quinto dia de avaliação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. *Dados originais não-transformados.

APÊNDICE D

Apêndice D. Comparação das médias de mobilidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* e formação de galhas em raízes de tomateiro, relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopirol[®], em diferentes doses*.

Tratamentos ¹	Inativos		Ativos		Número de Galhas	
	A1	A2	A1	A2	A3	A4
0,0	0,00 c	0,00 b	397,57 a	221,65 a	11,50 a	535,25 a
0,5	40,35 bc	39,75 ab	91,65 b	22,25 b	1,00 b	85,00 ab
1,0	154,00 a	75,05 a	11,90 c	7,45 b	1,75 b	129,75 ab
1,5	117,25 a	81,10 a	0,00 c	0,90 b	0,75 b	134,50 ab
2,0	90,40 ab	78,85 a	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Teste F	14,09**	10,85**	220,10 **	33,39 **	6,08**	4,04 *
DMS (Tukey 1 %)	71,1579	46,4879	50,2436	72,6901	8,4906	451,2832
CV (%)	40,51	38,72	22,94	65,94	129,53	116,75

¹Concentração do produto Biopirol[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação de juvenis inativos; A2 = segundo dia de avaliação de juvenis inativos; A3 = número de galhas formadas pelos juvenis recuperados em A1, aos 30 dias após a inoculação; A4 = número de galhas formadas pelos juvenis recuperados em A2, aos 60 dias após a inoculação. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

*Dados originais não-transformados.

APÊNDICE E

Apêndice E. Comparação das médias relativas ao efeito do extrato pirolenhoso Biopiro[®], em diferentes doses, sobre a atividade de juvenis de *Tylenchulus semipenetrans* in vitro*.

Tratamentos ¹	A1		A2		A3		A4	
	Inativos	Ativos	Inativos	Ativos	Inativos	Ativos	Inativos	Ativos
0,0	0,00 b	590,20 a	0,00 b	236,05 a	37,85 a	84,25 a	29,70 a	37,35 a
0,5	371,95 a	109,65 b	187,95 a	26,40 b	97,50 a	9,00 b	63,20 a	1,00 b
1,0	343,40 a	44,60 bc	188,15 a	11,30 b	114,40 a	0,00 b	53,20 a	1,25 b
1,5	360,90 a	13,85 c	201,35 a	0,00 b	87,25 ab	0,00 b	22,50 a	0,00 b
2,0	275,00 a	0,00 c	137,50 a	0,00 b	85,25 ab	0,00 b	46,75 a	0,00 b
Teste F	30,95**	133,59 **	14,88**	58,00 **	2,44 ^{NS}	18,21**	2,92 ^{NS}	17,60**
DMS (Tukey1 %)	122,2946	94,0559	94,6908	58,4847	79,7758	37,7650	42,8618	7,1474
CV (%)	20,71	28,38	30,31	48,89	43,23	92,67	45,55	99,09

¹Concentração do produto Biopiro[®] em porcentagem. A1 = primeiro dia de avaliação de juvenis inativos; A2 = segundo dia de avaliação de juvenis inativos; A3 = terceiro dia de avaliação de juvenis inativos; A4 = quarto dia de avaliação de juvenis inativos. As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. *Dados originais não-transformados.