



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



LAIS FERNANDA FONTANA

**EFEITOS DE DERIVADOS BOTÂNICOS SOBRE *Meloidogyne incognita* E
*Meloidogyne enterolobii***

Botucatu

2017

LAIS FERNANDA FONTANA

**EFEITOS DE DERIVADOS BOTÂNICOS SOBRE *Meloidogyne incognita* E
*Meloidogyne enterolobii***

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

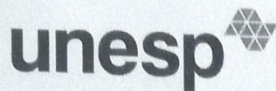
Fontana, Lais Fernanda, 1989-
F679e Efeitos de derivados botânicos sobre *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* / Lais Fernanda Fontana. - Botucatu : [s.n.], 2017
66p.: il., color., grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
Orientador: Silvia Renata Siciliano Wilcken
Inclui bibliografia

1. Tomate - Doenças e pragas - Controle. 2. Nematoda em plantas - Controle. 3. *Meloidogyne*. 4. Extratos vegetais. I. Wilcken, Silvia Renata Siciliano. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III Título.

Elaborada por Maria Lúcia Martins Frederico - CRB-8:5255

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



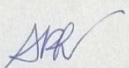
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

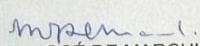
TÍTULO DA TESE: EFEITOS DE DERIVADOS BOTÂNICOS SOBRE *Meloidogyne incognita* E *Meloidogyne enterolobii*

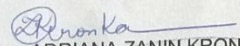
AUTORA: LAIS FERNANDA FONTANA

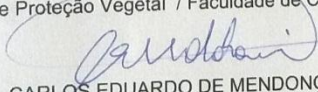
ORIENTADORA: SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

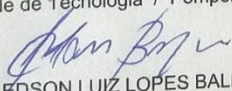
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN
Departamento de Proteção Vegetal / FCA / UNESP - Botucatu/SP


DRa MARIA JOSÉ DE MARCHI GARCIA
- / APTA - REGIONAL CENTRO OESTE


Prof. Dra. ADRIANA ZANIN KRONKA
Depto de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP


Prof. Dr. CARLOS EDUARDO DE MENDONÇA OTOBONI
Faculdade de Tecnologia / Pompeia/SP


Prof. Dr. EDSON LUIZ LOPES BALDIN
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Botucatu, 03 de outubro de 2017

Aos meus maravilhosos pais e irmão,
que são meus anjos em vida.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de crescimento pessoal e intelectual;

Ao plano espiritual, por me inspirar e guiar nos momentos de dúvidas e incertezas;

À minha mãe, Edianete, que mesmo nas horas mais difíceis manteve firmemente a vontade incessante de escolarizar os filhos;

Ao meu pai, Enio, que nunca deixou de acreditar nas minhas escolhas. Sou infinitamente grata aos meus amáveis pais, sem o auxílio deles jamais chegaria até aqui;

Ao meu irmão, Bruno, pelo incentivo, auxílio e apoio nas vezes que precisei de sua ajuda;

À Profa. Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken, que acreditou, me auxiliou e orientou. Sou grata pelos seus ensinamentos e sua dedicação, bem como pelo exemplo de profissional;

À Universidade Estadual Paulista —Júlio de Mesquita Filholl (UNESP), Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) e o Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas), que me proporcionaram a oportunidade de alcançar mais um objetivo em minha vida;

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin, pelos ensinamentos e auxílio nas metodologias do trabalho;

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas), por todos os ensinamentos;

Aos meus colegas Érika Cristina Souza Correia, Marylia Gabriella Silva Costa, e amigo Francisco Domingues Neto, que sempre se dispuseram a me ajudar na realização deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Por fim, obrigado a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o sucesso deste trabalho.

Minha eterna gratidão.

“ A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo”

Albert Einstein

RESUMO

O tomateiro (*Solanum lycopersicon* L.) é uma das culturas olerícolas mais expressivas no cenário agrícola brasileiro e mundial, sendo produzido praticamente em todas as regiões geográficas do mundo sob diferentes sistemas e níveis de manejo cultural. A produção desta cultura pode ser reduzida drasticamente pela presença dos nematoides das galhas, principalmente *M. incognita* e recentemente o *M. enterolobii*, devido sua alta agressividade e capacidade de contornar genes de resistência a outros nematoides. O controle destes nematoides é bastante complexo e métodos alternativos de manejo, como a utilização de óleos essenciais e extratos aquosos de plantas têm sido estudados. Desta forma, visando disponibilizar alternativas mais sustentáveis e ao mesmo tempo eficientes para o manejo de *M. incognita* e *M. enterolobii*, avaliou-se inicialmente a bioatividade de 11 espécies vegetais (*Trichilia hirta*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua*, *Trichilia pallida*, *Trichilia casaretti*, *Toona ciliata*, *Melia azedarach*, *Mansoa alliacea*, *Lippia sidoides*, *Plectranthus neochilus* e *Trichillia clausenii*) nas concentrações de 1, 3 e 5% e avaliados quanto à porcentagem de j2 imóveis. Na concentração de 3%, os tratamentos *T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti* e *T. ciliata* apresentaram valor acima de 90% de j2 imóveis, para ambas as espécies dos nematoides, alcançando 100% de imobilidade na concentração de 5%, indicando forte efeito nematostático dos extratos. A partir destes resultados, foi calculada a concentração do extrato necessária para reduzir em 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) a mobilidade dos nematoides. Foi observado, que os melhores tratamentos (*T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti*, *T. ciliata* e *T. catigua*) apresentaram CL₅₀ de 2.70 g L⁻¹ e 2.82 g L⁻¹ para *M. incognita* e *M. enterolobii*, respectivamente. Em seguida, em casa de vegetação, as formulações brutas das plantas com maior potencial (*T. casaretti*, *T. pallida*, *T. ciliata*, *T. catigua* e *T. elegans*) foram incorporadas ao solo de forma protetora e curativa, na dosagem da CL₅₀ obtida anteriormente, e avaliados na supressão dos dois nematoides na cultura do tomate. A aplicação das formulações nos dois momentos reduziu significativamente o número de nematoides e o número de ovos por massa de ovos das duas espécies avaliadas, apresentando resultados similares ou superiores que o nematicida a base de Carbofuran. O tratamento *T. elegans*, apresentou os resultados mais promissores, possibilitando no tratamento protetor, fator de

reprodução (FR) de 0,90 e 3,37 para *M. enterolobii* e *M. incognita*, valor muito abaixo da testemunha (água) de 23,65 e 24,77, respectivamente. O efeito das formulações brutas dos tratamentos sobre a supressão da população dos nematoides foi testado aos 15, 30, 45, 60 e 75 dias após a aplicação dos tratamentos. Todos os tratamentos reduziram a população dos nematoides, no entanto, após os 60 dias sua eficácia diminuiu e a população dos nematoides passou a aumentar. Desta forma, a incorporação ao solo das formulações brutas dos tratamentos pode ser considerada nas estratégias de manejo sustentável do *M. incognita* e *M. enterolobii* na cultura do tomate.

Palavras-chave: Extratos botânicos, manejo alternativo, nematoide das galhas, *Solanum lycopersicon*.

ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicon* L.) is one of the most significant crop in the Brazilian and world agricultural scene, being produced in practically all geographical regions of the world under different systems and levels of cultural management. The production of this crop can be reduced drastically by the presence of the root-knot nematodes, mainly *M. incognita* and recently *M. enterolobii*, due to their high aggressiveness and ability to bypass resistance genes to other nematodes. The control of these nematodes is quite complex and alternative management methods such as the use of essential oils and aqueous extracts of plants have been studied. In order to provide more sustainable and efficient alternatives for the management of *M. incognita* and *M. enterolobii*, the bioactivity of 11 plant species (*Trichilia hirta*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua*, *Trichilia pallida*, *Trichilia casaretti*, *Toonia ciliata*, *Melia azedarach*, *Mansoa alliacea*, *Lippia sidoides*, *Plectranthus neochilus* and *Trichillia clausenii*) at concentrations of 1, 3 and 5% and evaluated as percentage of real estate. At the concentration of 3%, the treatments *T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti* and *T. ciliata* presented values above 90% of immobile j2 for both nematode species reaching 100% immobility at the concentration of 5%, indicating a strong nematode effect of the extracts. From these results, the extract concentration was calculated to reduce the mobility of nematodes by 50% (CL₅₀) and 90% (CL₉₀). It was observed that the best treatments (*T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti*, *T. ciliata* and *T. catigua*) presented CL₅₀ of 2.70 g L⁻¹ and 2.82 g L⁻¹ for *M. incognita* and *M. enterolobii*, respectively. Then, in the greenhouse, the crude formulations of the plants with the highest potential (*T. casaretti*, *T. pallida*, *T. ciliata*, *T. catigua* and *T. elegans*) were incorporated into the soil in a protective and curative way, in the CL₅₀ obtained previously, and evaluated in the suppression of the two nematodes in the tomato crop. The application of the formulations at the two moments significantly reduced the number of nematodes and the number of eggs per egg mass of the two evaluated species, presenting similar or superior results than carbofuran based nematicide. The treatment *T. elegans* presented the most promising results, allowing for the protective treatment, reproduction factor (FR) of 0.90 and 3.37 for *M. enterolobii* and *M. incognita*, a value well below the control (water) of 23,65 and 24,77, respectively. The effect of crude treatment formulations on nematode population suppression was tested at 15, 30, 45, 60 and 75 days after application of

the treatments. All treatments reduced the nematode population, however, after 60 days its efficacy decreased and the nematode population increased. Thus, incorporation into the soil of crude treatments formulations can be considered in the strategies for the sustainable management of *M. incognita* and *M. enterolobii* in the tomato crop.

Keywords: Botanical extracts, alternative management, root-knot nematodes, *Solanum lycopersicon*.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Sistema radicular do tomateiro aos 32 dias de idade, inoculado com *M. enterolobii* e submetido aos tratamentos de forma protetora. A- Esquerda: Controle (água), Direita: *T. catigua*; B – Esquerda: Controle (água), Direita: *T. elegans*; C – Esquerda: Controle (água), Direita: *T. pallida*; D – Esquerda: Controle (água), Direita: *T. casareti*..... 49

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.	Espécies botânicas analisadas e suas características correspondentes	33
Tabela 2.	Porcentagem de J2 imóveis de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i> , submetidos às concentrações de 1, 3 e 5 % dos extratos aquosos.....	33
Tabela 3.	Teste de hipótese para os efeitos fixos	34
Tabela 4.	Efeitos fixos.....	34
Tabela 5.	Estimativa da CL ₅₀ , CL ₇₅ e CL ₉₀ (g L ⁻¹) e intervalo de confiança (IC) dos extratos aquosos, para juvenis (j2) de <i>Meloidogyne incognita</i>	35
Tabela 6.	Estimativa da CL ₅₀ , CL ₇₅ e CL ₉₀ (g L ⁻¹) e intervalo de confiança (IC) dos extratos aquosos, para juvenis (j2) de <i>Meloidogyne enterolobii</i>	35

CAPÍTULO 2

Tabela 1.	Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e fator de reprodução (FR) de <i>M. enterolobii</i> , submetido a diferentes tratamentos de forma protetora.....	50
Tabela 2.	Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e Fator de reprodução (FR) de <i>M. incognita</i> submetidos a diferentes tratamentos de forma protetora.....	50
Tabela 3.	Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e fator de reprodução (FR) de <i>M. incognita</i> submetido a diferentes tratamentos de forma curativa.....	52
Tabela 4.	Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e fator de reprodução (FR) de <i>M. enterolobii</i> , submetido a diferentes tratamentos de forma	

curativa.....	52
Tabela 5. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g) de de <i>M. enterolobii</i> , submetido a diferentes tratamentos e avaliados em quatro momentos.....	53
Tabela 6. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g) de <i>M. incognita</i> , submetido a diferentes tratamentos e avaliados em quatro momentos.....	54

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	21
CAPÍTULO 1 - EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS SOBRE A MOBILIDADE DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne incognita</i> E <i>Meloidogyne enterolobii</i>	27
1.1 INTRODUÇÃO.....	28
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
1.3 RESULTADOS.....	32
1.4 DISCUSSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	38
CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE NEMATICIDA DE PLANTAS DA FAMÍLIA MELIACEAE CONTRA OS NEMATOIDES DAS GALHAS <i>Meloidogyne incognita</i> E <i>Meloidogyne enterolobii</i> NO TOMATEIRO.....	43
2.1 INTRODUÇÃO.....	44
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
2.3 RESULTADOS.....	49
2.4 DISCUSSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	57
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
REFERÊNCIAS.....	62

INTRODUÇÃO GERAL

Os fitonematoides são os principais patógenos em áreas de cultivo de hortaliças, responsáveis por perdas entre 20% e 100%, dependendo da densidade populacional, suscetibilidade do cultivar, espécie do nematoide, tipo de solo e condições ambientais (SIKORA; FERNANDÉZ, 2005). No Brasil, os nematoides das galhas, principalmente as espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoed e White) Chitwood e *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood são responsáveis pelos maiores danos em hortaliças (FERRAZ et al., 2010). Além destes nematoides, em 2001 foi registrado o *M. enterolobii* (YANG; EISENBACK, 1983) Sin.: *M. mayaguensis* (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988) causando prejuízos em pomares de goiaba nos estados de Pernambuco e Bahia (CARNEIRO et al., 2001). A alta taxa de reprodução e a ampla gama de hospedeiros evidencia a agressividade da espécie, capaz de superar fontes de resistência a outras meloidoginoses como *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (CANTU et al., 2009; KIEWNICK; DESSIMOZ; FRANCK, 2009).

A principal preocupação no controle de fitonematoides é evitar sua introdução em áreas ainda não infestadas, pois a erradicação do patógeno é praticamente impossível. Depois de introduzidos, as medidas de controle adotadas visarão apenas à redução na população dos nematoides no solo. O sucesso do controle em áreas infestadas depende de um conjunto de medidas associadas e não de práticas adotadas isoladamente. Em solos já infestados, a utilização da resistência genética é a medida mais desejável, porém limitada pela escassez de cultivares resistentes e pela quebra de resistência em alguns casos, o que freqüentemente acontece em clima tropical (FERRAZ, 2010). A rotação com culturas comerciais, como estratégia de controle do nematoide das galhas, é muito difícil devido à ampla gama de hospedeiros que as principais espécies de *Meloidogyne* apresentam. O controle químico propicia proteção temporária, após a qual a população do nematoide pode voltar a atingir altos níveis. Além disso, a partir da década de 80, vários nematicidas foram retirados do mercado devido à persistência no solo, à contaminação da água de lençóis freáticos e aos efeitos prejudiciais aos seres humanos e à fauna do planeta (OKA, 2014).

Uma alternativa para a substituição dos fumigantes sintéticos é o uso de partes de plantas ou compostos bioativos derivados de plantas. Estes compostos, ou

plantas que os contenham, podem ser utilizados como biopesticida ou material orgânico incorporado ao substrato (AKHTAR; ALAM, 1993; SIMONETTI et al., 2010).

A maioria dos estudos envolve experimentos com o uso de extratos vegetais e exsudados radiculares. Esses compostos são bastante diversificados e podem variar quanto ao modo de aplicação, como por exemplo, a biofumigação, uma técnica baseada na ação fumigante dos compostos voláteis lançados durante a biodegradação de tecidos vegetais (GARCÍA ÁLVAREZ et al., 2004). Muitos dos fitoquímicos são ambientalmente mais seguros ou menos tóxicos ao homem que os nematicidas químicos tradicionais (KOLAPO et al., 2009)

Os componentes químicos dos extratos aquosos ou dos óleos essenciais apresentam estruturas diversas como terpenos, sesquiterpenos, fenólicos, fenil propanóicos, alifáticos não terpênicos, heterocíclicos, alcoóis, cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos, ésteres, acetatos, cada qual com sua característica aromática e ação bioquímica (RAO et al., 2007).

As pesquisas científicas atuais têm comprovado a ação destes produtos como bactericida, analgésico, sedativo, estimulante, antifúngico, antiprurido, antidepressivo, repelente de insetos, entre outros. (WOLFFENBÜTTEL, 2007). Existem relatos da atividade direta de extratos e óleos essenciais de plantas sobre fitopatógenos a exemplo dos fungos, bactérias, vírus e nematoides (FIORI et al., 2000; MOTOYAMA et al., 2008; BALDO, 2005; SIMONETTI et al., 2010).), ou indireta, ativando mecanismos de defesa das plantas aos patógenos (SCHWAN-ESTRADA 2003; STANGARLIN, 2005, QAYUM et al., 2011). Entre os mecanismos de defesa das plantas destacam-se as fitoalexinas, compostos antimicrobianos de baixa massa molecular sintetizados pelas plantas em resposta a ação de agentes bióticos ou abióticos, também denominados de elicitores (BONALDO et al., 2004).

Na literatura são relatados vários exemplos de plantas com potencial para a produção de nematicidas naturais por conterem princípios ativos com propriedades nematicidas ou nematostáticas (LEWIS; PAPAIVIZAS, 1971; GOMMERS, 1981; LAZZERI et al., 1993; MAYTON, et al., 1996; FERRIS; ZHENG, 1999, MAISTRELLO, et al., 2010). Tais produtos, caso sejam absorvidos pelas plantas e ajam de forma sistêmica, podem alterar o exsudato radicular, interferindo na localização das raízes por parte dos nematoides; tornar as raízes menos atrativas para o patógeno; alterar a fisiologia da planta, impedindo a formação de células

especiais de alimentação, a exemplo das células gigantes ou sincícios; ou até mesmo ativar mecanismos de resistência da planta (MAISTRELLO, et al., 2010).

No curso de sua evolução, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa química contra pragas e patógenos (SLUSARENKO et al., 2008), levando a uma infinidade de moléculas de origem vegetal citadas na literatura com grande potencial no controle de fitonematoides, seja com efeito nematicida, nematostático, ovicida ou de repelência. Diversas são as plantas que ao serem incorporadas ao solo liberam substâncias com estas características, como o nim (*Azadirachta indica*), a crotalária (*Crotalaria spectabilis*), a mucuna (*Mucuna aterrima*), o feijão de porco (*Canavalia ensiformis*), o cravo de defunto (*Tagetes* sp.), dentre outras espécies vegetais (WANG et al., 2002; JOURAND et al., 2004; LOPES et al., 2005; KONG et al., 2006; QAYUM et al., 2011). Merece destaque as plantas da família Brassicaceae que são exploradas devido o potencial biofumigante principalmente das mostardas (*Brassica* spp., *Sinapis* spp.), do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), do brócolis (*B. oleracea* var. *italica*) e da couve (*B. oleracea* var. *acephala*) (CHITWOOD, 2002; SANTOS, 2010).

Vários trabalhos com extratos vegetais já foram desenvolvidos e com alguns resultados promissores para o controle de nematoides. Em revisão feita por Chitwood (2002), foi descrito o potencial de várias plantas e alguns dos seus compostos nematicidas, já isolados e identificados. A família Asteraceae, do qual artemísia é representante, é geralmente rica em poliacetilenos que possuem amplo espectro de atividade biológica, e muitos deles possuem atividade nematicida. *Mentha piperita* por sua vez, é rica em alcalóides (linalol, mentol, cineol, geraniol e eugenol). Estes compostos geralmente possuem atividade contra predadores e patógenos. Malik et al. (1987) e Sangwan et al. (1990) analisaram o óleo essencial de *Mentha piperita*, na inibição da atividade de juvenis de *Anguina tritici*, *Meloidogyne javanica*, *Tylenchulus semipenetrans*, e *Heterodera cajani*. A aplicação destes alcalóides ao solo inibiu a reprodução de *M. javanica*, *M. incognita* e *H. schachtii* (BAUSKE et al. 1994, OSMAN; VIGLIERCHIO, 1998). O orégano tem como constituintes os compostos timol e carvacrol que inibiram a eclosão de juvenis de *M. incognita* em experimentos realizados por Oka et al., (2000). Portanto, estas plantas produzem substâncias que podem representar importante alternativa no manejo dos fitonematoides nas mais diversas culturas.

A incorporação de matéria orgânica ao solo é outra prática que tem demonstrado grande potencial no controle de nematoides (RODRÍGUEZ; KABANA, 1994, WANG et al., 2002, WILDMER et al., 2002). A decomposição da matéria orgânica incorporada ao solo favorece a proliferação de inimigos naturais dos fitonematóides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, além de liberem substâncias tóxicas (AKTAR; MALIK, 2000). Várias fontes de matéria orgânica têm sido testadas, visando o controle de nematoides fitoparasitas (VIAENE; ABAWI, 1998). O emprego de várias fontes de materiais orgânicos tem sido promovida como a principal opção de manejo sustentável para melhorar a qualidade e a produtividade das culturas. As funções e interações da matéria orgânica no solo são complexas e, entre os benefícios, está a supressão de fitopatógenos de solo (MATTHIESSEN; SHACKLETON, 2005). A incorporação de matéria orgânica fornece aos habitantes do solo uma nova fonte de energia que resulta em um aumento da diversidade e atividade microbiológica no solo, podendo aumentar a população total de bactérias, fungos e nematóides. Vários destes organismos ou seus metabólitos são benéficos para o crescimento das plantas (SCHIPPERS et al., 1987) ou antagonistas aos fitopatógenos, incluindo nematoides (VIAENE; ABAWI, 1998; CHEN et al., 1999, OKA, et al., 2014).

O controle de nematoides, através da utilização de matéria orgânica, tem sido atribuído ao acúmulo de substâncias tóxicas durante a decomposição dos produtos (NTALLI et al., 2010). No entanto, os mecanismos envolvidos na ação nematicida desses compostos são bastante complexos e variáveis (STIRLING, 1991). Reduções nas populações de diversos gêneros de fitonematóides tem ocorrido devido à adição de matéria orgânica de diferentes fontes (FREITAS, 2008). Resíduos do processamento de mandioca (manipueira) ao serem incorporados ao solo reduzem drasticamente a população de *Meloidogyne* spp. (PONTE et al., 1995). A atividade nematicida da matéria orgânica no solo pode ser atribuída a mineralização química liberando amônia, aumentando os níveis de nitrogênio e dióxido de carbono, reduzindo o nível de oxigênio; pela liberação de compostos tóxicos, ou pelo aumento no número de fungos e bactérias antagonistas à fitonematóides (RODRÍGUEZ; KÁBANA, 1986). Dias et al. (1999) citam que essas substâncias possuem efeito nematicida ou nematostático, ou ainda podem interferir na eclosão de juvenis. Entre várias matérias orgânicas avaliadas contra a ação de fitonematóides quando adicionadas ao solo, óleos e tortas têm sido considerados

muito promissores (GOSWAMI; VIJAYALAKSHMI, 1981; SIDDIQUI; ALAM, 1987; JOHTI et al., 2004), mas ainda não têm sido efetivamente explicadas. Entretanto, além das propriedades nematicidas, óleos e tortas contêm nitrogênio, fósforo e potássio e seu uso combinado em um esquema de manejo integrado pode ser uma maneira econômica e efetiva para o manejo populacional de fitonematóides com uma contribuição adicional à nutrição da planta (DU et al., 2011).

Diante do exposto, no presente estudo, buscamos expandir o conhecimento sobre a bioatividade de extratos aquosos de 11 espécies vegetais (*Trichilia hirta*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua*, *Trichilia pallida*, *Trichilia casaretti*, *Toona ciliata*, *Melia azedarach*, *Mansoa alliacea*, *Lippia sidoides*, *Plectranthus neochilus* e *Trichillia clausenii*), sobre juvenis de segundo estágio (j2) de *M. incognita* e *M. enterolobii*, bem como avaliar o extrato mais promissor e a concentração necessária para reduzir a população destes nematoides e posteriormente avaliar o efeito da incorporação ao solo de maneira protetora e curativa, das formulações brutas de *T. casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans*, na redução da população de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* no tomateiro, bem como avaliar a persistência dos tratamentos no solo.

CAPÍTULO 1
EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS
SOBRE A MOBILIDADE DE JUVENIS DE *MELOIDOGYNE INCOGNITA* E
Meloidogyne enterolobii

(artigo redigido conforme normas da revista Journal of Nematology)

RESUMO

Juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* foram expostos aos extratos aquosos de 11 espécies vegetais (*Trichilia hirta*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua*, *Trichilia pallida*, *Trichilia casaretti*, *Toona ciliata*, *Melia azedarach*, *Mansoa alliacea*, *Lippia sidoides*, *Plectranthus neochilus* e *Trichillia clausenii*) nas concentrações de 1, 3 e 5% e avaliados quanto à porcentagem de j2 imóveis. Na concentração de 3%, os tratamentos *T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti* e *T. ciliata* apresentaram valor acima de 90% de j2 imóveis, para ambas as espécies dos nematoides, alcançando 100% de imobilidade na concentração de 5%, indicando forte efeito nematostático dos extratos. A partir destes resultados, foi calculada a concentração do extrato necessária para reduzir em 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) a mobilidade dos nematoides. Foi observado, que os melhores tratamentos (*T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti*, *T. ciliata* e *T. catigua*) apresentaram CL₅₀ de 2.70 g L⁻¹ e 2.82 g L⁻¹ para *M. incognita* e *M. enterolobii*, respectivamente. Estes resultados sugerem que os extratos aquosos analisados possuem potencial no controle dos nematoides das galhas.

Palavras-chave: atividade nematicida; controle de nematoides; extratos vegetais; fitoquímicos; mobilidade de juvenis.

ABSTRACT

Second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne enterolobii* were exposed to aqueous extracts of 11 plant species (*Trichilia hirta*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua*, *Trichilia pallida*, *Trichilia casaretti*, *Toona ciliata*, *Melia azedarach*, *Mansoa alliacea*, *Lippia sidoides*, *Plectranthus neochilus* and *Trichillia clausenii*) at concentrations of 1, 3 and 5% and evaluated as percentage of mobility of juveniles. At the concentration of 3%, the treatments *T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti* and *T. ciliata* presented values above 90% of immobile j2 for both nematode species reaching 100% immobility at the concentration of 5%, indicating a strong nematode effect of the extracts. From these results, the extract concentration was calculated to reduce the mobility of nematodes by 50% (CL₅₀) and 90% (CL₉₀). It was observed that the best treatments (*T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti*, *T. ciliata* and *T. catigua*)

presented CL_{50} of 2.70 g L^{-1} and 2.82 g L^{-1} for *M. incognita* and *M. enterolobii*, respectively. These results suggest that the aqueous extracts analyzed have potential in the control of root-knot nematodes.

Keywords: nematicidal activity; nematode control; plant extracts; phytochemicals; mobility of juveniles.

1.1 INTRODUÇÃO

Os nematoides fitoparasitas estão entre os patógenos mais difíceis de manejar (Chitwood, 2002). Eles prejudicam uma grande variedade de culturas agrícolas, causando graves perdas na produção em todo o mundo, especialmente nos países tropicais e regiões subtropicais, onde os fatores ambientais favorecem sua sobrevivência e dispersão (Sikora e Fernandez, 2005). Entre os nematoides parasitas de plantas, os nematoides das galhas *Meloidogyne* spp., são economicamente os mais importantes, limitando a produtividade e qualidade dos produtos agrícolas (Sasser e Carter, 1985). O manejo destes nematoides tornou-se ainda mais difícil, devido ao uso restrito ou à proibição de nematicidas químicos fumigantes, particularmente o brometo de metila. As preocupações com a saúde e a contaminação do meio ambiente levam a um futuro incerto sobre a utilização de produtos químicos no manejo dos nematoides (Giannakou e Karpouzias, 2003; Giannakou et al., 2002; Giannakou e Anastasiadis, 2005). Neste contexto, há um crescente interesse em descobrir compostos nematicidas derivados das plantas, por apresentarem-se efetivos no manejo destes nematoides (Isman, 2000; Chitwood, 2002; Perez et al., 2003; Matthiessen e Kirkegaard, 2006).

Muitos compostos que possuem atividade nematicida ou nematostática, tal como tienils, 28lcaloides, fenóis, sesquiterpenos, diterpenos e poliacetilenos foram encontrados em tecidos vegetais (Gommers, 1981; Gommers e Barker, 1988). Diversas plantas têm sido usadas como fontes para obtenção de substâncias nematicidas, que são isoladas de vários órgãos das plantas, geralmente por métodos de destilação orgânico ou aquoso (Ferraz e DeFreitas, 2004). As plantas mais relatadas são *Tagetes* spp. (Família *Asteraceae*), neem (*Azadirachta indica*, família *Meliaceae*), *Crotalaria juncea*, feijão de porco (*Mucuna* spp.) e várias espécies de gramíneas da família *Poaceae* (Chitwood, 2002; Ferraz e DeFreitas,

2004). Estas plantas revelaram ampla atividade contra vários organismos transmitidos pelo solo, incluindo aqueles que causam doenças de plantas, tais como *Fusarium*, *Verticillium*, etc. (Ferraz e DeFreitas, 2004). A-Terthienyl foi isolado de raízes de *Tagetes*, e considerado altamente nematocida (Uhlenbroek e Bijloo, 1958) e efetivo no controle dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus* (Hackney e Dickerson, 1975; Ploeg, 1999). Pe'rez et al., (2003) investigaram os efeitos de óleos essenciais, extraídos de várias espécies de Asteraceae em *Meloidogyne artiellia*, e observaram que os melhores resultados foram obtidos do óleo essencial das flores de cinco espécies de *Chrysanthemum* spp., bem como a aplicação em solo infectado reduziu consideravelmente a reprodução deste nematoide. Extratos de *Melia azedarach*, rico em aldeídos e ácido carboxílico, apresentaram forte atividade nematocida, indicando potencial no controle de *M. incognita* (Hasabo e Noweer, 2005; Ntalli et al., 2010). No presente estudo, buscamos expandir o conhecimento sobre a bioatividade de extratos aquosos de 11 espécies vegetais (*Trichilia hirta*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua*, *Trichilia pallida*, *Trichilia casaretti*, *Toona ciliata*, *Melia azedarach*, *Mansoa alliacea*, *Lippia sidoides*, *Plectranthus neochilus* e *Trichillia clausenii*), sobre juvenis de segundo estágio (j2) de *M. incognita* e *M. enterolobii*, bem como avaliar o extrato mais promissor e a concentração necessária para reduzir a população destes nematoides.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP-Botucatu.

Obtenção e preparo do inóculo de M. incognita e M. enterolobii: Foram utilizados nos ensaios o inóculo de *M. incognita* raça 2, que inicialmente foi obtido de amostras de tecidos radiculares de plantas de tomate, procedente do município de Santa Rosa-RS, enquanto que a população de *M. enterolobii* foi obtida de raízes de tomateiro, proveniente do município Mandaguaçu-PR. As espécies foram identificadas pelo padrão perineal das fêmeas e pelo padrão eletroforético de isoenzimas de acordo com Oliveira e Tomazini, (2008), e são mantidas em plantas de tomateiro 'Rutgers' em casa de vegetação.

Para a obtenção dos juvenis de segundo estágio (j2) de *M. enterolobii* e *M. incognita* foi utilizado a metodologia de Baerman modificado (Baermann, 1917) e acondicionado em câmara de eclosão a 26° C.

Obtenção das espécies vegetais e preparo dos extratos: As exsiccatas das espécies analisadas foram inicialmente identificadas e encontram-se depositadas em herbário (Tabela1). As estruturas vegetais de cada espécie foram secas em estufa de ar circulante (40°C) por 48 horas. Após a secagem, o material foi triturado em moinho elétrico de facas e os respectivos pós obtidos, foram armazenados separadamente em recipiente fechados para maior preservação de seus componentes (Baldin et al., 2007).

Para cada extrato vegetal foram preparados quatro concentrações (0, 1, 3 e 5% p/v), que consistiram em misturar em Becker de vidro, 0,1 g do pó em 10 mL de água destilada para a concentração de 1% (peso/volume), 0,3 g do pó em 10 mL de água destilada para a concentração de 3% (p/v) e 0,5 g do pó em 10 mL de água destilada para a concentração de 5% (p/v). Esta mistura de água e extrato vegetal foi mantida em repouso no período de 24 horas ao abrigo da luz. Decorrido às 24 horas, realizou-se a filtragem dos extratos com papel Whatman nº1 e logo em seguida foram utilizados.

Efeito dos extratos aquosos na mobilidade de juvenis (j2) de Meloidogyne incognita e Meloidogyne enterolobii: Os juvenis de *M. incognita* e *M. enterolobii* inicialmente multiplicados em tomateiro, foram recolhidos em funil de Baermann modificado. Os j2 eclodidos nas primeiras 48 horas foram descartados e apenas os nematoides eclodidos nas 24 horas subsequentes foram utilizados nos ensaios.

Foram realizados dois ensaios, um para *M. incognita* e outro para *M. enterolobii*. Cada ensaio consistiu na avaliação dos 11 extratos aquosos (Tabela1) nas concentrações de 0, 1, 3 e 5% (p/v). Para isso, foram utilizadas placas de Petri de 2,5 cm de diâmetro, e 20 juvenis (j2) foram adicionados juntamente com 2,0 mL dos respectivos extratos por placa. As placas foram cobertas e dispostas aleatoriamente em B.O.D à 26°C por 48 horas. A ação nematocida/nematostática foi avaliada em lupa pela ausência de mobilidade, quando estimulado por uma fina cerda de nylon. Cada tratamento recebeu 10 repetições e os ensaios foram repetidos duas vezes.

Análise estatística: Os dados do ensaio foram analisados por meio dos Modelos Lineares Generalizados (GLM). Inicialmente, aplicou-se o modelo com componente aleatória binomial e função de ligação logit para dose-resposta pelo

PROC GENMOD do software SAS 9.4. Após a avaliação da qualidade do ajuste e resíduos detectou-se sobredispersão dos dados e para acomodá-la adotou-se a distribuição binomial negativa (Hinde e Demétrio, 1998; Paula, 2013) como componente aleatória. Considerando que não foi possível obter a matriz de covariância (hessiana não positiva definida) optou-se pelo método da quase-verossimilhança com função de variância $\phi^* \mu$ (McCullagh e Nelder, 1989). Este método baseia-se no desconhecimento da distribuição de probabilidade da variável resposta, porém têm-se informações que permitem descrever o comportamento da variância em função da média.

O método da quase verossimilhança foi introduzido por Wedderburn, (1974) e representa uma extensão do método de máxima verossimilhança. A função de quase-verossimilhança $Q(\mu_i; Y_i)$ é definida pela relação

$$\int_Y^\mu U dt = \int_Y^\mu \frac{Y_i - t}{\phi V(\mu_i)} dt \quad (1)$$

Desta forma, pode-se utilizar qualquer função $Q(\mu_i, Y_i)$ que satisfaça a equação (1) para definir um modelo linear generalizado.

O modelo da dose-resposta adotado foi o seguinte:

$$\eta_{ij} = \log_e(\mu_{ij}) = \beta_0 + \beta_1 dose_i + \alpha_j \quad (2)$$

Em que, β_0 = efeito geral e β_1 = taxa de variação de acordo com a *i-ésima* dose, α_j = efeito do *j-ésimo* tratamento ($j=1, \dots, 11$). Para avaliar o ajuste do modelo utilizou-se a estatística qui-quadrado generalizada apresentada na PROC GLIMMIX do SAS. Uma vez que neste experimento teve-se um elevado número de tratamentos antes das estimativas das doses letais foram avaliados os tratamentos que poderiam ser agrupado, isto é, significativamente iguais pelo teste da razão da verossimilhança.

As estimativas das concentrações letais (CL_{50} , CL_{75} , CL_{90}) dos extratos, bem como o intervalo de confiança foram realizadas com o PROC IML do software SAS. O método Delta foi utilizado para obtenção dos erros padrões das doses letais estimadas possibilitando a construção do intervalo de confiança.

1.3 RESULTADOS

Efeito dos extratos aquosos na mobilidade de j2: O efeito dos extratos aquosos sobre a mobilidade de juvenis (j2) de *M. incognita* e *M. enterolobii*, estão apresentados na Tabela 2. A porcentagem de j2 imóveis aumentou consideravelmente com o aumento da concentração dos extratos. Observa-se que na concentração de 3%, os tratamentos *T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretti* e *T. ciliata* apresentaram valores acima de 90% de j2 imóveis, para ambas as espécies dos nematoides. Nas concentrações de 5%, todos os tratamentos com exceção do *Plectranthus neochilus*, *Mansoa alliacea* e *L. sidoides*, apresentaram valores acima de 90% de j2 imóveis.

A porcentagem de j2 imóveis foi similar para ambas às espécies avaliadas, com exceção dos tratamentos *L. sidoides*, *M. alliacea* e *T. clausenii*, que apresentaram valores menores para *M. enterolobii*, quando comparado com *M. incognita* (Tabela 2).

Tabela 1. Espécies botânicas analisadas e suas características correspondentes.

Espécies	Famílias botânicas	Estrutura Utilizada	Origem	Número exsicata	Depósito no Herbário
<i>Trichilia hirta</i> L.	Meliaceae	Folha	Piracicaba, SP	53533	Irina Delanova Gemtchujnicov
<i>Trichilia elegans</i> A. Juss	Meliaceae	Folha	Piracicaba, SP	44.890	Irina Delanova Gemtchujnicov
<i>Trichilia catigua</i> A. Juss	Meliaceae	Folha	Piracicaba, SP	ESA119204	ESA/ESALQ
<i>Trichilia pallida</i> Swartz	Meliaceae	Folha	Piracicaba, SP	28.298	Irina Delanova Gemtchujnicov
<i>Trichilia casaretti</i> C. DC.	Meliaceae	Folha	-----	-----	-----
<i>Toona ciliata</i> M. Roemer	Meliaceae	Folha	Santa Maria do Jetibá, ES	Comércio	-----
<i>Melia azedarach</i> L.	Meliaceae	Folha	Franca, SP	SFPR119187	SFPR-USP
<i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A. Gentry	Bignoniaceae	Folha	Itacoatiara, AM	8.651	UFAM
<i>Lippia sidoides</i> Cham.	Verbenaceae	Folha	Itacoatiara, AM	SPSF 48751	SPSF-IF
<i>Plectranthus neochilus</i> Schltr	Lamiaceae	Folha	Franca, SP	SPFR12323	SPFR/USP
<i>Trichillia clausenii</i> C. DC.	Meliaceae	Folha	Piracicaba, SP	UEC 183956	UEC/UNICAMP

Tabela 2. Porcentagem de J2 imóveis de *M. incognita* e *M. enterolobii*, submetidos às concentrações de 1, 3 e 5 % dos extratos aquosos.

Espécie vegetal	% de J2 imóveis ¹					
	<i>Meloidogyne enterolobii</i>			<i>Meloidogyne incognita</i>		
	1% ²	3%	5%	1%	3%	5%
<i>Trichilia hirta</i>	5.1 ± 0.3 a	6.25 ± 1.3 a	92.5 ± 1.7 d	13.75 ± 1.8 ab	10.2 ± 1.5 a	92.7 ± 0.4 b
<i>Trichilia elegans</i>	5 ± 0.5 a	97.5 ± 0.9 d	100 ± 0.0*	4.97 ± 2.9 a	87.75 ± 0.9 d	100 ± 0.0*
<i>Trichilia catigua</i>	15 ± 1.1 a	56.3 ± 0.9 c	100 ± 0.0*	17.25 ± 0.4 b	59 ± 1.0 b	96.25 ± 1.5 c
<i>Trichilia pallida</i>	18 ± 1.7 ab	89.75 ± 1.5 d	92.33 ± 0.3 d	11.21 ± 0.2 a	81.25 ± 2.3 dc	95.9 ± 2.0 c
<i>Trichilia casaretti</i>	12.5 ± 1.2 a	98.89 ± 1.1 d	100 ± 0.0*	3.67 ± 1.1 a	92.46 ± 1.7 c	100 ± 0.0*
<i>Toona ciliata</i>	5.5 ± 0.9 a	93.65 ± 1.3 d	100 ± 0.0*	3.66 ± 1.4 a	91 ± 1.9 d	86.25 ± 2.1 bc
<i>Melia azedarach</i>	10.2 ± 0.0 a	12.5 ± 0.4 ab	97.5 ± 0.7 d	4 ± 1.1 a	6.70 ± 1.3 a	96.25 ± 0.8 c
<i>Mansoa alliacea</i>	5 ± 1.8 a	22.5 ± 2.4 b	33.78 ± 0.0 b	8.97 ± 2.8 a	27 ± 0.7 b	98.30 ± 0.4 c
<i>Lippia sidoides</i>	25 ± 1.6 b	20 ± 2.1 b	56.3 ± 0.9 c	33.89 ± 2.3 b	46 ± 0.0 b	76.05 ± 0.7 c
<i>Plectranthus neochilus</i>	8.75 ± 0.2 a	18.75 ± 1.0 b	23.75 ± 0.9 a	12.5 ± 1.6 ab	18 ± 2.3 a	22.67 ± 0.7 a
<i>Trichilia clausenii</i>	2.5 ± 2.9 a	18.76 ± 0.8 b	68.33 ± 0.0 c	2.7 ± 0.6 a	79.42 ± 0.8 c	99.6 ± 0.2 c
Testemunha (água destilada)		6 ± 1.2		7 ± 0.8		
Carbofuran		100 ± 0.0		100 ± 0.0		

¹ Médias de dois ensaios com 10 repetições por tratamento.² Concentração do extrato aquoso.

* Não incluído na análise (variância nula);

Curva de concentração-resposta dos extratos avaliados: O quociente entre a estatística do qui-quadrado generalizado e os graus de liberdade apresentou valor próximo de 1, desta forma notou-se um bom ajustamento do modelo.

O teste de hipótese dos efeitos fixos mostrou que dose e tratamentos foram significativamente diferentes ($p\text{-valor} \leq 0,0001$) (Tabela 3).

Tabela 3. Teste de hipótese para os efeitos fixos.

Causas de variação	<i>Meloidogyne incognita</i>		<i>Meloidogyne enterolobii</i>	
	Valor F	Pr>F	Valor F	Pr>F
Dose	158,73	<0,0001*	156,87	<0,0001*
Tratamento	4,50	<0,0001*	4,60	<0,0001*

*, significativo a nível de 5% de probabilidade.

A significância dos 11 tratamentos foi avaliada pelo teste da razão de verossimilhança (Tabela 4). Constatou-se que para *M. incognita* os tratamentos: *Lippia sidoides*, *Trichilia casaretti*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua* e *Trichilia pallida* não diferiram significativamente de *Toona ciliata* (Tratamento *baseline*) ($p\text{-valor} \leq 0,0001$), justificando-se a formação de um grupo com estes tratamentos (Grupo 1), em seguida, foi constatado que o grupo 1 diferiu significativamente em relação a “baseline” *Mansoa alliacea* ($p\text{-valor} \leq 0,0001$). Entretanto os demais tratamentos não diferiram significativamente e desta forma, os mesmos foram agrupados no grupo 2 (*Trichilia hirta*, *Melia azedarach*, *Plectranthus neochilus* e *Trichilia clausenii*). Para *M. enterolobii*, apenas o tratamento *L. sidoides* não diferiu estatisticamente do grupo 2. Desta forma, foi possível reunir os 11 tratamentos em três grupos (Tabela 4).

Tabela 4. Efeitos fixos.

Tratamentos	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Meloidogyne enterolobii</i>
	Pr>t	Pr>t
Grupo 1	<0,0001	<0,0001
<i>Lippia sidoides</i>	0,9198	
<i>Trichilia casaretti</i>	0,1126	0,1235
<i>Trichilia elegans</i>	0,8671	0,8307
<i>Trichilia catigua</i>	0,9198	0,9389
<i>Trichilia pallida</i>	0,7057	0,6978
<i>Toona ciliata</i>	-	-
Grupo 2		
<i>Lippia sidoides</i>		0,6540
<i>Trichilia hirta</i>	0,0164	0,0198
<i>Melia azedarach</i>	0,1863	0,1965
<i>Plectranthus neochilus</i>	0,0498	0,0430
<i>Trichilia clausenii</i>	0,0545	0,0680
Grupo 3		
<i>Mansoa alliacea</i>	-	-

A avaliação do número de nematoides imóveis de *M. incognita* permitiu CL_{50} de 2.70 g L^{-1} e CL_{90} de 4.41 g L^{-1} para o Grupo 1, CL_{50} de 4.40 g L^{-1} e CL_{90} de 5.38 g L^{-1} para o grupo 2, e CL_{50} de 3.95 g L^{-1} e CL_{90} de 4.87 g L^{-1} para o grupo 3 (Tabela 5). Para *M. enterolobii*, os valores estimados para a CL_{50} e CL_{90} foram de 2.82 e 4.56 g L^{-1} , no grupo 1, 4.69 e 5.67 g L^{-1} no grupo 2, e 3.88 e 5.02 g L^{-1} no grupo 3, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 5. Estimativa da CL_{50} , CL_{75} e CL_{90} (g L^{-1}) e intervalo de confiança (IC) dos extratos aquosos, para juvenis (j2) de *Meloidogyne incognita*.

Grupos de extratos	n^1	CL_{50} (g L^{-1}) IC ² a 95%	CL_{75} (g L^{-1}) IC a 95%	CL_{90} (g L^{-1}) IC a 95%
Grupo 1	1440	2.70(2.31-3.09)	3.88(3.58-4.19)	4.41(4.09-4.74)
Grupo 2	1200	4.40(4.05-4.76)	5.08(4.66-5.50)	5.38(4.91-5.86)
Grupo 3	240	3.95(3.66-4.24)	4.59(4.31-4.87)	4.87(4.57-5.17)

n^1 : número de nematoides testados;

IC²: intervalo de confiança a 95% de probabilidade de erro.

Tabela 6. Estimativa da CL_{50} , CL_{75} e CL_{90} (g L^{-1}) e intervalo de confiança (IC) dos extratos aquosos, para juvenis (j2) de *Meloidogyne enterolobii*.

Grupos de extratos	n^1	CL_{50} (g L^{-1}) IC ² a 95%	CL_{75} (g L^{-1}) IC a 95%	CL_{90} (g L^{-1}) IC a 95%
Grupo 1	1200	2.82(2.39-3.18)	3.97(3.65-4.24)	4.56(4.23-4.74)
Grupo 2	1440	4.69(4.12-4.99)	5.22(4.77-5.68)	5.67(5.04-5.96)
Grupo 3	240	3.88(3.79-4.40)	4.66(4.44-4.97)	5.02(4.49-5.28)

n^1 : número de nematoides testados;

IC²: intervalo de confiança a 95% de probabilidade de erro.

1.4 DISCUSSÃO

Os efeitos supressivos de alguns compostos fitoquímicos em populações de nematoides foi bem documentado em vários patossistemas (Chitwood, 2002). Estes compostos podem ser desenvolvidos para uso como nematicidas, ou ainda servir como compostos modelo para o desenvolvimento de produtos derivados sintéticos. Este estudo avaliou a atividade nematicida/nematostática dos extratos aquosos (Tabela 1), em *M. incognita* e *M. enterolobii* e apresentou resultados inéditos.

Foi constatado que os extratos das plantas da família *Meliaceae* apresentaram maior atividade nematicida/nematostática, e os efeitos aumentaram com o aumento da concentração dos extratos. Para os tratamentos *T. elegans*, *T. pallida*, *T. casaretii* e *T. ciliata*, a porcentagem de j2 imóveis ultrapassou 90% na concentração de 3% dos extratos, para ambos os nematoides, alcançando até 100%

de imobilização na concentração de 5%, valor observado pelo tratamento químico comercial Carbofuran, indicando potencial para uso dos extratos no controle destes nematoides. Resultados semelhantes foram observados em estudos realizados com *Azadirachta indica* (neem), em que apresentaram mortalidade entre 70 a 100% para os nematoides das galhas, utilizando diferentes concentrações e formulações (Aziz et al., 1995; Immaraju, 1998; Khanna, 1991; Khurma e Singh, 1997; Mordue e Blackwell, 1993; Sabastiana e Gupta, 1997). Javed et al., (2007), trabalhando com *A. indica*, nas concentrações de 10%, 5%, e 2.5% p/v, observaram que na concentração de 10% dos extratos da folha e torta de neem, a imobilização de *Meloidogyne javanica* alcançou 83% e 85%, e mortalidade de 35% e 28%, respectivamente. Ainda na família *Meliaceae*, extratos de diferentes partes vegetais de *Melia azedarach*, foram relatados causando efeito nematicida (Hasabo e Noweer, 2005; Ntalli et al., 2010). Cavoski et al., (2012), trabalhando com *M. incognita* em pepino, observou que ao incorporar frutos triturados de *M. azedarach*, nas concentrações de 30 e 60 g kg⁻¹ ao solo, exibiram atividade nematicida semelhante ao fenamiphos (0.02 g a.i. kg⁻¹).

A atividade nematicida desses extratos pode estar relacionada aos compostos bioativos produzidos no metabolismo secundário das plantas. As meliáceas são plantas caracterizadas quimicamente pela produção de tetranortriterpenóides, conhecidos como limonóides ou meliacinas (Da Silva et al., 1984). Esses compostos tem demonstrado diversos tipos de atividades biológicas, tais como: citotóxica, antiparasitária, antiviral, antifúngica, antibacteriana, inseticida e nematicida (Bray et al., 1990; Champagne et al., 1992). O gênero *Trichilia* dentro da subfamília Melioideae, é o gênero que apresenta maior número e tipo de limonóides (Pennington, 1981). Muitos pesquisadores têm isolado limonóides de diversas espécies de *Trichilia* spp. (Chan et al., 1973; Connolly et al., 1979; Jolad et al., 1980; 1981; Arenas e Rodríguez-Hahn, 1990; Olugbade, 1991; Tinto et al., 1991; Cortez et al., 1998; 2000; Inada et al., 1994; Musza et al., 1995; Garcez et al. 1997; 2000; Rodríguez-Hahn et al., 1996; Rodríguez et al., 2003; Zhang et al., 2003;). Além dos limonóides, outras classes de substâncias têm sido isoladas do gênero *Trichilia*: esteróides de *T. hirta* (Chauret et al., 1996); sesquiterpenos (Garcez et al., 1997), lignanas e γ -lactonas (Pizzolatti et al., 2002; 2004) de *T. catigua*; protolimonóides de *T. elegans* (Gracez et al., 1996); triterpenos do tipo cicloartano, ácidos ω -fenil

alcanóicos e alcenóicos, γ -lactonas, esteróides androstanos e pregnanos e sesquiterpenos de *T. clausenii* (Pupo et al., 1997; 1998; 2002).

Os efeitos nematostáticos observados no presente estudo podem estar relacionados a mais de um composto orgânico encontrado nos tecidos vegetais, podendo conferir sinergia levando a alta mortalidade dos nematoides (Chitwood, 2002). Naz et al., (2013), observou que extratos de *Fumaria parviflora*, apresentaram altas concentrações de alcaloides, flavonoides, glicosídeos, taninos, saponinas, esteroides e fenóis, responsáveis pela redução de até 100% na eclosão e mobilidade de j2 de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. Ainda em tomate, Akhtar e Mahmood, (1994) também observaram efeito semelhante causado por produtos a base de *A. indica*. Eles atribuíram a redução dos nematoides à mineralização química dos tratamentos e da liberação de amônia, e consequentemente, o aumento dos níveis de nitrogênio e dióxido de carbono no solo (Akhtar, 2000). Ntalli et al., (2010) relataram alta atividade nematicida de *M. azedarach* contra juvenis de *Meloidogyne* e atribuiu a atividade de paralisia aos aldeídos, álcoois e ácido carboxílico.

O forte efeito nematostático observado no presente estudo, possibilitou para o grupo 1 (*L. sidoides*, *T. casaretti*, *T. elegans*, *T. catigua*, *T. pallida* e *T. ciliata*) CL_{50} de 2.70 g L^{-1} e CL_{90} 4.41 g L^{-1} , para *M. incognita*, e CL_{50} de 2.82 g L^{-1} e CL_{90} de 4.56 g L^{-1} para o grupo 1 (*T. elegans*, *T. catigua*, *T. pallida* e *T. ciliata*) de *M. enterolobii*. Estudos sobre a dose-resposta de fitoquímicos na supressão de fitonematoides estão disponíveis na literatura. Ntalli et al., (2010) observou que ao incorporar frutos de *M. azedarach* ao solo nas concentrações de 0,4% p/p houve uma redução de 50% no número de fêmeas de *M. incognita*. Espécies de Asteraceae (1% p/p no solo) reduziram a taxa de reprodução de *M. artiellia* em até 95% (Pérez et al., 2003), solo tratado com torta de neem (1% p/p) reduziu *M. hapla* em 90% (Abbasi et al., 2005), *Inula viscosa* (0,1% p/p na areia) reduziu o número de j2 de *M. javanica* (Oka et al., 2001) e espécies de Brassicaceae, tipicamente usado contra fitonematoides devido seus glicosinolatos, foram incorporados no solo na concentração de 0.5 até 9.3% p/p (Matthiessen e Kirkegaard, 2006).

Em conclusão, os resultados confirmam relatos anteriores de compostos derivados de plantas apresentarem atividade nematicida/nematostática. O efeito benéfico dos fitoquímicos naturais é uma área promissora no manejo de nematoides, pois estes são considerados inerentemente menos tóxicos do que os produtos

químicos convencionais e geralmente atingem apenas o organismo alvo (Chitwood, 2002). Os extratos de *T. casaretti*, *T. elegans*, *T. catigua*, *T. pallida* e *T. ciliata*, tem potencial como bionematicida, devido à presença de compostos efetivos contra *Meloidogyne* spp. Entretanto, informações mais específicas são necessárias sobre o modo de ação, mecanismos envolvidos na supressão dos nematoides bem como a viabilidade de utilizar esses extratos no campo.

REFERENCIAS

Abbasi, P. A., Riga, E., Conn, K.L., Lazarovits G. 2005. Effect of neem cake soil amendment on reduction of damping-off severity and population densities of plant-parasitic nematodes and soilborne plant pathogens. Canadian Journal of Plant Pathology 27:38–45.

Akhtar, M. 2000. Nematicidal potential of the tree *Azadirachta indica* (A. Juss). Integr. Pest Manage. Rev 5:57–66.

Akhtar, M., Mahmood, I. 1994. Nematode population and short-term tomato growth in response to neem-based products and other soil amendments. Nematropica 24:169-173.

Arenas, C., and Rodríguez-Hahn, L. 1990. “Limonoids from *Trichilia havanensis*”. Phytochemistry 29:29-53.

Aziz, I., Ahmad, R., Inam-ul-Haq, M. 1995. Effect of insecticides and leaf extracts on egg hatching and larval mortality of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). Pak. J. Phytopathol. 7:65-67.

Baermann, G. 1917. Eine einfache methode zur auffindung von ankyllostomum (Nematoden) larven in erdproben. Ned. Indie 57:131-137.

Baldin, E.L.L., Souza, D.R., Souza, E.S., Beneduzzi, R.A. 2007. Controle de mosca-branca com extratos vegetais, em tomateiro em casa de vegetação. Horticultura Brasileira 25:602-606.

Bray, D. H., Warhurst, D. C., Connolly, J. D., O’neill, M. J., Phillipson, J. D. 1990. “Plants as sources of antimalarial drugs. Part 7. Activity of some species of Meliaceae plants and their constituent limonoids”. Phytoterapy Res. 4:29.

Cavoski, I., Chami, A. Al., Bouzebboudja, F., Sasanelli, N., Simeone, V., Mondelli, D., Miano, T., Sarais, G., Ntalli, N. G., Caboni P. 2012. *Melia azedarach* controls *Meloidogyne incognita* and triggers plant defense mechanisms on cucumber. Crop protection 35:85-90.

Champagne, D. E., Koul, O., Isman, M. B., Scudder, G. G. E. and Towers, G. H. N. 1992. “Biological activity of limonoids from the Rutales” Phytochemistry, 31:377.

Chan, W. R., Gibbs, J. A. and Taylor, D. R. 1973. "Triterpenoids from *Trichilia havanensis* Jacq. Part I. The acetates of havanensin and trichilenone, new tetracarboxylic tetranortriterpenes". J. Chem. Soc. Perkin I 10-47.

Chauret, D. C., Durst, T.; Arnason, J. T., Sanchez-Vindas, P., Roman, L. S., Poveda, L., Keifer, P. A. 1996. "Novel steroids from *Trichilia hirta* as identified by nanoprobe INADEQUATE 2D-NMR spectroscopy". Tetrahedron Letters 37: 75-78.

Chitwood DJ, 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology 40:221-49.

Connolly, J. D., Labbé, C., Rycroft, D., Okorie, D. A., Taylor, D. A. H. 1973. "Tetranortriterpenoids and related compounds. Part 23. Complex tetranortriterpenoids from *Trichilia prieuriana* and *Guarea thompsonii* (Meliaceae), and the hydrolysis products of dregeanin, prieurianin, and related compounds". J. Chem. Research 256.

Cortez, D.A.G., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Da Silva, M. F. G. F., Ferreira, A. G. 2000. A limonoid from *Trichilia stipulata*". Phytochemistry 55: 711.

Cortez, D.A.G.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; Da Silva, M. F. G. F., Ferreira, A. G. 1998. "Limonoids from *Trichilia hirta*". Phytochemistry 31:625.

Da Silva, M. F. G. F., Gottlieb, O. R, Dreyer, D. L. 1984. "Evolution of limonoids in the Meliaceae". Biochem. Syst. Ecol.,12:299.

Ferraz, S., De Freitas, L.G., 2004. Use of antagonistic plants and natural products. In: Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W. (Eds.). Nematology Advances and Perspectives. Tsinghua University Press, Beijing 931-977.

Garcez, F. R., Garcez, W. S., Rodrigues, E. D., Pott, V. J. and Roque, N. F. 1997. Seco-protolimonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". Phytochemistry 42:1399.

Garcez, F. R., Garcez, W. S., Roque, N. F., Castellano, E. E., Zuckerman-Schpector, J. 2000. "7-beta-oxygenated limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". Phytochemistry 55:733.

Garcez, F. R., Garcez, W. S., Tsutsumi, M. T., Roque, N. F. 1996. "Limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". Phytochemistry 45:141.

Giannakou, I. O., and Karpouzas, D. G. 2003. Evaluation of chemical and integrated strategies as alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in Greece. Pest Management Science 59:883-892.

Giannakou, I. O., Karpouzas, D. G., Anastasiadis, I., Tsiropoulos, N. G., Georgiadou, A. 2005. Factors affecting the efficacy of non-fumigant nematicides to control root-knot nematodes. Pest Management Science 61:961-972.

Giannakou, I. O., Sidiropoulos, A., Prophetou-Athanasiadou, D. 2002. Chemical alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes. Applied Soil Ecology 26:69-79.

Gommers, F.J. 1981. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthol. Abstract Series B* 50:9–24.

Gommers, F.J., Barker, J. 1988. Physiological diseases induced by plant response or products. In: Poiner, G.O., Jansson, H.B. (Eds.), *Diseases of Nematodes* 3–22.

Hackney, R.W., Dickerson, O. J. 1975. Marigold, castor bean, and *Chrysanthemum*, as controls of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus alleni*. *Journal of Nematology* 7:84–90.

Hasabo, S.A., Noweer, E.M.A. 2005. Management of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on eggplant with some plant extracts. *J. Phytopathol* 33:65–72.

Hinde, J., and Demétrio, C. G. B. 1998. *Overdispersion: Models and Estimation*, São Paulo: Associação Brasileira de Estatística.

Immaraju, J.A. 1998. The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programmes. *Pestic. Sci.* 54:285–289.

Inada, A., Konishi, M., Murata, H., Nakanishi, T. 1994. “Structures of a new limonoid and a new triterpenoid derivative from pericarps of *Trichilia connaroides*”. *J. Nat. Prod.* 57:1446–1994.

Isman, M.B. 2000. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol* 51:45–66.

Javed, N., Gowen, S.R., Gowen, Inam-ul-haq, M., Anwar, S. A. 2007. Protective and curative effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations on the development of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. *Crop protection* 26:530–534.

Jolad, S. D., Hoffmann, J. J., Cole, J. R. 1980. “Constituents of *Trichilia hispida* (Meliaceae). 2. A new triterpenoid, hispidone and bourjotinolone A”. *J.Org. Chem.* 45: 3132.

Jolad, S. D., Hoffmann, J. J., Schram, K. H., Cole, J. R., M.S., Bates, R. B. 1981. “Constituents of *Trichilia hispida* (Meliaceae). Structures of the cytotoxic limonoids: hispidins A, B and C”. *J. Org. Chem* 46:641.

Khanna, A.S., 1991. In vitro studies on some plants extract as nematicides against *M. incognita*. *Curr. Nematol* 2:199–200.

Khurma, U.R., Singh, A. 1997. Nematicidal potential of seed extracts: in vitro effects on juvenile's mortality and egg hatching of *M. incognita* and *M. javanica*. *Nematol. Medit* 25:49–54.

Matthiessen, J.N., Kirkegaard, J.A., 2006. Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management. *Crit. Rev. Plant Sci* 25:235–265.

McCullagh, P. and Nelder, J.A., 1989. *Generalized Linear Models*. 2nd Edition, Chapman and Hall, London.

Mordue, A.J., Blackwell, A. 1993. Azadirachtin: an update. *J. Ins. Physiol.* 39:903–924.

Musza, L. L.; Killar, L. M.; Speight, P.; Barrow, C. J.; Gillum, A. M. & Cooper, R. 1995. "Minor limonoids from *Trichilia rubra*". *Phytochemistry* 39:621.

Naz, I., Palomares-Rius, E. J., Saifulah, V., Blok, M. R., Khan, S., Ali, S., Ali, S. 2013. In vitro and in planta nematicidal activity of *Fumaria parviflora* (Fumariaceae) against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant pathology* 62:943-952.

Ntalli, N.G., Menkisoglu-Spiroudi, U., Giannakou, I. 2010. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. *Ann. Appl. Biol.* 156:309-317.

Oka Y., Ben-Daniel B-H., Cohen Y. 2001. Nematicidal activity of powder and extracts of *Inula viscosa*. *Nematology* 3:735–742.

Oliveira, C.M.G.; Tomazini, M.D.O. 2008. Procedimentos para eletroforese de isoenzimas. In: Curso de identificação de espécies de *Meloidogyne* através da técnica de eletroforese de isoenzimas, Botucatu-Sp.

Olugbade, T. A. 1991. "Tetracyclic triterpenoids from *Trichilia prieupriana* leaves". *Phytochemistry* 30:698.

Pérez, M.P., Navas-Cortés, J. A., Pascual-Villalobos, M. J., Castillo P. 2003. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. *Plant Pathology* 52:395–401.

Paula, G.A. 2013. Modelos de Regressão com apoio computacional. Acesso disponível em: https://www.ime.usp.br/~giapaula/texto_2013.pdf.

Pennington, T. D. 1981. "A monograph of neotropical Meliaceae". *Flora Neotr.* 28:470.

Ploeg, A, 1999. Greenhouse studies on the effect of marigolds (*Tagetes* spp.) on four *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 31:62–9.

Pupo, M. T., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., Da Silva, M. F. G. F. 1998. "Gamma-lactones from *Trichilia clausenii*". *Phytochemistry* 48: 307.

Pupo, M.T.; Adorno, M. A. T., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., Da Silva, M.F.G.F. 2002. "Terpenoides and Steroids from *Trichilia* Species". *J. Braz. Chem. Society.* 13:382.

Pupo, M.T., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., Da Silva, M.F.G.F. 1997. "Androstane e pregnane 2- β ,19-hemiketal steroids from *Trichilia clausenii*". *Phytochemistry* 45:1495.

Rodríguez, B., Caballero, C., Ortego, F., Castañera, P. 2003. "A new tetranortriterpenoid from *Trichilia havanensis*". *J. Nat. Prod* 66:452.

Rodríguez-Hahn, L., Cárdenas, J., Arenas, C. 1996. "Trichavensin, a prieurianin derivative from *Trichilia havanensis*". *Phytochemistry* 43:457.

Sabastiana, S., Gupta, P., 1997. Laboratory screening of some nematicides and oil extract against *Pratylenchus thornei*. Indian J. Nematol 27:133–134.

SAS. 2014. SAS 9.4 (TS1M3) for Windows Microsoft. SAS Institute, Inc. Cary, NC, EEUU

Sasser, J.N., Carter, C.C. 1985. Overview of the international *Meloidogyne* project, 1975–1984. An Advanced Treatise on Meloidogyne, Biology and Control 1:19–24.

Sikora, R. A., and Fernandez, E. 2005. Nematode parasites of vegetables. In M. Luc, R. A. Sikora, and J. Bridge (Eds.), Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture 319–392.

Tinto, W. F., Jagessar, P. K., Ketwaru, P., Reynolds, W. F., Mclean, S. 1991. “Constituents of *Trichilia schomburgkii*”. J. Nat. Prod. 54:972.

Uhlenbroek, J.H., Bijloo J.D. 1958. Investigations on nematicides. I. Isolation and structure of a nematocidal principle occurring in Tagetes roots. Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas 77:1004–8.

Wedderburn, R. 1974. “Quasi-Likelihood Functions, Generalized Models and the Gauss-Newton Method”. Biometrika. 61:439-443.

Zhang, H., Wu, S., Shen, Y., Ma, Y., Wu, D., Qi, S., Luo, X. 2003. “A pentanortriterpenoid with a novel carbon skeleton and a new pregnane from *Trichilia connaroides*”. Can. J. Chem 81: 253.

CAPÍTULO 2
ATIVIDADE NEMATICIDA DE PLANTAS DA FAMÍLIA MELIACEAE CONTRA OS
NEMATOIDES DAS GALHAS *Meloidogyne incognita* E *Meloidogyne enterolobii*
NO TOMATEIRO

(artigo redigido conforme normas da revista Journal of Nematology)

RESUMO

Formulações brutas de plantas da família *Meliaceae* (*T. casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans*) foram incorporadas ao solo de forma protetora e curativa e avaliados na supressão da população de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* na cultura do tomateiro. A aplicação das formulações nos dois momentos reduziu significativamente o número de nematoides e o número de ovos por massa de ovos das duas espécies avaliadas, apresentando resultados similares ou superiores que o nematicida a base de Carbofuran. O tratamento *T. elegans*, apresentou os resultados mais promissores, possibilitando no tratamento protetor, fator de reprodução (FR) de 0,90 e 3,37 para *M. enterolobii* e *M. incognita*, valor muito abaixo da testemunha (água) de 23,65 e 24,77, respectivamente. O efeito das formulações brutas dos tratamentos sobre a supressão da população dos nematoides foi testado aos 15, 30, 45, 60 e 75 dias após a aplicação dos tratamentos. Todos os tratamentos reduziram a população dos nematoides, no entanto, 60 dias após a aplicação dos tratamentos sua eficácia diminuiu e a população dos nematoides passou a aumentar. Desta forma, a incorporação ao solo das formulações brutas dos tratamentos pode ser considerada nas estratégias de manejo sustentável do *M. incognita* e *M. enterolobii* na cultura do tomateiro.

Palavras-chave: Atividade nematicida, controle de nematoides, nematicidas botânicos, nematoide das galhas, tratamento orgânico.

ABSTRACT

Crude formulations from plants the family *Meliaceae* (*T. casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua* and *T. elegans*) were incorporated into the soil in a protective and curative manner and evaluated in the suppression of the population of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne enterolobii* in the tomato crop. The application of the formulations at both times significantly reduced the number of nematodes and the number of eggs per egg mass of the two evaluated species, presenting similar or superior results than carbofuran based nematicide. The treatment *T. elegans* presented the most promising results, allowing for the protective treatment, reproduction factor (FR) of 0.90 and 3.37 for *M. enterolobii* and *M. incognita*, a value well below the control

(water) of 23,65 and 24,77, respectively. The effect of crude treatment formulations on nematode population suppression was tested at 15, 30, 45, 60 and 75 days after application of the treatments. All treatments reduced the nematode population, however, 60 days after the application of the treatments their efficacy decreased and the nematode population increased. Thus, incorporation into the soil of crude treatments formulations can be considered in the strategies of sustainable management of *M. incognita* and *M. enterolobii* in tomato crop.

Keywords: Nematicidal activity, control of nematodes, botanical nematicides, root-knot nematodes, organic treatment.

2.1 INTRODUÇÃO

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) atacam uma ampla gama de hospedeiros e causam danos devastadores em várias culturas tropicais e subtropicais, sendo responsáveis em cultivos de hortaliças por perdas entre 20 e 100%, dependendo da densidade populacional, suscetibilidade do cultivar, espécie do nematoide, tipo de solo e condições ambientais (Sikora e Fernández, 2005). No Brasil, os nematoides das galhas, principalmente as espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoed e White) Chitwood e *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood são responsáveis pelos maiores danos em hortaliças (Ferraz et al., 2010). Além destes nematoides, em 2001 foi registrado o *M. enterolobii* (Yang; Eisenback, 1983) Sin.: *M. mayaguensis* (Rammah; Hirschmann, 1988) causando prejuízos em pomares de goiaba nos estados de Pernambuco e Bahia (Carneiro et al., 2001). A alta taxa de reprodução e a ampla gama de hospedeiros evidencia a agressividade da espécie, capaz de superar fontes de resistência a outras meloidoginoses como *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (Cantu, 2009; Kiewnick; Dessimoz; Franck, 2009).

O manejo destes nematoides tornou-se ainda mais difícil, devido ao uso restrito ou à proibição de nematicidas químicos fumigantes, com alta toxicidade. As preocupações com a saúde e a contaminação do meio ambiente levam a um futuro incerto sobre a utilização de produtos químicos no manejo dos nematoides (Giannakou e Karpouzias, 2003; Giannakou et al., 2002; Giannakou e Anastasiadis, 2005). Neste contexto, há um crescente interesse em descobrir compostos nematicidas derivados das plantas (Chitwood, 2002), por apresentarem-se efetivos

no manejo destes nematoides (Isman, 2000; Chitwood, 2002; Matthiessen e Kirkegaard, 2006).

Uma alternativa para a substituição dos fumigantes sintéticos é o uso de partes de plantas ou compostos bioativos derivados de plantas. Estes compostos, ou plantas que os contenham, podem ser utilizados como biopesticida ou material orgânico incorporado ao substrato (Akhtar, 1993; Simonetti et al., 2010).

Os extratos aquosos ou os óleos essenciais apresentam componentes químicos com estruturas diversas, como sesquiterpenos, terpenos, fenil 45ematostáti, fenólicos, alifáticos não terpênicos, heterocíclicos, 45ematos, cetonas, aldeídos, acetatos, ácidos carboxílicos, ésteres, cada molécula com sua característica aromática e ação bioquímica (Rao et al., 2007). São relatados na literatura vários exemplos de plantas com potencial para a produção de nematicidas naturais por conterem princípios ativos com propriedades nematicidas ou 45ematostática (Lewis; Papavizas, 1971; Gommers, 1981; Lazzeri et al., 1993; Mayton, et al., 1996; Ferris; Zheng, 1999; Maistrello, et al., 2010). As plantas mais relatadas são *Tagetes* spp. (Família *Asteraceae*), neem (*Azadirachta indica*, família *Meliaceae*), *Crotalaria juncea*, feijão de porco (*Mucuna* spp.) e várias espécies de gramíneas da família *Poaceae* (Chitwood, 2002; Ferraz, et al. 2010).

A incorporação de matéria orgânica ao solo é outra prática que tem demonstrado grande potencial no controle de nematoides (Rodríguez; Kabana, 1994, Wang et al., 2002, Wildmer et al., 2002). A decomposição da matéria orgânica incorporada ao solo favorece a proliferação de inimigos naturais dos fitonematóides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, além de liberem substâncias tóxicas (Akhtar, 2000).

A atividade nematicida da matéria orgânica no solo pode ser atribuída a mineralização química liberando amônia, aumentando os níveis de nitrogênio e dióxido de carbono, reduzindo o nível de oxigênio; pela liberação de compostos tóxicos, ou pelo aumento no número de fungos e bactérias antagonistas à fitonematoides (Rodríguez-Kabana, 1994). Dias et al. (1999) citam que essas substâncias possuem efeito nematicida ou nematostático, ou ainda podem interferir na eclosão de juvenis. Entre várias matérias orgânicas avaliadas contra a ação de fitonematóides quando adicionadas ao solo, óleos e tortas têm sido considerados muito promissores (Goswami; Vijayalakshmi, 1981; Siddiqui; Alam, 1987; Johti et al., 2004), mas ainda não têm sido efetivamente explicadas. Entretanto, além das

propriedades nematicidas, óleos e tortas contém nitrogênio, fósforo e potássio e seu uso combinado em um esquema de manejo integrado pode ser uma maneira econômica e efetiva para o manejo populacional de fitonematóides com uma contribuição adicional à nutrição da planta (Du et al., 2011).

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da incorporação ao solo de maneira protetora e curativa, das formulações brutas de *T. casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans*, na redução da população de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* no tomateiro, bem como avaliar a persistência dos tratamentos no solo.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Proteção de Vegetal da FCA/UNESP-Botucatu.

Obtenção e preparo do inóculo de M. incognita e M. enterolobii: Os nematoides das galhas *M. incognita* raça 2 e *M. enterolobii*, inicialmente multiplicados em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. “Rutgers” foram mantidas em casa de vegetação e identificadas pelo padrão perineal das fêmeas e pelo padrão eletroforético de isoenzimas de acordo com Oliveira e Tomazini, (2008).

Os ovos foram extraídos em solução de hipoclorito de sódio (1%) (Hussey e Barker, 1973) e os juvenis de segundo estágio (j2) foram obtidos através da metodologia de Baerman modificado (Baermann, 1917) e acondicionado em câmara de crescimento a 26°C. Os j2 eclodidos nas primeiras 48 horas foram descartados, e apenas os j2 eclodidos nas 24 horas subsequentes, foram utilizados nos experimentos.

Obtenção das espécies vegetais e preparo das formulações brutas: As exsiccatas das espécies analisadas foram inicialmente identificadas e encontram-se depositadas em herbário. As estruturas vegetais de cada espécie foram secas em estufa de ar circulante (40°C) por 48 horas. Após a secagem, o material foi triturado em moinho elétrico de facas e os respectivos pós obtidos, foram armazenados separadamente em recipiente fechados para maior preservação de seus componentes (Baldin et al., 2007).

A dose utilizada em cada tratamento foi inicialmente estabelecida através de experimentos que avaliaram a concentração necessária para reduzir 50% da população dos nematoides (CL_{50}), sendo determinado uma dose de $2,70 \text{ g L}^{-1}$ para *M. incognita* e $2,82 \text{ g L}^{-1}$ para *M. enterolobii*.

Experimento 1 - Efeito protetor: Para avaliar o efeito protetor dos tratamentos, substrato composto por solo, areia e matéria orgânica (1:2:1), previamente autoclavado, foram tratados com $2,70 \text{ g L}^{-1}$ da formulação bruta dos tratamentos (*Trichilia casaretti*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua* e *Trichilia pallida*) nos ensaios com *M. incognita*, $2,82 \text{ g L}^{-1}$ nos ensaios com *M. enterolobii* e transferidos para copos com capacidade de 700 mL. Como controle negativo, foi utilizado solo sem tratamento e como controle positivo o solo foi tratado com o produto comercial Furadan 50 G[®], na dosagem recomendada pelo fabricante (5g/cova). Decorridos sete dias após a aplicação dos tratamentos, foram transplantados para os copos, plantas com 15 dias de idade de tomate cv. Santa Clara. Três dias após o transplante foi inoculado simultaneamente uma suspensão de 2 mL, contendo 500 j2 recém eclodidos. A irrigação foi realizada de acordo com a necessidade da planta. Os tratamentos foram alocados aleatoriamente em parcelas, caracterizando um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições em cada tratamento.

Desenvolvimento dos nematoides: Decorridos 32 dias da inoculação, as plantas foram coletadas separando-se o sistema radicular e a parte aérea. Os sistemas radiculares foram lavados em baldes contendo água e depositados em papel toalha para a retirada do excesso de umidade, sendo então determinada a massa da raiz fresca. Em seguida, realizou-se a extração dos nematoides do sistema radicular, conforme metodologia proposta por Hussey e Barker (1973), adaptada por Boneti e Ferraz (1981). A determinação do número final de ovos e eventuais juvenis recém-eclodidos na suspensão foi efetuada com o auxílio da lâmina de Peters, sob microscópio de luz. Esse número foi empregado para a obtenção do número de nematoides por grama de raiz, número de nematoides por sistema radicular e o fator de reprodução (população final do nematoide (Pf)/ população inicial (número de ovos utilizado nas inoculações do nematoide) (Pi)), segundo Oostenbrink (1966), ou seja, igual ou maiores que 1,0, multiplicou a população de nematoides e menores que 1,0, reduziu a população inicial dos nematoides.

Ovos por massas de ovos: Dez massas de ovos uniformes, escolhidas aleatoriamente, com o auxílio de uma alça e bisturi foram retiradas de cada planta e transferidas para placas de petri (2,5 cm de diâmetro) contendo solução de NaOCl à 10%. Foi realizada a contagem dos ovos em lupa com aumento de 40 vezes e determinada a média de ovos por massa de ovos de cada repetição.

Experimento 2 – Efeito curativo: O efeito curativo dos tratamentos sobre os nematoides das galhas *M. incognita* e *M. enterolobii*, foi avaliado em copos com capacidade de 700 mL, contendo substrato composto por solo, areia e matéria orgânica (1:2:1), previamente autoclavado. Cada repetição recebeu uma planta de tomate cv. Santa Clara com 15 dias de idade e posteriormente inoculadas com uma suspensão de 2 mL contendo 500 j2 recém eclodidos. Cinco dias após a inoculação as plantas foram cuidadosamente retiradas e replantadas em copos de 700 mL, contendo os tratamentos (*Trichilia casaretti*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua* e *Trichilia pallida*) nas concentrações equivalentes à CL₅₀ (2.70 g L⁻¹ para *M. incognita* e 2.82 g L⁻¹ para *M. enterolobii*). O controle negativo utilizado foi solo sem tratamento e o controle positivo solo tratado com o produto comercial Furadan 50 G®, na dosagem recomendada pelo fabricante (5g/cova). A irrigação foi realizada de acordo com a necessidade da planta. Decorridos 32 dias após a inoculação, as plantas foram retiradas e avaliadas quanto ao número de nematoides por planta, número de nematoides por grama de raiz e fator de reprodução, as metodologias utilizadas foram citadas anteriormente. Os tratamentos foram alocados aleatoriamente em parcelas, caracterizando um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições em cada tratamento.

Experimento 3 – Estudo da persistência dos tratamentos no solo: Para avaliar a persistência dos tratamentos no solo, substrato composto por solo, areia e matéria orgânica (1:2:1), previamente autoclavado foi homogeneizado com as formulações brutas das plantas avaliadas (*Trichilia casaretti*, *Trichilia elegans*, *Trichilia catigua* e *Trichilia pallida*) nas concentrações correspondentes à CL₅₀ de 2.70 e 2.82 g L⁻¹, para *M. incognita* e *M. enterolobii*, respectivamente. Foi utilizado como controle negativo solo sem tratamento e o controle positivo o produto comercial Furadan 50 G®, na dosagem recomendada pelo fabricante (5g/cova). Plantas de tomate cv. Santa Clara foram transplantadas para vasos com capacidade de 1 L contendo os tratamentos e após dois dias do transplante, 500 j2 foram inoculados por planta. A irrigação foi realizada de acordo com a necessidade da

planta. Após 30 dias da inoculação, cinco plantas de cada tratamento foram coletadas e avaliadas quanto ao número de nematoides por grama de raiz, de acordo com a metodologia supracitada. Avaliações similares foram realizadas aos 45, 60 e 75 dias após a inoculação. Desta forma, foi realizado um estudo de dados longitudinais por meio de um delineamento inteiramente casualizado, com medidas repetidas em quatro momentos distintos, em seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram alocados aleatoriamente as parcelas (compostas por uma planta) e as cinco repetições foram avaliadas em quatro momentos (30, 45, 60 e 75 dias).

Análise estatística: As análises foram executadas na plataforma livre R-Gui (R CORE TEAM, 2017). Os dados originais foram resumidos por meio das médias e desvio padrão em cada tratamento e, no estudo da persistência, por tratamento e momento de avaliação.

Para os estudos dos efeitos protetor e curativo foi realizada a análise de variância (ANOVA), complementada com teste de comparação múltipla de Tukey.

Para o estudo da persistência os dados foram transformados para adequação à distribuição normal de probabilidade e o teste de Mauchly foi utilizado para verificação da esfericidade. Com a adequação a este pressuposto, foi utilizada a técnica de análise de variância no modelo de medidas repetidas, complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni. Todos os resultados analíticos foram realizados com um nível de 5% de significância.

2.3 RESULTADOS

Experimento 1- Efeito protetor: Os tratamentos usados de forma protetora reduziram significativamente ($p < 0.05$) o número de nematoides por grama de raiz e o número total de nematoides por sistema radicular do tomateiro, para as duas espécies de nematoides avaliadas (Tabelas 1 e 2).

Os resultados mais promissores foram observados com a espécie *T. elegans*, em que o número de nematoides por grama de raiz foi de 31 para *M. enterolobii* e 153 para *M. incognita*, valores muito abaixo dos encontrados na testemunha (água) de 1.329,80 e 1.471,40, respectivamente (Figura 1). Tais valores possibilitaram para este tratamento fator de reprodução (FR) de 3,4 para *M. incognita* e 0,90 para *M. enterolobii*. Com relação ao número total de nematoides por sistema radicular, observou-se que para *M. enterolobii* os tratamentos *T.*

casaretti, *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans* não diferiram estatisticamente entre si ($p < 0.05$), mas diferiram em relação ao controle negativo (água) e ao controle positivo (Carbofuran), já para *M. incognita* o melhor tratamento foi o *T. elegans*, seguido de *T. catigua* e *T. pallida*.

Tabela 1. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e fator de reprodução (FR) de *M. enterolobii*, submetido a diferentes tratamentos de forma protetora.

Tratamentos	Variáveis			
	NN/g	TSR	OMO	FR
Controle (água)	1329,8 (347,8) a	11824,40 (567,9) a	483,2 (37,4) ns	23,7 (6,8) a
Nematicida (Carbofuran)	807,8 (56,6) ab	8871,70 (409,33)a	465,4 (57,5)	17,7 (2,0) a
<i>T. casaretti</i>	400,0 (162,7) cd	3757,68 (208,9) b	419,4 (72,7)	7,5 (4,2) b
<i>T. pallida</i>	483,6 (113,4) bc	3673,85 (144,8) b	412,8 (40,5)	7,3 (1,5) b
<i>T. catigua</i>	212,4 (86,7) d	2201,48(102,8) b	429,8 (49,9)	4,4 (1,1) b
<i>T. elegans</i>	31,0 (14,9) e	453,98 (67,7) b	494,2 (35,3)	0,9 (0,5) c
CV (%) experimental	10,9	17,74	5,63	11,2

Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Os resultados da média e desvio padrão foram obtidos a partir dos dados originais. Análise estatística das variáveis NN/g e FR realizada com dados transformados por $x^{0,3}$ e OMO com dados transformados por $x^{0,5}$.

ns- diferença não significativa entre os tratamentos.

Com relação ao número de ovos por massa de ovos, observou-se que para *M. enterolobii* não houve diferença significativa ($p < 0.05$) entre os tratamentos. Quanto ao *M. incognita*, todos os tratamentos diferiram da testemunha (água) e o *T. elegans* diferiu dos demais tratamentos, apresentando média de 279,60 ovos por massa de ovos, indicando uma redução de 231% em relação ao controle negativo (água).

Tabela 2. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e Fator de reprodução (FR) de *M. incognita* submetidos a diferentes tratamentos de forma protetora.

Tratamentos	Variáveis			
	NN/g	TSR	OMO	FR
Controle (água)	1471,4 (213,8) a	12106,57 (409,7) b	648,6 (86,8) d	24,8 (4,4) b

Nematicida (Carbofuran)	1442,8 (194,3) a	17532,81 (533,4) a	511,0 (22,8) c	35,1 (8,3) a
<i>T. casaretti</i>	877,8 (104,6) b	8210,85 (399,1) bc	493,6 (35,3) bc	16,4 (1,8) c
<i>T. pallida</i>	818,8 (72,0) b	7190,00 (203,7) c	432,4 (14,2) b	14,4 (2,5) c
<i>T. catigua</i>	498,6 (64,4) c	5478,95 (165,5) cd	442,4 (51,5) bc	11,0 (2,6) c
<i>T. elegans</i>	153,0 (54,2) d	1684,98 (69,6) d	279,6 (14,8) a	3,4 (1,5) d
CV (%) experimental	7,3	11,48	7,7	11,1

Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Os resultados da média e desvio padrão foram obtidos a partir dos dados originais. Análise estatística das variáveis NN/g e FR realizada com dados transformados por $x^{0,5}$ e OMO com dados transformados por x^{-1} .



Figura 1- Sistema radicular do tomateiro aos 32 dias de idade, inoculado com *M. enterolobii* e submetido aos tratamentos de forma protetora. A- Esquerda: Controle (água), Direita: *T. catigua*; B – Esquerda: Controle (água), Direita: *T. elegans*; C – Esquerda: Controle (água), Direita: *T. pallida*; D – Esquerda: Controle (água), Direita: *T. casaretti*.

Experimento 2- Efeito Curativo: A aplicação dos tratamentos de forma curativa reduziu significativamente ($p < 0,05$) o número de nematoides por grama de raiz e por sistema radicular, quando comparado com a testemunha (Tabela 3 e 4). Para *M. incognita*, *T. elegans* apresentou o menor número de nematoides por sistema radicular (3.775,02), proporcionando uma redução de 410% e fator de reprodução quatro vezes

menor (7.6), quando comparado com a testemunha (água) (31,0). O mesmo tratamento também apresentou os resultados mais promissores para *M. enterolobii*, com redução de 183% dos nematoides e fator de reprodução duas vezes menor (10.59).

Com relação ao número de ovos/massa de ovos os tratamentos *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans* diferiram ($p < 0.05$) em relação aos demais tratamentos, com redução de aproximadamente 140% no número de ovos de *M. incognita*. Para *M. enterolobii*, *T. catigua* apresentou a menor média (454,80 ovos), levando a uma redução de 118% no número de ovos/massa de ovos (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e fator de reprodução (FR) de *M. incognita* submetido a diferentes tratamentos de forma curativa.

Tratamentos	Variáveis			
	NN/g	TSR	OMO	FR
Controle (água)	1518,0 (460,3) c	15481,56 (603,3) a	659,6 (44,2) a	31,0 (5,4) a
Nematicida (Carbofuran)	806,2 (166,7) b	8843,16 (212,4) b	549,4 (55,6) ab	17,7 (2,0) b
<i>T. casaretti</i>	637,6 (92,1) b	5046,83 (187,3) cd	605,0 (42,0) a	10,1 (2,4) cd
<i>T. pallida</i>	645,8 (48,5) b	6744,30 (144,2) bcd	480,0 (66,3) b	13,5 (2,3) bc
<i>T. catigua</i>	621,0 (49,8) b	7632,48 (244,8) bc	471,6 (34,2) b	15,3 (2,5) bc
<i>T. elegans</i>	415,8 (46,3) a	3775,02 (76,2) d	469,8 (96,1) b	7,6 (2,8) d
CV (%) experimental	13,6	9,93	5,9	10,0

Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Os resultados da média e desvio padrão foram obtidos a partir dos dados originais. Análise estatística das variáveis OMO e FR realizada com dados transformados por $x^{0,5}$ e NN/g com dados transformados por x^{-1} .

Tabela 4. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g), Total por sistema radicular (TSR), Ovos por massa de ovos (OMO) e fator de reprodução (FR) de *M. enterolobii*, submetido a diferentes tratamentos de forma curativa.

Tratamentos	Variáveis			
	NN/g	TSR	OMO	FR
Controle (água)	1307,4 (296,7) a	9702,65 (234,6) a	540,6 (44,1) abc	19,4 (6,2) a
Nematicida (Carbofuran)	1315,0 (157,5) a	10890,91(509,6) a	576,2 (40,6) ab	21,8 (3,9) a
<i>T. casaretti</i>	902,2 (108,5) b	7624,83 (194,8) ab	591,0 (42,9) a	15,2 (2,6) ab

<i>T. pallida</i>	932,0 (113,5) b	9694,59 (220,8) a	492,0 (23,5) bcd	19,4 (2,9) a
<i>T. catigua</i>	702,6 (85,9) b	7731,73 (106,2) ab	454,8 (20,4) d	15,5 (1,1) ab
<i>T. elegans</i>	403,0 (67,8) c	5298,22(219,9) b	490,8 (68,5) cd	10,6 (1,5) b
CV (%) experimental	2,3	9,84	4,1	6.4

Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Os resultados da média e desvio padrão foram obtidos a partir dos dados originais. Análise estatística das variáveis NN/g e FR realizada com dados transformados por $\log(x+1)$ e OMO com dados transformados por $x^{0,5}$.

Experimento 3 - Estudo da persistência: Os experimentos testando a persistência das formulações no solo e seu efeito sobre *M. enterolobii* e *M. incognita* ao longo do tempo, apresentaram interações significativa entre os tratamentos e os dias de avaliação (Tabelas 5 e 6).

Pode-se observar no ensaio com *M. enterolobii* (Tabela 5), que os tratamentos reduziram a população de nematoides em relação à testemunha (água) ($p < 0,05$), sendo *T. catigua* e *T. elegans* os que apresentaram os melhores resultados. Quanto aos dias de avaliação, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) aos 30 e 45 dias, porém, observou-se um aumento na população dos nematoides aos 60 e 75 dias, indicando possivelmente menor efeito dos tratamentos sobre os nematoides.

Para o experimento com *M. incognita*, houve interação significativa entre os tratamentos e os dias de avaliação (Tabela 6). Desta forma, pode-se observar que todos os tratamentos diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) do controle (água) e do nematicida comercial (Furadan 50 G[®]) em todos os momentos de avaliação, destacando-se o *T. elegans*, que apresentou valores significativamente menores que os demais tratamentos. No entanto, observou-se também que houve um aumento significativo da população dos nematoides aos 60 e 75 dias, indicando desta forma redução do potencial nematicida ou nematostático dos tratamentos.

Tabela 5. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g) de *M. enterolobii*, submetido a diferentes tratamentos e avaliados em quatro momentos.

Tratamentos	Tempo			
	30d	45d	60d	75d
Controle (água)	1258,4(325,7) dA	1482,4(307,7) cAB	1931,2(375,5) bBC	2127,2(287,4) cC

Nematicida (Carbofuran)	896,4(142,5) cdA	1138,0(286,8) bcAB	1464,8(303,6) bBC	1868,4(130,2) cC
<i>T. casaretti</i>	548,4(84,4) cA	671,2(222,2) bA	1074,8(172,5) bB	1631,6(140,9) cC
<i>T. pallida</i>	649,4(128,9) cA	835,6(339,6) bcA	1209,2(471,9) bB	1544,6(482,4) bcB
<i>T. catigua</i>	314,4(79,1) bA	359,2(97,2) aAB	466,2(135,3) aBC	604,8(165,2) aC
<i>T. elegans</i>	134,4(44,8) aA	179,2(41,1) aA	345,4(103,8) aC	714,2(121,1) bD

Médias seguidas de letras minúsculas distintas em cada momento indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Bonferroni. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas em cada tratamento indicam diferenças significativas entre os momentos de avaliação ($p < 0,05$) pelo teste de Bonferroni. Os resultados da média e desvio padrão foram obtidos a partir dos dados originais. Análise estatística da variável NN/g realizada com dados transformados $\log(x)$.

Tabela 6. Média (desvio padrão) do número de nematoides por grama de raiz (NN/g) de *M. incognita*, submetido a diferentes tratamentos e avaliados em quatro momentos.

Tratamentos	Tempo			
	30d	45d	60d	75d
Controle (água)	1497.6 (380.7) eA	1253.6 (79.9) cA	1937.6 (145.0) dB	2089.4 (166.0) dB
Nematicida (Carbofuran)	931.6 (59.8) dA	863.8 (79.2) cA	1210.6 (145.5) cB	1368.8 (304.6) cB
<i>T. casaretti</i>	455.2 (71.5) cA	449.2 (134.6) bA	511.2 (93.5) bA	787.0 (62.4) bB
<i>T. pallida</i>	525.6 (53.7) cA	481.8 (66.7) bA	590.0 (28.7) bAB	700.4 (77.9) bB
<i>T. catigua</i>	290.8 (20.9) bA	253.4 (63.2) bA	313.6 (58.5) abA	702.6 (25.6) bB
<i>T. elegans</i>	35.2 (16.5) aA	49.0 (20.1) aA	129.6 (28.4) aB	263.2 (41.0) aC

Médias seguidas de letras minúsculas distintas em cada momento indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Bonferroni. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas em cada tratamento indicam diferenças significativas entre os momentos de avaliação ($p < 0,05$) pelo teste de Bonferroni. Os resultados da média e desvio padrão foram obtidos a partir dos dados originais. Análise estatística da variável NN/g realizada com dados transformados $\log(x)$.

2.4 DISCUSSÃO

O efeito protetor e curativo das espécies vegetais avaliadas sobre a invasão e o desenvolvimento de j2 de *M. incognita* e *M. enterolobii* foi demonstrado nos experimentos. Ambas as aplicações protetoras e curativas de *T. casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans*, foram significativamente ($p < 0.05$) mais eficazes na redução do desenvolvimento dos nematoides em comparação com a testemunha (água). A eficácia obtida nos experimentos foi similar ou maior que os resultados

obtidos pelo nematicida comercial à base de carbofuran (Furadan 50 G[®]). Estes resultados confirmam o potencial do uso de espécies da família *Meliaceae* no manejo de nematoides, como sugerem outros autores em trabalhos com *Azadirachta indica* e *Melia azedarach* (Akhtar, 2000; Aziz et al., 1995; Immaraju, 1998; Khanna, 1991; Mordue e Blackwell, 1993; Patel et al., 2004; Ntalli et al., 2010) .

Embora os dois métodos de tratamento tenham se apresentado eficientes na redução da população dos nematoides, os tratamentos utilizados de forma protetora apresentaram fator de reprodução (FR) menor que os tratamentos curativos, para os dois nematoides. Esses resultados podem ser atribuídos pela liberação de compostos bioativos presentes nos tecidos das plantas e disponibilizado no solo. O gênero *Trichilia* é o gênero dentro da família *Meliaceae* que apresenta maior número e tipo de limonóides (Pennington, 1981). Além dos limonóides, outras classes de substâncias têm sido isoladas do gênero *Trichilia*: lignanas e γ -lactonas (Pizzolatti et al., 2002; 2004) de *T. catigua*, protolimonóides de *T. elegans* (Garcez et al., 1996). A presença destas substâncias no solo antes da invasão dos juvenis no sistema radicular pode ser tóxica, levando a paralisação dos movimentos dos nematoides ou até a morte. Ntalli et al., (2010) trabalhando com a incorporação de frutos de *M. azedarach* no solo, observou a redução de 50 % da população de *M. incognita*, quando submetido ao tratamento, eles atribuíram essa redução a presença de compostos como aldeídos, álcoois, ácidos carboxílicos e principalmente o furfural solúvel, que exibe atividade nematicida contra nematoides. Cavoisky (2012), também trabalhando com incorporação de frutos de *M. azedarach* no solo, observou efeito similar ao fenamifos na redução de *M. incognita* em pepino, essas descobertas estão de acordo com Akhtar e Mahmood (1994) que observaram resultados semelhantes ao tratar o solo com *A. indica* (neem). Eles atribuíram esses resultados à mineralização química dos tratamentos e da liberação de amônia, e consequentemente, o aumento dos níveis de nitrogênio e dióxido de carbono no solo (Akhtar, 1993). Na verdade, a amônia desempenha um papel importante na supressão de nematoides e fungos parasitas (Rodriguez-Kabana, 1987).

Com relação à aplicação pós-invasão (curativa) dos tratamentos, a redução do número de nematoides e dos ovos por massa de ovos, indica que possivelmente ocorra à absorção pelo sistema radicular do tomateiro, dos compostos liberados durante a decomposição dos mesmos, prejudicando o desenvolvimento do nematoide no interior da raiz. Resultados similares foram observados por Javed et

al., (2007), que ao incorporar folhas e torta de neem de maneira curativa no solo, observou redução significativa no número de massa de ovos e dos ovos por massas de ovos de *M. incognita* em tomateiro. Os mesmos autores em ensaios em laboratório com *M. javanica*, testando diferentes dosagens de extrato aquoso de neem, observaram aumento na imobilização de 480% e na mortalidade de 430% dos nematoides, em dosagens de 10% p/v quando comparado com a testemunha (água) (Javed et al., 2008). Existem vários mecanismos possíveis envolvidos na redução da população de nematoides por esses produtos. Os compostos bioativos nematicidas no neem são solúveis em água (Egunjobi e Aflomi, 1967) e Alam et al. (1980) sugeriram que o envolvimento de compostos fenólicos absorvidos sistematicamente pelas raízes de tomate expostas em formulações de neem, pode ter induzido tolerância contra *M. incognita*. A ação sistêmica das aplicações curativas do neem sobre o desenvolvimento de nematoides são comparáveis com a ação sistêmica de nematicidas a base de carbamatos (Nelmes, 1970).

A eficiência dos tratamentos na supressão da população dos nematoides ao longo do tempo foi observada no estudo de persistência. Esse estudo sugere que ao incorporar a formulação bruta dos tratamentos no solo, a decomposição libera lentamente os compostos nematicidas/nematostáticos por período de tempo mais longo que formulações aquosas aplicadas diretamente na planta, que permanecendo exposta a luz solar, acabam degradados mais facilmente. No entanto, após 60 dias da aplicação dos tratamentos a população de nematoides aumentou estatisticamente ($p < 0.05$), indicando que a partir dessa data os tratamentos começam a perder efeito nematicida/nematostática e novas aplicações serão necessárias. Esses resultados foram observados por Javed et al., (2007), que ao avaliarem a persistência de formulações brutas de folhas e torta de neem no tomateiro, observaram redução significativa na população de *M. incognita* até 8 semanas após a aplicação dos tratamentos, decorrido esse período a população do nematoide passou a aumentar.

Desta forma, esses estudos demonstram que aplicações protetoras e curativas de *T. casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua* e *T. elegans*, são eficazes em atrasar a invasão e o desenvolvimento de *M. incognita* e *M. enterolobii* no tomateiro. A aplicação de forma protetora apresentou FR menor que a aplicação curativa para as duas espécies de nematoides, indicando maior eficácia quando os nematoides foram diretamente expostos ao tratamento, porém, as aplicações curativas demonstraram

que houve absorção dos compostos liberados dos tratamentos, mas sua eficácia pode ter sido reduzida durante a translocação. Sendo assim, esses estudos indicam que as formulações brutas das plantas avaliadas têm potencial no manejo de *M. incognita* e *M. enterolobii* e sua eficácia pode ser maior, ao utilizar os tratamentos antes do transplante das mudas, de maneira protetora, e mais tarde (após o estabelecimento da cultura) como tratamento curativo. Além disso, através dos resultados do estudo de persistência, reaplicar as formulações parece ser necessário para manter as populações dos nematoides baixas. Ensaio adicionais de biologia e de campo são necessários para obter mais informações sobre a eficiência das formulações.

REFERÊNCIAS

Akhtar, M., 1993. Utilization of waste materials in nematode control: a review. *Bioresour. Technol.* 45:1-7.

Akhtar, M., 2000. Nematicidal potential of the tree *Azadirachta indica* (A. Juss). *Integr. Pest Manage. Rev.* 5, 57–66.

Akhtar, M., Mahmood, I., 1994. Nematode population and short-term tomato growth in response to neem-based products and other soil amendments. *Nematropica* 24:169-173.

Alam, M.M., Ahmad, M., Khan, A.M., 1980. Effect of organic amendment on the growth and chemical composition of tomato, eggplants and chilli and their susceptibility to attack by *Meloidogyne incognita*. *Plant Soil* 57:231–236.

Aziz, I., Ahmad, R., Inam-ul-Haq, M., 1995. Effect of insecticides and leaf extracts on egg hatching and larval mortality of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). *Pak. J. Phytopathol.* 7:65–67.

Baermann, G. 1917. Eine einfache methode zur auffindung von ankyllostomum (Nematoden) larven in erdproben. *Ned. Indie* 57:131-137.

Baldin, E.L.L., Souza, D.R., Souza, E.S., Beneduzzi, R.A. 2007. Controle de mosca-branca com extratos vegetais, em tomateiro em casa de vegetação. *Horticultura Brasileira* 25:602-606.

Bonetti, J.I.S.; Ferraz, S. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 6:3:553.

Cantu, R. R. 2009. Reação de porta enxertos comerciais de tomateiros a *Meloidogyne mayaguensis*. *Summa Phytopathologica*, 35: 3:216-218.

Carneiro, R.D.G; Almeida, M.R.A.. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, v. 25 p. 35-44.

Cavoski, I., Chami, A. Al., Bouzebboudja, F., Sasanelli, N., Simeone, V., Mondelli, D., Miano, T., Sarais, G., Ntalli, N. G., Caboni P. 2012. *Melia azedarach* controls *Meloidogyne incognita* and triggers plant defense mechanisms on cucumber. *Crop protection* 35:85-90.

Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40: 221–49.

Dias, C. R.; Ribeiro, R. C. F.; Ferraz, S.; Vida, J. B. 1999. Efeito de Frações de Esterco Bovino na Eclosão de Juvenis de *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira*, Brasília, 23:2: 35-39.

Du S.S.; Zhang H.M.; Bai C.Q. 2011. Nematocidal flavone-c-glycosides against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) from *Arisaema erubescens* tubers. *Molecules*, 16:86.

Egunjobi, O.B., Aflomi, S.O., 1967. Effect of neem leaf extract on population of *Pratylenchus brachyurus* and on growth and yield of maize. *Nematologica* 22, 125–132.

Ferraz, S.; Freitas, L.G.; Lopes, E.A.; Dias-Arieira, C.R. 2010. Manejo sustentável de fitonematoides. Viçosa: Editora UFV, p. 306.

Ferris, H. e Zheng, L.1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology*, 31:3:241-263.

Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Rodrigues, E. D.; Pott, V. J.; Roque, N. F. 1996. "Seco-protolimonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". *Phytochemistry* 42:1399.

Gommers, F.J. 1981. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthological Abstracts, Series B. Plant Nematology*, 50:9-24.

Goswami, B. K; Vijayalakshmi, K. 1981. Effect of some indigenous plant materials and oil-cake amended soil on the growth of tomato and root-knot nematode (Abstr.). *Indian Journal of Nematology*, New Delhi, 11:1:121.

Hussey, R.S.; Baker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* sp, including a new technique. *Plant Disease Report*, Saint Paul, 57:12:1025- 1028.

Immaraju, J.A., 1998. The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programmes. *Pestic. Sci.* 54, 285–289.

Javed, N., Gowen, S.R., Gowen, Inam-ul-haq, M., Anwar, S. A. 2007. Protective and curative effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations on the development of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. *Crop protection* 26:530-534.

Javed, N.; Gowen, S. R.; El-Hassan, S. A.; Inam-ul-Haq, M.; Shahina, F.; Penbroke, B. Efficacy of neem (*Azadirachta indica*) formulations on biology of root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*) on tomato. *Crop Protection* 27 (2008 36-43).

Johti, G.; Babu, R. S.; Ramakrishnan, S.; Rajendran, G. 2004. Management of root lesion nematode, *Pratylenchus delattrei* in crossandra using oil cakes. *Bioresource Technology*, Fayetteville, 93:3:257-259.

Khanna, A.S., 1991. In vitro studies on some plants extract as nematicides against *M. incognita*. *Curr. Nematol.* 2:199–200.

Lazzeri, L.; Tacconi, R.; Palmieri, S. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 41:825-829.

Lewis, J. A.; Papavizas, G.C. 1971. Effect of sulfur containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology*, 61:208-214.

Maistrello, L., Vaccari, G., Sasanelli, N., 2010. Effect of chestnut tannins on the rootknot nematode *Meloidogyne javanica*. *Helminthologia*, v.47, p.48-57.

Matthiessen JN, Kirkegaard. 2006 Biofumigation: environmental impacts on the biological activity of diverse pure and plant-derived isothiocyanates. *Pest Management Science*, 61:10:43–51.

Mayton, H.S.; Claudia, O., Vaughn, S.F., Loria. R. 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*, 86:267-271.

Mordue, A.J., Blackwell, A., 1993. Azadirachtin: an update. *J. Ins. Physiol.* 39:903–924.

Nelmes, A.J., 1970. Behavioural response of *Heterohera rostochiensis* larvae to aldicarb and its sulfoxide and sulphone. *J. Nematol.* 2:223–227.

Ntalli, N.G., Menkisoglu-Spiroudi, U., Giannakou, I. 2010. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. *Ann. Appl. Biol.* 156:309-317.

Oliveira, C.M.G.; Tomazini, M.D.O. 2008. Procedimentos para eletroforese de isoenzimas. In: Curso de identificação de espécies de *Meloidogyne* através da técnica de eletroforese de isoenzimas. Botucatu. 34.

Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededeelingen der Landbouw-Hoogeschool, Wageningen, 66:4:3-46.

Patel, A.D., Patel, D.J., Patel, N.B. 2004. Effect of aqueous leaf extracts of botanical on egg hatching and larval penetration of *Meloidogyne incognita* in banana. Indian J. Nematol. 34:37–39.

Pennington, T. D.1981. "A monograph of neotropical Meliaceae". Flora Neotr., 28.

Pizzolatti, M. G., Venson, A. F., Smânia Jr, a., Smânia, E. F. A., Braz-filho, R. 2002. "Two epimeric flavalignans from *Trichilia catigua* (Meliaceae) with antimicrobial activity". Z. Naturforsch. 57:483.

Pizzolatti, M. G.; verdi, L. G.; brighente, I. M. C. 2004. "Minor γ -lactones from *Trichilia catigua* (Meliaceae) and its precursors by GC-MS". Nat. Prod. Research 18: 433.

Rao, M. S.; Reddy, P. P.; Nagesh, M. 2007. Management of *Meloidogyne incognita* ontomato by integrating *Glomus mosseae* with *Pasteuria penetrans* under field conditions. Pest Management in Horticultural Ecosystems, Amsterdam, 6:2:130-134.

Rodriguez-Kabana, R., 1994. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. J. Nematol. 18:129-135.

Rodriguez-Kabana, R., Morgan-Jones, G., Chet, I., 1987. Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists. Plant Soil 100:237-247.

Siddiqui, M. A.; Alam, M. M. Efficacy of seed dressing with extracts of neem and persian lilac against *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. Nematologia Mediterranea, Bari, v. 15, n. 2, p. 399-403, 1987.

Simonetti, E.; Alba, E.; Montes, M.J., Delibes, A.; Lopez-Branca, I., 2010. Analysis of ascorbate peroxidase genes expressed in resistant and susceptible wheat lines infected by the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. Plant Cell Rep, 29:1169-1178.

Sikora, R. A., Fernandez, E. 2005. Nematode parasites of vegetables. In M. Luc, R. A. Sikora, & J. Bridge (Eds.), Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford: CABI Publishing. 319-392.

Wang, K. H., Sipes, P. S. e Schmitt, D. P. 2002. Crotalaria as cover crop for nematodes management, a review. Nematropica, 32:35-57.

Wildmer, L. D., Dadalto, G. G. 2002. Summer green manure for West Catarena. Agropecuária Catarinense, 4:36-40.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as 11 espécies vegetais avaliadas, os extratos de *T. casaretti*, *T. elegans*, *T. catigua*, *T. pallida* e *T. ciliata*, apresentaram maior potencial como bionematicida, tanto nos estudos in vitro para determinação das CL₅₀, quanto nos ensaios em casa de vegetação. Esses estudos demonstram que as plantas da família Meliaceae têm potencial no manejo de *M. incognita* e *M. enterolobii* e sua eficácia pode ser maior, ao utilizar os tratamentos antes do transplante das mudas, de maneira protetora, e mais tarde (após o estabelecimento da cultura) como tratamento curativo. Além disso, ao se pensar em agricultura sustentável, a utilização de produtos a base de extratos de plantas é uma das alternativas a serem consideradas.

REFERÊNCIAS

AKHTAR, M.; ALAM, M. M. Integrated control of plant-parasitic nematodes on potato with organic amendments, nematicide and mixed cropping with mustard.

Nematologia Mediterranea, Bari, v. 19, n. 2, p. 169-171, 1993.

AKTAR, M.; MALIK, A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, Fayetteville, v. 74, n. 1, p. 35-47. 2000.

BALDO, M., SORNBERGER, A., STANGARLIN, J.R., GRISA, S., ECKSTEIN, B., GIESE, C. e SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Cymbopogon nardus* (citronela) no controle in vitro de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. In: Jornada científica da Unioeste, 3., 2005, Marechal Cândido Rondon, PR. *Anais*. Marechal Cândido Rondon: Unioeste, 2005.

BAUSKE E.M, RODRIGUÉZ-KÁBANA R, ESTAUN V., KLOEPPER J.W. e ROBERTSON D.G. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. **Nematropica**, v. 50, p. 24:143, 1994.

BHATTACHARYA, D.; GOSWAMI, B. K. Effect of oil-cakes used alone and in combination with aldicarb on *Meloidogyne* infecting tomato. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 16, n. 1, p. 139-141, 1988.

BONALDO, S.M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R., TESSMANN, D.J. e SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29 p. 128-134, 2004.

BRITO, J. A. et al. Effects of the Mi-1, N and Tabasco genes on infection and reproduction of *Meloidogyne mayaguensis* on tomato and pepper genotypes. **Journal of Nematology**, v. 39, n. 4, p. 327-332, 2007.

CANTU, R. R. Reação de porta enxertos comerciais de tomateiros a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 216-218, 2009.

CARNEIRO, R.D.G. & M.R.A. ALMEIDA. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25 p. 35-44, 2001.

CHEN, J.; ABAWI, G. S.; ZUCKERMAN, B. M. Suppression of *Meloidogyne hapla* and its damage to lettuce grown in a mineral soil amended with chitin and biocontrol organisms. **Supplement to the Journal of Nematology**, Hanover, v. 31, p. 719-725, 1999.

CHITWOOD, D.J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology** 40: 221–49, 2002.

DIAS, C. R.; RIBEIRO, R. C. F.; FERRAZ, S.; VIDA, J. B. Efeito de Frações de Esterco Bovino na Eclosão de Juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 35-39, 1999.

DROPKIN, V.H. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, v. 59 p.1632-1639, 1969.

DU S.S., ZHANG HM, BAI CQ ET AL. Nematocidal flavone-c-glycosides against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) from *Arisaema Erubescens* tubers. **Molecules**, v.16, p.86, 2011.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. 2010. Manejo sustentável de fitonematóides. Viçosa: Editora UFV, p. 306.

FERRIS, H. e ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.31 n.3, p.241- 263, 1999.

FIORI, A.C.G., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R., VIDA, J.B., SCAPIM, C.A., CRUZ, M.E.S. e PASCHOLATI, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v.148, p.483, 2000.

FREITAS, L. G. Controle alternativo de fitonematóides. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33 (Suplemento), p. 34-S36, 2008.

GARCÍA A. ÁLVAREZ, M.A. DÍEZ-ROJO, J.A. LÓPEZ-PÉREZ, A. BELLO. Materia orgánica, biofumigación y manejo de organismos del suelo patógenos de vegetales J. Labrador (Ed.), Conocimientos, técnicas y productos para la agricultura y la ganadería ecológica, SEAE, Valencia, p. 71-76, 2004.

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

GOSWAMI, B. K; VIJAYALAKSHMI, K. Effect of some indigenous plant materials and oil-cake amended soil on the growth of tomato and root-knot nematode (Abstr.). **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v. 11, n. 1, p. 121, 1981.

JATALA, P. Biological control of nematodes. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C., ed. **An advanced treatise on Meloidogyne**, V.1. Biology and control. Raleigh: North Carolina State University Graphics, p.303-308. 1985.

JOHTI, G.; BABU, R. S.; RAMAKRISHNAN, S.; RAJENDRAN, G. Management of root lesion nematode, *Pratylenchus delattrei* in crossandra using oil cakes. **Bioresource Technology**, Fayetteville, v. 93, n. 3, p. 257-259, 2004.

JOURAND, P., RAPIOR, S., FAGRGETTE, M. e MATEILLE, T. Nematicidal effect of a leaf extract from *Crotalaria virgulata* subsp. *grantiana* on *Meloidogyne incognita* and its use to protect tomato roots. **Nematology** v. 6, p. 79-84, 2004.

KIEWNICK, S.; DESSIMOZ, M.; FRANCK, L. Effects of the Mi - 1 and the N root - knot nematode - resistance gene on infection and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and pepper cultivars. **Journal of Nematology**, v. 41, n. 2, p. 134-139, 2009.

KOLAPO AL, OKUNADEMB, ADEJUMOBI JA, OGUNDIYAMO. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Prosopis africana* against some selected oral pathogens. **World Journal of Agricultural Sciences** v. 5, p. 90, 2009.

KONG, J. O., LEE, S. M., MOON, Y. S., LEE, S. G. e AHN, Y. J. Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology** v. 9, p. 173-178, 2006.

LAZZERI, L., TACCONI, R. e PALMIERI, S. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. **Journal of Agricultural Food Chemical**, v.41, p.825-829, 1993.

LEWIS, J. A. e PAPAIVIZAS, G.C. 1971. Effect of sulfur containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. **Phytopathology**, v. 61, p.208-214, 1971.

LOPES, E. A., FERRAZ, S., FREITAS L. G., FERREIRA, P.A., AMORA, D.X. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.29 n.1, p.67-74, 2005.

MAISTRELLO, L., VACCARI, G., SASANELLI, N., 2010. Effect of chestnut tannins on the rootknot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologia**, v.47, p.48-57, 2010.

MALIK M.S, SANGWAN N.K, DHINDSA K.S, VERMA K.K, BHATTI D.S. Nematicidal efficacy of some monoterpenes and related derivatives. **Pesticides**, v.21 p.30– 32, 1987.

MATTHIESSEN JN, SHACKLETON MA. Biofumigation: environmental impacts on the biological activity of diverse pure and plant-derived isothiocyanates. **Pest Management Science**, v.61, n.10 p.43–51, 2005.

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

MOTOYAMA, M.M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIM, J.R., FIORI, A.C.G., e SCAPIM, C.A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. In: **Acta Scientiarum**. Agronomy, Brasil, 2008.

NTALLI, N.G., MENKISOGLU-SPIROUDI, U., GIANNAKOU, I. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. **Ann. Appl. Biol.**, v.156 p. 309-317, 2010.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments. **Appl. Soil Ecol.**, v.44, p.101-115, 2014.

OKA, Y., NACAR, S., PUTIEVSKY, E., RAVID, U., YANIV, Z., e SPIEGEL, Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, v.90 p.710-715, 2000.

OSMAN, A.A. e VIGLIERCHIO, D.R. 1988. Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. **Rev. Nematol**, v.11 p.93–98, 1988.

PONTE, J. J.; FRANCO, A.; SILVEIRA FILHO, J.; SANTOS, F. A. M. Dosagem de manipueira para tratamento de linhas de cultivo em solo infestado de *Meloidogyne*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 19, n. 1/2, p. 81-85, 1995.

QAYUMM, NISAR M, KHAN BA. 2011. Nematicidal potential of *Impatiens bicolor* Royle. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, p.38–41, 2011.

RAO, M. S.; REDDY, P. P.; NAGESH, M. Management of *Meloidogyne incognita* on tomato by integrating *Glomus mosseae* with *Pasteuria penetrans* under field conditions. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 130-134, 2007.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., KOKALIS-BURELLE, N., ROBERTSON, D.G., KING, P.S. e WELLS, L.W. 1994. Rotations with coastal bermudagrass, cotton, and bahiagrass for management of *Meloidogyne arenaria* and southern blight in peanut. **Journal of Nematology**, v.26 p.665-668, 1994.

SANGWAN, N.K, VERMA, B.S, VERMA, K.K. e DHINDSA, K.S. Nematicidal activity of some essential plant oils. **Pestic. Sci**, v.28 p.31–35, 1990.

SANTOS, S. C. Potencial de produtos de origem natural no manejo de nematóides na cultura da soja. Tese. 2010.

SCHIPPERS, B.; BAKKER, A. W.; BAKKER, P. A. H. M. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annual Review of Phytopathology**, Davis, v. 25, p. 339-358, 1987.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R. e CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p. 554-556, 2003.

SIDDIQUI, M. A.; ALAM, M. M. Efficacy of seed dressing with extracts of neem and persian lilac against *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 15, n. 2, p. 399-403, 1987.

SIKORA, R.A.; FERNANDÉZ, E. 2005. Nematode parasites of vegetables. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2nd edition. Wallingford, UK: CAB An advanced treatise on *Meloidogyne*. Biology and control. Raleigh: **North Carolina State University Graphics**, v.1 p.303-308.

SIMONETTI, E.; ALBA, E.; MONTES, M.J., DELIBES, A.; LOPEZ-BRANCA, I., 2010. Analysis of ascorbate peroxidase genes expressed in resistant and susceptible wheat lines infected by the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. **Plant Cell Rep**, v.29, p.1169-1178, 2010.

SLUSARENKO, A. J., PATEL, A., & PORTZ, D. Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study. **European Journal of Plant Pathology**, v.121, p.313–322, 2008.

STANGARLIN, J. R., FRANZENER, G, FRANZENER, A S MARTINEZ , ASSI, L , CZEPAK, M P e SCHWAN-ESTRADA, K R F . Atividade antifúngica de hidrolatos sobre *Alternaria brassicae*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza/CE, v. 30 p.77, 2005.

STIRLING, G. R. Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects. Wallingford: CAB International, p.282, 1991.

VIAENE, N. M.; ABAWI, G. S. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as cover crop. **Plant Disease**, Davis, v.82, n. 8, p. 945-952. 1998.

VIGLIERCHIO D.R, WU F.F. 1989. Selected biological inhibitors for *Heterodera schachtii* control. **Nematropica**, v.19 p.75–79, 1989.

WANG, K. H., SIPES, P. S. e SCHMITT, D. P. 2002. Crotalaria as cover crop for nematodes management, a review. **Nematropica**, v.32 p.35-57.

WILDMER, L. D. e DADALTO, G. G. 2002. Summer green manure for West Catarena. **Agropecuária Catarinense**, v. 4, v.36-40.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. In: Informativo CRQ-V, ano XI, v.105, p.06-07, 2007.