



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**NATALIA DE JESUS FERREIRA COSTA**

**EFEITO DE *Calotropis procera* NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* E  
ASPECTOS BIOLÓGICOS DO NEMATOIDE EM TOMATEIRO**

**FORTALEZA**

**2017**

NATALIA DE JESUS FERREIRA COSTA

EFEITO DE *Calotropis procera* NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* E ASPECTOS  
BIOLÓGICOS DO NEMATOIDE EM TOMATEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fitossanidade.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos

FORTALEZA

2017

NATALIA DE JESUS FERREIRA COSTA

EFEITO DE *Calotropis procera* NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* E ASPECTOS  
BIOLÓGICOS DO NEMATÓIDE EM TOMATEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fitossanidade.

Aprovada em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmem Dolores Gonzaga Santos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Fernando Antônio Souza de Aragão  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Agroindústria Tropical (EMBRAPA)

---

Dr. Dagoberto Saunders de Oliveira  
Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI)

A Deus.

Aos meus pais, Celene e Elizaldo, pelo amor incondicional, compreensão e encorajamento ao longo da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por seu amor e direção nesta jornada que é a vida, e ter me dado força para aceitar os desafios que me são propostos.

A Universidade Federal do Ceará por me permitir obter o título de mestre em Agronomia/Fitotecnia, através do apoio financeiro e do espaço físico para a realização do meu trabalho de dissertação.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo apoio financeiro, através da bolsa concedida durante os dois anos do curso.

A Professora Carmem Dolores Gonzaga Santos, pela orientação, apoio constante, confiança, paciência, exemplo profissional e acima de tudo sua amizade.

Aos membros da banca examinadora, pela disposição em contribuir com este trabalho, muito obrigada.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e investiram no meu crescimento, muito obrigada por acreditarem no meu potencial. E a minha família, onde sempre pude encontrar suporte nos momentos difíceis.

Aos meus amigos de laboratório Laianny Morais, Maciel Freire, Bruno Café, Rhannaldy Benício e Isabelle Abreu, pela amizade oferecida e pelos bons momentos de descontração e diversão, que tornaram meus dias mais alegres.

Em especial, aos novos amigos que fiz nesta cidade, Tamiris Pereira, Ana Kelly, Isabel Cristina, Ana Valéria, Érika Peixoto, o meu muito obrigado, vocês se tornaram parte da minha família ao me darem o suporte que precisava, quando mais necessitava.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, e aos que me acompanharam ao longo destes dois anos, o meu muito obrigado.

*“O que importa na vida não é o ponto de partida, mas a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”.*

*(Cora Coralina)*

## RESUMO

Os nematoides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, constituem o grupo de fitonematoides com maior importância econômica na agricultura. A constante busca por métodos de controle desses fitopatógenos, sem o uso de nematicidas, tem provocado um aumento das pesquisas utilizando extratos vegetais. O objetivo do presente trabalho foi investigar o potencial do uso de folhas de *Calotropis procera* no controle de *M. incognita* raça 2 em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) cv. Carolina e estudar aspectos biológicos do fitonematoide por meio de seis ensaios: (1) avaliar a suscetibilidade de *C. procera* a *M. incognita*; (2) verificar o efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* a 5 e 10 % sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*; (3) investigar o efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* a 5 e 10 % sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) considerando o tempo de permanência (24 e 48h) dos J2 no extrato e o tempo de armazenamento das folhas utilizadas no preparo do extrato (1 dia e 62 dias após secagem das folhas); (4) avaliar a aplicação do extrato aquoso de folhas de *C. procera* a 5 e 10% , por meio de rega, em solo infestado com *M. incognita*; (5) investigar o efeito da incorporação de folhas frescas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita*, nas dosagens 50 e 100 g de folhas/kg de solo e (6) avaliar a população de machos em relação à população de fêmeas e do número de ovos de *M. incognita* em raízes de tomateiro aos 30, 60, 90 e 120 dias após o inoculação. A avaliação dos ensaios considerou: massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP), massa fresca da raiz (MFR), número de galhas (NG), número de massas ovos (NMO), número de ovos (NO), índice de galhas (IG), índice de massa de ovos (IMO), fator de reprodução (FR), redução do fator de reprodução (RFR), redução do parasitismo (RP), número de machos (NM) e de fêmeas (NF). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 7 a 10 repetições, conforme o ensaio, e os resultados das variáveis analisados pelo teste de Tukey a 5%. Com base no IG (3,8), no IMO (3,0) e no FR (0,52) obtidos, a espécie *C. procera* foi considerada resistente ao patógeno. Os resultados dos testes *in vitro* demonstraram que o extrato aquoso a 10 % provocou a maior inibição da eclosão dos juvenis de *M. incognita*, registrando-se uma média de apenas 13,2 % de juvenis eclodidos. Essa mesma diluição provocou a mortalidade de 92,2 % dos J2 após a permanência por 24h no extrato, sendo considerada a melhor combinação de diluição e tempo. O extrato preparado com folhas armazenadas por 1 dia após secagem ocasionou 92,7 % de morte de juvenis contra 11,0 % de mortalidade de J2 com o extrato obtido de folhas com 62 dias de armazenamento. A aplicação do extrato aquoso ao solo infestado foi eficaz na redução do parasitismo do fitonematoide em tomateiro, tendo sido observado uma RP de 80,05 e 78,14% com extratos a 5 e a 10 %, respectivamente. A incorporação de ambas as doses (50 e 100 g) de folhas frescas de *C. procera* promoveram a erradicação do *M. incognita* do solo. Machos foram observados somente a partir de 60 dias após a inoculação. A relação NF:NM foi de 2:1 aos 60 dias, 3:1 aos 90 dias e 1,4:1 aos 120 dias, tendo sido a maior média de NM (770 machos/raiz) constatada aos 90 dias após a inoculação do nematoide, ocasião em que foi registrada uma média de 88.956 ovos/raiz. Concluiu-se, neste trabalho, que o uso de extratos aquosos e a incorporação de folhas de *C. procera* são alternativas promissoras para o controle de *M. incognita* raça 2 em solo infestado e que, apesar de serem considerados raros, machos foram abundantes em raízes de plantas de tomateiro cv. Carolina.

**Palavras-chave:** Nematoide das galhas. Controle alternativo. *Solanum lycopersicum* L.

## ABSTRACT

The root-knot nematodes, belonging to the genus *Meloidogyne*, constitute the one of the most important group of nematodes in agriculture. The search for methods of control of these phytopathogens, without the use of nematicides, has induced ways to manage these pathogens using vegetal extracts. The objectives of the current study were to investigate the potential of use leaves of *Calotropis procera* in the control of *M. incognita* race 2 in tomato (*Solanum lycopersicum*) cv. Carolina and to study biological aspects of the phytonematoid by means of six assays: (1) to evaluate the susceptibility of *C. procera* to *M. incognita*; (2) to verify the in vitro effect of aqueous extracts of *C. procera* leaves at 5 and 10% on the hatching of juveniles of *M. incognita*; (3) to investigate the in vitro effect of 5 and 10% *C. procera* leaves aqueous extracts on the mortality of second stage juveniles (J2) considering the length of time (24 and 48 hours) of the J2 in the extract and the time of storage of the leaves used in the preparation of the extract (1 day and 62 days after drying the leaves); (4) to evaluate the application of the aqueous extract of leaves 5 and 10% of *C. procera* by irrigation in soil infested with *M. incognita*; (5) to investigate the effect of the incorporation of fresh leaves of *C. procera* in soil infested with *M. incognita*; (6) to evaluate the population of males in comparison to the population of females and the number of eggs of *M. incognita* in tomato roots at 30, 60, 90 and 120 days after inoculation. Were evaluated: weight fresh of shoot (WFS), dry weight of shoot (DWS), plant height (PH), fresh weight of root (FWR), galls numbers (GN), egg masses numbers (EMN), eggs numbers (EN), gall index (GI), egg masses index (EMI), reproduction factor (RF), reduction in the reproduction factor (RFR), parasitism reduction (PR), number of males (NM) and number of females (NF). The experimental design was the completely randomized design, with 7 to 10 replicates, according to the assay and the results of the variables analyzed by the Tukey test at 5%. Based on GI (3.8), EMI (3.0) and RF (0.52) obtained, *C. procera* was considered resistant to the pathogen. The in vitro test results demonstrated that the 10% aqueous extract caused the greatest inhibition of hatching of the juveniles of *M. incognita*, with an average of only 13.2% of juvenile hatched was recorded. This same dilution caused the mortality of 92.2% of the J2 after stay for 24h in the extract, being considered the best combination of dilution and time. The extract prepared with leaves stored for 1 day after drying caused 92.7% killing of juveniles. However, the extract obtained from leaves stored at 62 days, the J2 mortality percentage was 11.0%. The application of the aqueous extract to the infested soil was effective in reducing the nematodes parasitism in tomato, with a PR of 80.05 and 78.14% with extracts at 5 and 10%, respectively. The incorporation of both doses (50 and 100 g) of fresh leaves of *C. procera* promoted the eradication of *M. incognita* from soil. Males were observed only 60 days after inoculation. The NF:NM relation was 2:1 at 60 days, 3:1 at 90 days and 1.4:1 at 120 days, and the highest average NM (770 males/root) was observed at 90 days after inoculation, at which time an average of 88,956 eggs/root were recorded. The use of aqueous extracts and the incorporation of *C. procera* leaves are promising alternatives for the control of *M. incognita* race 2 in infested soil and despite being considered rare, males were abundant in roots of tomato plants cv. Carolina.

**keywords:** Root-knot. Alternative control. *Solanum lycopersicum* L.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Raízes de plantas de fumo cv. NC 95 (A), algodão cv. Deltapine 16 (B) e tomate cv. Carolina (C), sessenta dias após inoculação com *M. incognita*, para identificação da raça fisiológica. ....32
- Figura 2 – Preparo do extrato aquoso de *Calotropis procera* para utilização nos ensaios *in vitro* e de aplicação em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) folhas trituradas após secagem; (B) folhas imersas em água destilada por 24 h; (C) maceração das folhas e (D) extrato obtido a 10% após centrifugação. ....33
- Figura 3 – Mudanças de tomateiro cv. Carolina transplantadas no dia posterior à primeira aplicação do extrato aquoso de *Calotropis procera* no solo. ....37
- Figura 4 - Etapas da montagem do ensaio de incorporação de folhas de *Calotropis procera* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) folhas frescas trituradas de *C. procera*; (B) folhas incorporadas ao solo infestado; (C) solo após 30 dias da incorporação .....39
- Figura 5 – Tomateiros cv. Carolina transplantados para os vasos 30 dias após a incorporação de folhas frescas de *Calotropis procera*. ....39
- Figura 6 – Tomateiros cv. Carolina 60 dias após inoculação de *Meloidogyne incognita* raça 2 .....40
- Figura 7 - Reação de *Calotropis procera* a *Meloidogyne incognita* raça 2, aos 60 dias após inoculação. ....42
- Figura 8 – Percentual de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* submetidos ao extrato aquoso de *Calotropis procera* a 5 e 10 % durante 15 dias. ....43
- Figura 9 – Percentual de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* imóveis após 24 e 48 horas no extrato aquoso de *Calotropis procera* a 5 e 10 %.....47
- Figura 10 – Percentual de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* provenientes dos extratos aquosos de *Calotropis procera* a 5 e 10 % após passagem na água para recuperação. ....48
- Figura 11 – Percentual de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* imóveis após 24 horas no extrato aquoso de *Calotropis procera* a 10 %, e de juvenis mortos após 24 horas em água para recuperação, preparado a partir de folhas armazenadas durante 62 dias e 1 dia após a secagem (DAS). ....50

Figura 12 – Plantas de tomateiro cv. Carolina 45 dias após o transplântio, avaliadas quanto à eficiência da aplicação do extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> em solo infestado.....	53
Figura 13 – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Carolina após aplicação de extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> . (A) extrato a 5 %, (B) extrato a 10 % e (C) controle positivo (água). .....	555
Figura 14 – Plantas de tomateiro cv. Carolina 45 dias após o transplântio, avaliadas quanto à eficiência da incorporação de folhas frescas de <i>Calotropis procera</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> . .....	59
Figura 15 – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Carolina após a incorporação de folhas frescas de <i>Calotropis procera</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> . (A) 50g de folhas incorporadas, (B) 100g de folhas incorporadas (C) controle positivo (planta em solo infestado s/ incorporação). .....	60
Figura 16 – Médias do número de galhas (NG) e número de massas de ovos (NMO) de plantas de tomateiro cv. Carolina os 30, 60, 90 e 120 dias inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> . .....	65
Figura 17 – Raízes de tomateiro cv. Carolina aos (A) 30, (B) 60, (C) 90 e (D) 120 dias após inoculação com <i>Meloidogyne incognita</i> .....	65
Figura 18 – Médias do número de ovos (NO) de plantas de tomateiro cv. Carolina os 30, 60, 90 e 120 dias inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> .....	666
Figura 19 - Médias do número de fêmeas (NF) e do número de machos (NM) de plantas de tomateiro cv. Carolina os 30, 60, 90 e 120 dias inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> . .....	67
Figura 20 – Indivíduos de <i>Meloidogyne incognita</i> obtidos após extração das raízes de tomateiro infestadas cv. Carolina. (A) machos antes da emergência (B) após a emergência e (C) fêmea. ....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Reação de hospedeiras diferenciadoras para determinação de raças fisiológicas de <i>Meloidogyne incognita</i> . .....	31
Tabela 2 – Índice de galhas e de massas de ovos de <i>Meloidogyne</i> spp.....	34
Tabela 3 – Valores médios e percentual de eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> submetidos ao extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> a 5 e 10 % durante 15 dias.....	43
Tabela 4 - Número de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> imóveis contados após 24 e 48 horas no extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> . .....	47
Tabela 5 - Número de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> mortos, contados depois de transferidos dos extratos aquosos de <i>Calotropis procera</i> para água, permanecendo por 24 horas em água para recuperação.....	48
Tabela 6 – Número de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> imóveis após 24 horas no extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> a 10 %, e de juvenis mortos após 24 horas em água para recuperação, preparados a partir de folhas armazenadas durante 62 dias e 1 dia após a secagem (DAS). .....	50
Tabela 7 – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cv. Carolina cultivadas em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> e tratado com extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> . .....	52
Tabela 8 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR), redução do fator de reprodução (RFR %) e redução do parasitismo (RP %) de plantas de tomateiro cv. Carolina cultivadas em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> e tratado com extrato aquoso de <i>Calotropis procera</i> . .....	55
Tabela 9 – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cultivadas em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> e incorporado com folhas frescas de <i>Calotropis procera</i> . .....	58
Tabela 10 – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cv. Carolina inoculadas e não inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , após 30, 60, 90 e 120 dias após a inoculação .....	63

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>16</b>
2.1	Cultura do Tomateiro	16
2.2	Fitonematoides	18
2.3	Gênero <i>Meloidogyne</i>	19
2.4	<i>Meloidogyne incognita</i>	23
2.5	Métodos de controle	25
2.6	<i>Calotropis procera</i>	28
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>31</b>
3.1	Avaliação da suscetibilidade de <i>C. procera</i> a <i>M. incognita</i> raça 2	34
3.2	Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso de folhas de <i>C. procera</i> sobre a eclosão de juvenis de <i>M. incognita</i>	35
3.3	Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso de folhas de <i>C. procera</i> sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de <i>M. incognita</i>	35
3.4	Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de <i>C. procera</i> em solo infestado com <i>M. incognita</i>	36
3.5	Efeito da incorporação de folhas frescas de <i>C. procera</i> em solo infestado com <i>M. incognita</i>	38
3.6	Avaliação da população de machos em relação à população de fêmeas e da reprodução de <i>M. incognita</i> em tomateiro	40
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>42</b>
4.1	Avaliação da suscetibilidade de <i>C. procera</i> a <i>M. incognita</i> raça 2	42
4.2	Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso de folhas de <i>C. procera</i> sobre a eclosão de juvenis de <i>M. incognita</i>	43
4.3	Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso de folhas de <i>C. procera</i> sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de <i>M. incognita</i>	46
4.4	Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de <i>C. procera</i> em solo infestado com <i>M. incognita</i>	52
4.5	Efeito da incorporação de folhas frescas de <i>C. procera</i> em solo infestado com <i>M. incognita</i>	58
4.6	Avaliação da população de machos em relação à população de fêmeas e da	

reprodução de <i>M. incognita</i> em tomateiro	63
<b>5 CONCLUSÕES</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças de maior importância econômica no mundo (FAO, 2017). No Brasil, esta solanácea se destaca tanto em termos de produção quanto em valor econômico (IBGE, 2017). Segundo Fontes e Silva (2005), a versatilidade de uso do tomate, contribui para a sua importância mundial. Por outro lado, uma das hortaliças mais suscetíveis ao ataque de pragas e fitopatógenos, requerendo a adoção de medidas fitossanitárias, os quais elevam os custos de produção (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Dentre os principais grupos de fitopatógenos que atacam a cultura do tomateiro, estão os nematoides, que são considerados como um dos organismos mais numerosos da terra, tendo sido descritos cerca de 20.000 espécies, sendo que, aproximadamente, 4.000 são parasitas de plantas. Ocorrem nos ambientes mais diversos, em que haja a possibilidade de vida, e podem ser classificados de acordo com o tipo de hábito alimentar (FREITAS *et al.*, 2008).

Os fitonematoides alimentam-se principalmente de órgãos subterrâneos de plantas superiores, como raízes, rizomas, tubérculos, bulbos e frutos hipógeos, embora também existam outros que se alimentam de órgãos aéreos, como caules, folhas, flores, frutos e sementes (NAVES, 2005). Pertencem ao Filo Nematoda, e são responsáveis por consideráveis perdas na produtividade agrícola e podem, em condições favoráveis, comprometer totalmente a produção, visto que afetam grande parte das culturas de importância econômica mundial (TIHOHOD, 1993; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Os nematoides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, são tidos como os mais importantes em todo o mundo em razão de sua ampla distribuição geográfica, numerosa gama de hospedeiros e por causar grandes danos às culturas (FREITAS *et al.*, 2008). No Brasil, as espécies que mais se destacam são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* (MANSO *et al.*, 1994) e, mais recentemente, *M. enterolobii* (CARNEIRO *et al.*, 2006).

No mundo, *Meloidogyne incognita* é considerada a espécie do gênero que causa o maior prejuízo. Este fato é devido possuir raças fisiológicas, além da sua ampla distribuição e elevado número de hospedeiros (LORDELLO, 1984).

As principais medidas de controle recomendadas para as fitonematoses são rotação de cultura, cultivo de espécies antagonistas em plantio intercalado (consorciado ou em rotação), incorporação de matéria orgânica, solarização, variedades resistentes, controle

biológico e controle químico (FERRAZ *et al.*, 2012; TIHOHOD, 1993). Entretanto, após a introdução e estabelecimento de nematoides parasitas de plantas em uma área, seja por mudas infectadas ou equipamentos contaminados, as práticas de manejo visando sua erradicação são consideradas muito complexas (FERRAZ; FREITAS, 2004).

O uso de nematicidas químicos no manejo dos fitonematoides, frequentemente, é o mais utilizado. Entretanto, seu uso vem sendo limitado devido ao alto risco de contaminação ambiental, alto custo, alta toxicidade e redução de sua eficácia no controle depois de repetidas aplicações (DONG; ZHANG, 2006).

A constante busca de novas práticas de controle de fitonematoides em substituição aos nematicidas químicos constitui-se uma demanda mundial. O uso de extratos vegetais e óleos essenciais de diferentes plantas vêm sendo pesquisado como uma alternativa para o controle de diversos patógenos (STANGARLIN *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2015), visto que as plantas sintetizam diversos tipos de metabólitos secundários, os quais podem exercer atividades de defesa à microrganismos, dentre estes, os fitonematoides (TAIZ; ZEIGHER, 2004; FERRAZ *et al.*, 2012).

A vantagem adicional do emprego de extratos naturais é que podem ser preparados pelo próprio agricultor como alternativa no manejo de fitonematoides em pequenas áreas ou em áreas de produção orgânica, onde o sistema agrícola possibilita a fácil aquisição de material vegetal (SCRAMIN *et al.*, 1987; ANDRADE; NUNES, 2001; SILVA *et al.*, 2005).

Dentre as espécies botânicas que sintetizam compostos eficientes no controle de fitonematoides estão *Tagetes* spp (cravo-de-defunto), *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray (girassol mexicano (FERREIRA *et al.*, 2013a), *Azadirachta indica* A. Juss (nim) *Mucuna pruriens* var. *utilis* (mucuna), *Ricinus communis* L. (mamona), *Crotalaria* spp (crotalaria) (SILVA; PEREIRA, 2008), *Eclipta alba* L. Hassk (agrião-do-brejo), *Ocimum basilicum* L. (alfavaca), *Artemisia vulgaris* L. (artemísia), *Justicia pectoralis* var. *stenophylla* Leonard (chambá), *Spigelia anthelmia* L. (lombrigueira), *Chenopodium ambrosioides* L. (mastruz) (MARTINS; SANTOS, 2016) e *Calotropis procera* (Ait.) R. Br (ciúme) (SANTOS, 2015), dentre outros.

*Calotropis procera* tem sido objeto de várias pesquisas envolvendo a caracterização química de seus constituintes, para uso medicinal e também no controle de pragas e doenças de plantas, devido a presença de alcaloides, terpenos, glicosídeos cardíacos,

taninos, flavonoides, esteroides e lipídios (MOSSA *et al.*, 1991; PARIHAR *et al.*, 2011; FREITAS *et al.*, 2011).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de *C. procera* ao *M. incognita*, investigar o efeito *in vivo* e *in vitro* de extratos aquosos, da incorporação de folhas frescas de *C. procera* no controle de *M. incognita* em tomateiro cv. Carolina e aspectos biológicos do ciclo de vida desse fitonematoide.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cultura do Tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) pertence à família Solanaceae, sendo originário dos Andes, da região entre o norte do Chile até o Sul do Equador. É uma das hortaliças mais cultivadas em todo mundo (FONTES; SILVA, 2005; FILGUEIRA, 2008).

Segundo dados da FAO (2017), a China é considerada o principal produtor de tomate do mundo. O Brasil ocupa o 6º lugar em produção, 7º em área colhida e 15º em produtividade. A produção do país foi de 3.737.925 toneladas no ano de 2016, em 58.785 ha de área plantada com produtividade de 63.844 kg/ha. A região Sudeste foi a responsável pela maior produção de tomate, com aproximadamente 1,8 milhões de toneladas, seguida pelas regiões Centro-Oeste e Sul. Já a Região Nordeste, na safra de 2016, ocupou a 4ª posição em produção, obtendo 378.845 toneladas em 9.253 ha de área plantada, com produtividade de 41.760 kg/ha. O estado do Ceará, por sua vez, na safra de 2016, foi o maior produtor de tomate da Região Nordeste, sendo responsável por 3,29 % da produção nacional, produzindo 122.846 toneladas em 2.532 ha de área plantada, com produtividade de 48.517 kg/ha (IBGE, 2017).

O tomateiro é uma hortaliça cultivada em regiões tropicais e subtropicais, durante todo o ano. No Brasil, o cultivo do tomateiro ocorre em quase todas as regiões, além de ser realizado praticamente o ano todo, o que propicia condições favoráveis ao desenvolvimento de pragas e patógenos (LIMA, 2015). O tomateiro, como toda planta da família Solanaceae, é sensível à variação extrema de temperaturas. Com excesso de calor, há abortamento ou inibição da floração (CAMARGO *et al.*, 2006).

Taxonomicamente, o tomateiro pertence à classe Dicotyledoneae, ordem Tubiflorae e família Solanaceae. Originalmente, de acordo com Linnaeus, o tomateiro foi inicialmente integrado ao gênero *Solanum*, recebendo a denominação *Solanum lycopersicon* L. Entretanto, em 1754, Miller, reclassificou essa planta, criando um novo gênero denominado *Lycopersicon*, renomeando o tomateiro cultivado como *Lycopersicon esculentum* Mill. (ALVARENGA, 2004). Mais tarde, a classificação inicial, proposta por Linnaeus, foi adotada, considerando a possibilidade de cruzamento com *Solanum lycopersicum* e as características morfológicas e moleculares, confirmando sua proximidade com *Solanum tuberosum*, abrangendo 17 espécies (PERALTA *et al.*, 2005).

O tomateiro é uma planta herbácea e perene, sendo cultivada como anual, possui haste mole e flexível, não suportando o peso dos frutos. A planta possui dois hábitos de crescimento, determinado e indeterminado, que condicionam a condução da cultura (FONTE; SILVA, 2005)

Segundo Camargo *et al.* (2006), o cultivo do tomateiro é dividido em segmentos, o de mesa para consumo *in natura*, e o industrial para processamento. Cada um destes segmentos possui características intrínsecas na sua cadeia produtiva, no que se refere a produção, beneficiamento, processamento e comercialização.

As numerosas cultivares de tomateiro plantadas atualmente podem ser didaticamente reunidas em cinco grupos ou tipos, conforme as características do fruto e da planta, sendo estes: santa cruz, salada, cereja, italiano e agroindustrial (FILGUEIRA, 2008).

O grupo cereja é um novo tipo de cultivares para mesa, introduzida no início da década de 90. Esse grupo é caracterizado pelo pequeno tamanho dos frutos (15-25 g), biloculares, coloração vermelho-brilhante, lembrando uma cereja e de excelente sabor. A planta possui crescimento indeterminado e é tutorada. As cultivares são todas híbridas e altamente produtivas, com pencas de 20 a 40 frutos (FILGUEIRA, 2008).

O tomateiro do tipo cereja *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* tem se tornado uma alternativa para grande parte dos agricultores, uma vez que possui boa rusticidade, tolerância a pragas e doenças, alto valor de mercado, maior produtividade e boa aceitação por parte dos consumidores (AZEVEDO FILHO; MELO, 2001).

Dentre as cultivares do grupo cereja mais plantadas está a cv. Carolina, caracterizada por possuir ciclo de vida de 100 a 115 dias, peso do fruto de 10 a 12 g e apresentar tolerância/resistência a *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 e 2 (FELTRIN, 2016).

A ocorrência de doenças é um dos fatores que mais preocupam os tomaticultores e, certamente, constituem as principais causas para a diminuição da produção (MACEDO, 2016). A cultura do tomateiro possui amplo espectro de patógenos (FILGUEIRA, 2008), dentre os quais, dezenas de espécies de nematoides. No Brasil, existem pelo menos 43 espécies de fitonematoides distribuídos em 21 gêneros associados à cultura do tomateiro (MANSO *et al.*, 1994; KUROZAWA; PAVAN, 2005), sendo as espécies do gênero *Meloidogyne*, as que mais afetam a cultura do tomateiro.

## 2.2 Fitonematoides

Os nematoides representam o grupo de organismos multicelulares mais abundantes em número de indivíduos, no mundo todo. Pertencem ao Reino Animal, Filo Nematoda, Classes Chromadorea e Enoplea (VIGLIERCHIO, 1991; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Os nematoides parasitas de plantas são de grande importância para agricultura mundial devido às perdas significativas que causam em culturas de elevada importância econômica (SANTOS, 2011; FERRAZ; MONTEIRO, 2011; AGRIOS, 2005; FREITAS *et al.*, 2012). Seu controle é muito dispendioso e eleva significativamente os custos, acarretando em redução dos lucros dos produtores. Perdas anuais causadas à produção agrícola internacional são estimadas entre US\$ 100 e 157 bilhões (SINGH *et al.*, 2013).

Os nematoides parasitas de plantas são descritos como organismos tipicamente vermiformes, pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, ovíparos, dióicos, com sistema digestivo e reprodutivo completo, medindo 0,5 a 4,0 mm de comprimento e 0,05 a 0,25 mm de diâmetro. No caso de fêmeas de espécies de alguns gêneros, tais como *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Rotylenchus* e *Tylenchus*, durante o seu desenvolvimento ocorre um aumento da sua largura, resultando em indivíduos reniformes, piriformes, globosos, sendo que estas fêmeas são incapazes de se locomoverem, vivendo como parasitas. Atacam principalmente órgãos subterrâneos, como raízes, bulbos, tubérculos e rizomas, mas também podem afetar os órgãos aéreos, como caules, folhas e sementes (LORDELLO, 1984; FIORENTIN, 2010; FREITAS *et al.*, 2012).

Os nematoides, em íntima relação parasitária com as plantas hospedeiras, podem apresentar diferentes ações sobre estas, tais como: ação traumática, provocada por injúrias mecânicas decorrentes do movimento do nematoide nos tecidos; ação espoliadora, provocada pelo desvio de nutrientes essenciais; e ação tóxica, provocada por toxinas ou enzimas secretadas pelo nematoide e que são prejudiciais à planta (AGRIOS, 2005).

Existem diversas classificações possíveis dos fitonematoides como a de Hussey e Grundler (1998), que os classificam em quatro grupos, de acordo com a relação alimentar com o hospedeiro: ectoparasitas migradores, ectoparasitas sedentários, endoparasitas migradores e endoparasitas sedentários.

Os fitonematoides são organismos que pelos seus próprios recursos pouco se disseminam. A sua distribuição em campo não é uniforme, e por essa razão os sintomas são observados em reboleiras (LORDELLO, 1984; FREITAS *et al.*, 2008). A ação do homem é

importante por meio de introdução de mudas infectadas e de implementos agrícolas contaminados (FOGANHOLI, 2012). Também é importante a disseminação pelo escoamento da água da chuva ou de irrigação.

A principal medida de controle baseia-se no princípio de exclusão, evitando a introdução desses fitopatógenos nas áreas de cultivo (FERRAZ *et al.*, 2012).

Os sintomas primários mais comuns resultantes do parasitismo de fitonematoides são lesões radiculares; galhas nas raízes, tubérculos e bulbos; rachaduras; raízes digitadas; descolamento cortical; paralisação do crescimento do sistema radicular; necrose de órgãos aéreos e subterrâneos; manchas foliares e sementes anormais. E os sintomas reflexos comumente observados são: murchas nas horas mais quentes do dia, redução do crescimento da planta, deficiência mineral, desfolha, amarelecimento, nanismo e diminuição da produção (FERRAZ; MONTEIRO, 2011; AGRIOS, 2005; FREITAS *et al.*, 2012).

Em geral, o nível populacional da espécie do nematoide, a suscetibilidade da variedade utilizada, o tipo de solo e as condições climáticas determinam os níveis de danos provocados pelos fitonematoides (RITZINGER; COSTA, 2004).

### **2.3 Gênero *Meloidogyne***

Os nematoides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), família Meloidogynidae, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, constituem o grupo de fitonematoides de maior destaque por afetar seriamente a produção de numerosas espécies vegetais. Sua ampla distribuição mundial, extensa gama de hospedeiros, a interação com outros organismos patogênicos e seu difícil controle colocam-nos dentre os principais patógenos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola mundial (SASSER; CARTER, 1985; FERRAZ; MONTEIRO, 2011; JONES *et al.*, 2013). O prejuízo de seu parasitismo decorre de sua ação sobre o sistema radicular que, por sua vez, altera a absorção de nutrientes, prejudicando a fisiologia e a nutrição da planta, além de predispor a planta a doenças e a estresses ambientais (GOMES *et al.*, 2008).

Existem atualmente pelo menos 100 espécies do gênero *Meloidogyne* descritas, parasitando mais de 2.000 espécies vegetais (OKENDI *et al.*, 2014; PERRY *et al.*, 2009). No Brasil, já foram descritas 20 espécies, sendo estas: *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. hapla* Chitwood, *M. enterolobii* Yang & Eisenback, *M. exigua* Göldi, *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos & Almeida, *M. brasiliensis* Charchar & Eisenback, *M. coffeicola* Lordello &

Zamith, *M. ethiopica* Whitehead, *M. graminicola* Golden & Birchfield, *M. hispanica* Hirschmann, *M. inornata* Lordello, *M. konaensis* (Eisenback) Bernard & Schmitt, *M. luci* Carneiro, Correa, Almeida, Gomes, Mohammaddeimi & Karssen, *M. morocciensis* Rammah & Hirschmann, *M. petuniae* Charchar, Eisenback & Hirschmann, *M. phaseoli* Charchar, Eisenback, Charchar & Boiteux, *M. polycephannulata* Charchar, Eisenback, Vieira, Fonseca-Boiteux & Boiteux e *M. pisi* Charchar, Eisenback, Charchar & Boiteux (CARNEIRO *et al.*, 2016).

As espécies *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* e mais recentemente *M. enterolobii*, são comumente relacionadas a sérios problemas para a agricultura em diversas regiões do país (FERRAZ; MONTEIRO, 2011; CARNEIRO *et al.*, 2006). No final da década de 80, as quatro espécies mais comuns *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, respondiam por aproximadamente 95 % dos prejuízos atribuídos aos nematoides das galhas na agricultura mundial (MOURA, 1996), situação que parece ser mantida apesar do elevado número de novas espécies registradas (CARNEIRO *et al.*, 2016).

As espécies *M. incognita* e *M. javanica*, principalmente no Brasil, representam sérios problemas à produção, em diversas regiões. As principais causas deste problema são a baixa eficiência de alguns sistemas de rotação de culturas na redução populacional destes parasitas e a evidente carência de cultivares resistentes adaptadas às diferentes regiões do país (SILVA, 1998).

Em levantamento de espécies de *Meloidogyne*, realizado em 11 microrregiões no estado do Ceará, Silva *et al.* (2016) relatou que as espécies *M. incognita* e *M. enterolobii* foram as mais comuns nas áreas amostradas, afetando cultivos de hortaliças e de fruteiras.

Os nematoides das galhas são conhecidos por provocar o engrossamento das raízes nos pontos de penetração do juvenil do segundo estágio, resultante da hipertrofia e hiperplasia celular no cilindro vascular e no parênquima cortical ao redor do corpo do nematoide em desenvolvimento. As galhas são formadas pela própria planta, como reação a toxinas introduzidas pelos nematoides. A formação de galhas nas raízes das plantas compromete a absorção de nutrientes e água, provocando sintomas secundários de subdesenvolvimento, murcha e deficiência nutricional ((FERRAZ; MONTEIRO, 2011; FREITAS *et al.*, 2012).

A ocorrência dos nematoides das galhas está quase sempre associada a regiões quentes, entretanto algumas espécies são típicas de clima frio, como a *M. hapla*. As espécies

*M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* são mais frequentes em regiões de clima quente, predominando nas regiões tropicais (TAYLOR; SASSER, 1978).

O nematoide das galhas é capaz de se desenvolver em um grande número de hospedeiros como fruteiras, hortaliças, plantas silvestres, ornamentais e ervas daninhas (MANSO *et al.* 1994). Nas culturas hortícolas, estes causam perdas no rendimento e qualidade, quando estão presentes nas áreas de cultivo (CHOUDHURY, 1998; KRATOCHVIL *et al.*, 2004).

As perdas ocasionadas pelos nematoides das galhas no Brasil são estimadas entre 5 e 15 %, dependendo da cultura (LORDELLO, 1984). Charchar e Aragão (2003) relataram que as perdas causadas por espécies do gênero *Meloidogyne* em tomateiros cultivados em campo podem ser de 14 a 24%, e em estufas, as perdas tendem a serem maiores, variando de 15 a 44%, devido à ocorrência de temperaturas elevadas no interior da estufa. Na cultura da soja, as perdas na produtividade ocasionadas pelas espécies de *Meloidogyne* variam de 30 a 90 % (ASMUS, 2004) e, para a cultura da cenoura, perdas de 20 a 100 % podem ser observadas (PINHEIRO *et al.*, 2010).

A diversidade biológica e genética que ocorre em *Meloidogyne* spp. é bastante complexa (MATTOS, 2013). A identificação de raças dentro das espécies de *Meloidogyne* pode ser realizada empregando-se o teste de hospedeiros diferenciadores estabelecido por Hartman e Sasser (1985). Raças fisiológicas já foram relatadas nas espécies de *M. incognita*, *M. arenaria* (SASSER, 1980), *M. javanica* (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1990; CARNEIRO *et al.*, 2003), *M. hapla* (WOFFORD *et al.*, 1989), *M. exigua* (SILVA, 2005) e *M. chitwoodii* (MOJTAHEDI *et al.*, 1988).

Devido à variabilidade genética, com maior número de raças, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e a *M. hapla* são as espécies que comumente predominam sobre as demais espécies do gênero, infectando várias hortaliças, incluindo o tomateiro, considerado hospedeiro universal de *Meloidogyne* spp. (SANTOS, 2008).

Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários, cujo ciclo de vida inicia-se com o ovo, o qual poucas horas após a deposição começa a se desenvolver, passando por divisões celulares (desenvolvimento embrionário) até que ocorre a formação do juvenil do primeiro estágio (J1). A primeira ecdise ocorre ainda dentro do ovo, transformando-se em um juvenil do segundo estágio (J2). A eclosão do J2 ocorrerá quando as condições ambientais são favoráveis a sua sobrevivência, tais como temperatura apropriada, disponibilidade de oxigênio e níveis de umidade do solo adequados. O juvenil emerge de um

orifício feito na parede da casca do ovo por meio de repetidas estocadas do estilete. O J2, após eclodir, pode permanecer ou não na massa de ovos. Atraído pelos extratos radiculares, o J2 migra em direção à raiz e penetra na região da zona de alongamento celular, visto que nessa região há uma concentração da produção de exsudatos da raiz. Após a penetração, o indivíduo J2 migra no interior da raiz, atravessa o parênquima cortical, alcançando a região de alongamento celular no córtex, onde inicia o parasitismo. O J2 injeta nas células, por meio de seu estilete, secreções produzidas em suas glândulas esofagianas as quais causam alterações morfológicas e fisiológicas.

Com isso, ocorre uma hipertrofia celular no cilindro central e hiperplasia no periciclo, produzindo conteúdo necessário para alimentação e desenvolvimento do fitonematoide (HUSSEY; GRUNDLER, 1998; TIHOHOD, 1993; MOURA, 1996; CURTIS *et al.*, 2009).

Definido seu sítio de alimentação, o J2 aumenta de tamanho e seu corpo adquire uma forma salsichoide, perdendo sua mobilidade e tornando-se sedentário. Atingindo seu máximo crescimento, o J2 sofre outras duas ecdises, dando origem aos juvenis do terceiro estágio (J3) e posteriormente juvenil do quarto estágio (J4). Nestes dois últimos estágios, o nematoide não se alimenta, pois são desprovidos de estilete e seu esôfago se encontra parcialmente degenerado. Ainda na fase juvenil, já é possível distinguir aqueles que se tornarão machos e fêmeas, devido à presença de células relativas ao sistema reprodutor, denominadas de primórdio genital. Finalmente, ocorrerá uma quarta e última ecdise, dando origem aos indivíduos adultos (macho ou fêmea) (LORDELLO, 1984; MOURA, 1996; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Após a última ecdise, as fêmeas começam a se alimentar, e permanecem onde estão até morrerem dentro das raízes. Os machos, após formados, não se alimentam e, geralmente, deixam a raiz (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; MOENS *et al.*, 2009).

A formação do macho acontece durante o quarto estágio juvenil (J4), após uma rápida metamorfose, onde seu corpo se alonga, adquirindo aspecto fusiforme na quarta ecdise, e, por fim, emergirá completamente desenvolvido, provido de estilete e espículas. No caso da fêmea, após a quarta ecdise, seu corpo aumenta de volume até ficar globoso e completa o seu amadurecimento, que culmina com a postura de ovos, envoltos em uma massa de aspecto gelatinoso, liberada pelas glândulas retais e que flui pelo ânus. Em geral, cada fêmea produz 500 a 700 ovos por postura (LORDELLO, 1984; MOURA 1996). As fêmeas produzem ovos

por aproximadamente três meses e, depois de cessada a produção, podem viver um pouco mais, sendo uma fêmea capaz de produzir até 2.500 ovos (MOENS *et al.*, 2009).

A reprodução dos nematoides das galhas ocorre mais comumente por partenogênese, na qual não há a fecundação dos óvulos, podendo ser meiótica facultativa ou mitótica obrigatória. Em alguns casos, a reprodução pode ocorrer por anfimixia. Em condições normais, para *Meloidogyne* spp., e com índice adequado de parasitismo, há uma predominância de indivíduos adultos fêmeas. Um aumento do número de machos é verificado quando a espécie vegetal parasitada é uma má hospedeira, está debilitada, velha ou altamente parasitada, bem como havendo alta competitividade por alimentos dentro da raiz (LORDELLO, 1984; MOURA, 1996; FERRAZ *et al.*, 2012).

Em condições ambientais desfavoráveis como falta de água, temperaturas elevadas ou fitotoxidez, os juvenis que se desenvolveriam em fêmeas se tornam machos. Tal processo, denominado reversão sexual, é um dos mecanismos de sobrevivência, resultando numa diminuição da produção de ovos, em consequência disto, o parasitismo sobre a planta infectada será reduzido, garantindo a sobrevivência de algumas fêmeas (FREITAS *et al.*, 2008).

O ciclo de vida do *Meloidogyne*, de ovo a ovo, dura, em média, de duas a quatro semanas, dependendo de vários fatores, como a planta hospedeira e condições ambientais, principalmente a temperatura (LORDELLO, 1984; FERRAZ *et al.*, 2012). Moura (1996) relatou que as espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, completam, em média, seu ciclo de vida com 25 dias, em temperaturas próximas a 28° C, em plantas susceptíveis. Lordello (1984) comentou que em locais com temperaturas próximas a 19° C, o ciclo de *M. incognita*, foi completado em 54 dias. Além da duração do ciclo de vida das espécies do gênero *Meloidogyne*, Moens *et al.* (2009) relatou que o surgimento das primeiras fêmeas de *M. incognita* ocorre de 13 a 15 dias após a penetração nas raízes de tomateiro e as primeiras massas de ovos, após 19 a 21 dias, em regiões com temperatura de 29 °C.

#### **2.4 *Meloidogyne incognita***

*Meloidogyne incognita* é considerada uma espécie cosmopolita, polífaga e comumente encontrada em regiões tropicais e temperadas (TRUDGILL; BLOK, 2001; KARSSSEN; MOENS, 2006). No Brasil, em um levantamento realizado por Manso *et al.* (1994), foi constatado um número de 256 espécies vegetais hospedeiras de *M. incognita*.

A capacidade de parasitar uma ampla gama de plantas e cultivares, se deve a variabilidade genética de *M. incognita*, que pode ser observada pela existência de quatro raças fisiológicas (SASSER, 1980). A identificação dessas raças pode ser realizada por meio de hospedeiras diferenciadoras. Hartman e Sasser (1985) relataram que todas as raças reproduzem-se em tomateiro ‘Rutgers’; em melancia ‘Charleston Gray’ e em pimentão ‘Early California Wonder’ e, nenhuma delas se multiplica em amendoim ‘Florunner’. Porém, conforme a raça fisiológica, as repostas ao fumo ‘NC 95’ e ao algodão ‘Deltapine 16’, pode variar com presença ou ausência de galhas.

Embora se reproduzam por partenogênese mitótica, populações de *M. incognita* apresentam como características uma rápida colonização e adaptação em ambientes desfavoráveis e isso, possivelmente, lhes confere vantagens em termo de parasitismo e capacidade de causar danos em plantas, uma das razões pelas quais é considerado um dos mais destrutivos patógenos do mundo (TRUDGILL; BLOK, 2001)

As fêmeas de *M. incognita* apresentam estilete de 15-16 µm de comprimento com bulbos basais arredondados. Os padrões perineais típicos de *M. incognita* são arco dorsal elevado, anguloso, sulcos laterais ausentes, campo lateral apresentando estrias com bifurcações e interrupções (EISENBACK, 1985; HUNT; HANDBOOK, 2009). A observação dos padrões de configuração da região perineal de *Meloidogyne* spp. foi uma das principais formas utilizadas na classificação de espécies do gênero. Porém, nas últimas décadas, essa técnica caiu em desuso, devido à ocorrência de variações nas configurações perineais, dentro e entre as espécies, resultando em identificações equivocadas, mesmo em populações vindas de uma mesma massa de ovos (FERRAZ; MONTEIRO, 2011; MOURA, 1996; CARNEIRO *et al.*, 2016). Por exemplo, *M. paranensis* foi identificada como *M. incognita*, durante vários anos no Brasil (CARNEIRO *et al.*, 1996).

A morfologia dos machos é também essencial para o diagnóstico de algumas espécies como *M. incognita*, *M. paranaensis* e *M. konaensis* (CARNEIRO *et al.*, 2005). Os machos são vermiformes, não sedentários, e possuem o corpo de comprimento de 700-2.000 µm. Tem um elevado disco labial, arredondado e grande, disposto sobre os lábios medianos, podendo ser centralmente côncavo e, geralmente, seus lábios laterais são ausentes. O comprimento do estile é, em média, de 23-26 µm, e os bulbos podem variar de tamanho e de forma entre diferentes populações (EISENBACK, 1985; HUNT; HANDBOOK, 2009). Características morfométricas do macho, tais como, comprimento do corpo, do esôfago, da cauda e largura do corpo são utilizadas como ferramentas para identificação, porém, a região

anterior e a morfologia do estilete são as fontes de caracteres morfológicos mais importantes (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990).

Nas últimas décadas, técnicas moleculares e bioquímicas têm sido estudadas e utilizadas como ferramenta para identificação de fitonematoides, dentre elas o uso de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e enzimas de esterase (CARNEIRO *et al.*, 2005). Dickson *et al.* (1971) foram os primeiros a aplicar a técnica de eletroforese de isoenzimas na diagnose de espécies de *Meloidogyne*, com base nos padrões das enzimas esterase, malato-desidrogenase e  $\alpha$ -glicerofosfato desidrogenase. Extrato de proteína bruta de fêmeas adultas de *M. incognita* de coloração branco leitosa, foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida e apropriadamente corado para revelar o fenótipo de uma enzima. Essas enzimas se mostraram úteis na identificação das quatro espécies (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. hapla*) mais comuns dos nematoides das galhas (CARNEIRO *et al.*, 2000).

A espécie *M. incognita* apresenta dois fenótipos para a isoenzima esterase (EST), denominados I1 e I2, e um fenótipo para malato-desidrogenase (MDH), o N1. Sendo o fenótipo I1 caracterizado por apresentar uma banda, de igual peso molecular à primeira banda de *M. javanica*, que é tida como padrão de comparação. O fenótipo I2 se distingue do I1 por apresentar uma segunda banda próxima à anterior (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985; CARNEIRO *et al.*, 2000).

Segundo Carneiro *et al.* (2016), embora o uso de técnicas moleculares ainda seja restrito a poucas espécies, estas ferramentas são consideradas como um dos melhores e mais precisos métodos no diagnóstico dos nematoides das galhas, visto que o uso de marcadores moleculares permitem uma identificação mais rápida e segura. A identificação de espécies de *Meloidogyne* por meio de PCR convencional é realizada com sucesso, utilizando marcadores SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) (CARNEIRO *et al.*, 2016). Dentre as espécies diagnosticadas, com base na amplificação do DNA, *M. incognita* é uma das espécies que podem ser identificadas por meio desta técnica (MENG *et al.*, 2004).

## 2.5 Métodos de controle

Diversos métodos têm sido empregados no controle de fitonematoides, contudo, nem sempre com êxito. A melhor medida a ser tomada para manejo desses patógenos, ainda é a preventiva, evitando a introdução dos mesmos em áreas isentas. Tais medidas fitossanitárias preventivas que podem ser recomendadas incluem a introdução de materiais propagativos saudáveis, limpeza de implementos e máquinas agrícolas e o uso de botas e pneus limpos

(FERRAZ *et al.*, 2012; SILVA., 2011). A análise prévia do solo e de raízes de vegetação espontânea de áreas de histórico desconhecido é também um cuidado que deve ser observado.

Uma vez introduzido e estabelecido nas áreas de cultivo, o produtor precisa adotar práticas que mantenham a população de fitonematoides em níveis baixos, de forma que permita a utilização da área, visto que é muito difícil a erradicação desses patógenos, uma vez estabelecidos num local (TIHOHOD, 1993).

Como para os demais nematoides que afetam raízes, os nematoides do gênero *Meloidogyne* apresentam como principais medidas de controle a rotação de culturas, o uso de plantas antagonistas, as culturas armadilhas, as variedades resistentes, o pousio, a solarização, a inundação, o revolvimento do solo, o controle biológico e o controle químico (FERRAZ *et al.* 2012).

O uso da resistência genética é um dos métodos de controle de fitonematoides mais eficientes e econômicos (ROBERTS, 2002). A utilização desse método apresenta como vantagens a redução dos riscos de contaminação do ambiente, supressão da reprodução dos nematoides, não requer equipamentos especiais para a sua utilização, não traz custos adicionais ao produtor, além do custo de aquisição das sementes ser similar ao das cultivares suscetíveis (COOK; EVANS, 1987; SILVA, 2001). As desvantagens do uso de variedades resistentes no controle de fitonematoides, porém, se devem ao tempo de pesquisas e aos ensaios de campo requeridos para sua obtenção, o que justifica a sua escassez, além do fato de que as recomendações de variedades resistentes podem ser restritas a determinadas regiões devido ao clima e solo (FREITAS *et al.*, 2008).

O emprego de nematicidas químicos, durante muitos anos, foi um dos métodos de controle mais empregados, em razão da eficiência, relativa facilidade de uso e dos bons resultados obtidos (SILVA, 2011). Embora este tipo de controle represente uma das opções mais viáveis sob o ponto de vista econômico após o estabelecimento da cultura, também tem demonstrado algumas limitações como a acúmulo de resíduos tóxicos no solo, efeito nocivo sobre o ser humano e a resistência dos patógenos ao nematicida químico em decorrência do seu uso indiscriminado (CHITWOOD, 2002; STARR *et al.*, 2007).

Outras alternativas de controle que sejam eficientes e garantam a sustentabilidade dos agroecossistemas têm sido estudadas. O uso de diferentes espécies vegetais com propriedades nematicidas vem sendo utilizadas como forma de controle por meio da incorporação de suas partes, de extratos vegetais ou de óleos essenciais, sendo aplicadas ao

solo (MORILLO; SILVA, 2015; MARTINS; SANTOS, 2016; FERREIRA *et al.*, 2013b; MOREIRA *et al.*, 2015).

Substâncias nematicidas produzidas por várias espécies de plantas empregadas em rotação podem ser liberadas no solo através de exsudação das raízes, volatilização, lixiviação e decomposição dos resíduos (HALBRENDT, 1996). Quanto ao uso do controle químico, o uso de nematicidas está sendo restringido, em alguns países, em razão de sua elevada toxicidade e permanência no ambiente (FERRAZ *et al.*, 2012).

Inicialmente, a incorporação de matéria orgânica ao solo, era uma prática adotada visando incrementar à produção agrícola por meio da melhoria físico-química do solo. Atualmente, tem sido considerado também como um método de controle de doenças de plantas provocadas por patógenos de solo, como os fitonematoides, agindo de forma direta pela liberação de substâncias nematicidas, e indireta pelo estímulo à população antagonista presente no solo (SILVA *et al.*, 2011; AKHTAR; MALIK, 2000; FERRAZ *et al.*, 2012).

Em várias espécies vegetais estudadas, foi verificado seu potencial nematicida por possuírem uma série de componentes, tais como proteínas, alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos e compostos fenólicos (CHITWOOD, 2002; DEMUNER *et al.*, 2003; CUNHA *et al.*, 2003). Trabalhos realizados por Mateus *et al.* (2014), Almeida *et al.* (2012), Baldin *et al.* (2012) e Moreira *et al.* (2009) têm avaliado e comprovado a eficácia de extratos vegetais sobre *Meloidogyne* spp.

Substâncias com ação nematicida foram isoladas de espécies vegetais como *Azadirachta indica* (azadiractina, nimbidina e tionemone) (JAVED *et al.*, 2005), *Crotalaria spectabilis* (monocrotalina) (SCHAEFFER *et al.*, 1989), *Mucuna aterrima* (ácidos graxos, alantoina) (BARBOSA *et al.*, 1999), *Canavalia ensiformes* (canavanina) (ROSENTHAL; DAHLMAN, 1986), entre outras. A atividade nematicida existente nos vegetais está relacionada com o solvente utilizado na extração de seus produtos e da parte da planta utilizada (FASSULIOTIS; SKUCAS, 1969; BIRCH *et al.*, 1993).

Em ensaios realizados por Franzener *et al.* (2007) foi demonstrado que a aplicação de extrato aquoso de flores de cravo-de-defunto ao solo, provocou a redução no número de galhas, número de juvenis no solo, e número de ovos de *M. incognita* em raízes de tomateiro.

Ferreira *et al.* (2013a) verificaram que os extratos aquosos de 10 espécies de Asteraceae foram eficientes na redução da eclosão de juvenis de *M. incognita*, *in vitro*. Em outro ensaio, Ferreira *et al.* (2013b) verificaram que a incorporação da parte aérea das 10 espécies de Asteraceae ao solo, visando o controle de *M. incognita* parasitando plantas de

tomateiro, proporcionou um incremento da massa fresca da parte aérea do tomateiro, além da redução do fator de reprodução (FR) do patógeno.

Santos (2015), em ensaios conduzidos *in vitro* com extratos foliares de *Calotropis procera*, constatou-se sua ação nematocida sobre juvenis de segundo estágio de *M. enterolobii*. Posteriormente, observou que quando as folhas foram incorporadas em solo infestado com o nematoide, ocorreu à erradicação do mesmo, não tendo sido observadas galhas em raízes de tomateiros cultivados após essa incorporação.

Silva *et al.* (2011) afirma que a busca por nematocidas naturais têm aumentado o número de pesquisas, com intuito de substituir produtos químicos considerados nocivos a natureza e ao homem. Para os pequenos produtores, o uso de extratos vegetais para o controle de fitonematoides na agricultura seria uma alternativa viável, já que os mesmos não dispõem de poucos recursos para a aquisição de nematocidas químicos no mercado. E para o grande produtor, se trata de uma conscientização da preservação da flora nativas das regiões, uma vez que estas espécies podem ser, no futuro, fonte de moléculas de nematocidas naturais.

## 2.6 *Calotropis procera*

*Calotropis procera* (Ait.) R. Br. é uma espécie vegetal pertencente à família Asclepiadaceae, e popularmente conhecida como ciúme, ciumeira, saco velho, algodão de seda, leiteiro e queimadeira, no Brasil (RANGEL; NASCIMENTO, 2011; MELO, 2001). É considerada uma espécie com ampla distribuição geográfica, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, tendo como centro de origem o continente Africano e Asiático (LEÃO *et al.*, 2011). E no Brasil, essa espécie foi introduzida como planta ornamental devido à beleza das flores (LÁZARO *et al.*, 2012).

A planta é um arbusto perene, porte ereto, pouco ramificado, podendo atingir entre 3 a 4 metros de altura. Suas folhas são grandes e subcoriáceas, enquanto que, seus frutos são cápsulas infladas, globosas, grandes, com sementes cobertas por painas brancas sedosas. As suas flores são roxas e dispostas em inflorescências fasciculadas terminais. Seus ramos, folhas, pedúnculos e frutos são recobertos geralmente por serosidade, principalmente nas plantas mais jovens (LORENZI; MATOS, 2002).

A ampla distribuição de *C. procera* deve-se à fácil dispersão, que é favorecida por suas sementes aladas envoltas por uma plumagem, facilitando o seu transporte pelo vento e alcançando vários quilômetros. As sementes possuem um excelente percentual de germinação, uma vez que não apresentam dormência (SOUTO *et al.*, 2008; JOLY, 1979).

São abundantes em áreas de clima quente com baixa pluviosidade, solos arenosos e alcalinos. Segundo Souto *et al.* (2008), *C. procera* é considerada uma espécie ruderal, sendo observada principalmente em terrenos abandonados ou em pousio, junto a estradas, ruas, parques, dunas de areia, bem como em campos de cultivo, como vegetação espontânea. Estabelece-se rapidamente e torna-se frequentemente dominante em áreas física e quimicamente degradadas (GULZAR *et al.*, 2014; MELO, 2001).

Apresenta como característica peculiar uma intensa produção de látex que flui abundantemente quando seus tecidos são rompidos, principalmente nas partes verdes da planta (LORENZI; MATOS, 2002). O látex presente em *C. procera* é uma emulsão constituída de proteínas, aminoácidos, carboidratos, lipídios, vitaminas alcaloides, carbonatos, resinas, taninos e terpenos (MORCELLE *et al.*, 2004; FREITAS *et al.*, 2011). Análises fitoquímicas do látex e de extrato etanólico de folhas de *C. procera* mostraram a presença de alto conteúdo de compostos ativos, tais como glicosídeos cardíacos, alcaloides, terpenos, resinas, lípidos, flavonoides, taninos e esteroides (MOHAMED *et al.*, 2015; MOSSA *et al.*, 1991).

A abundância de látex, nas partes verdes da planta, reforça a ideia de que o látex seja produzido e acumulado como uma estratégia de defesa contra predadores e fitopatógenos, visto que foi observada a presença de proteínas (PR-Proteínas), como glucanases, quitinases e proteinases e, provavelmente, um inibidor de protease, no látex que podem estar envolvidos no mecanismo de defesa ativado contra patógenos (RAMOS *et al.*, 2007; LARHSINI *et al.*, 1997; VAN LOON; VAN STTRIEN, 1999; FREITAS *et al.*, 2007).

Freitas (2006) observou o efeito inseticida de proteínas do látex de *C. procera* sobre as pragas agrícolas *Callosobruchus maculatus*, *Zabrotes subfasciatus*, *Anticarsia gemmatalis* e *Ceratitis capitata*, associado à presença de um inibidor de atividade proteolítica do tipo cisteínica, além da presença de quitinases e elevada atividade proteolítica endógena provando que a fração protéica do látex é um dos fatores constituintes da defesa da planta contra insetos.

Em ensaio realizado por Santos (2015) foi constatado o efeito nematicida *in vitro* e *in vivo* de *C. procera* sobre a espécie *M. enterolobii*. Cavalcante *et al.* (2016) verificaram o efeito nocivo do extrato de acetato de etila do látex de *C. procera* sobre a eclosão de larvas do nematoide gastrointestinal *Haemonchus contortus*.

Diferentes partes da *C. procera* têm sido utilizadas na fabricação de fitoterápicos com efeitos anti-inflamatório (KUMAR *et al.*, 2011; PARIHAR *et al.*, 2011), antitumoral

(VAN QUAQUEBEKE *et al.*, 2005), anti-helmínticos (IQBAL *et al.*, 2005), nematicidas (CAVALCANTE, 2015), inseticida (FREITAS *et al.*, 2006), alelopáticos (GULZAR; SIDDIQUI, 2016) antimicrobianos (PRIYA; SANTHIYA, 2011) e antioxidante (YESMIN *et al.*, 2008).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Com intuito de investigar o efeito de *C. procera* no controle de *M. incognita*, e de avaliar a população de machos de *M. incognita* em tomateiro, foram realizados seis experimentos em condições de casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará – Fortaleza/CE.

#### Obtenção do inóculo e identificação da raça de *M. incognita*

A população inicial de *M. incognita* utilizada nos ensaios, foi obtida a partir de raízes de tomateiro cv. Carolina, mantidas em casa de vegetação, cuja identificação do patógeno, em nível de espécie, foi realizada por meio da técnica de eletroforese de isoenzimas (esterase). Para a identificação da raça fisiológica do nematoide, foi realizado o teste de hospedeiros diferenciadores, inoculando fumo (*Nicotiana tabacum* L.) cv. NC 95, algodão (*Gossypium hirsutum* L.) cv. Deltapine 16 e tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Carolina, como controle. A raça foi determinada por meio da avaliação do sistema radicular das plantas, 60 dias após inoculação do *M. incognita*, examinado a presença ou ausência de galhas, conforme estabelecido por Hartman e Sasser (1985) (Tabela 1).

**Tabela 1** – Reação de hospedeiras diferenciadoras para determinação de raças fisiológicas de *Meloidogyne incognita*.

<b>HOSPEDEIRAS DIFERENCIADORAS</b>			
Espécie e raças de <i>Meloidogyne</i>	Algodão Deltapine 16	Fumo NC 95	Tomate Carolina
<i>M. incognita</i>			
<b>Raça 1</b>	-	-	+
<b>Raça 2</b>	-	+	+
<b>Raça 3</b>	+	-	+
<b>Raça 4</b>	+	+	+

(-) sem galhas; (+) galhas

Fonte: HARTMAN; SASSER (1985).

Sessenta dias após a inoculação das hospedeiras diferenciadoras, para identificação da raça fisiológica de *M. incognita*, o exame das raízes quanto à ausência ou presença de galhas, de acordo Hartman e Sasser (1985), possibilitou definir que a raça fisiológica do inóculo detectada foi a raça 2, em razão de não se verificar galhas nas raízes de algodoeiros cv. Deltapine 16 e pela observação de galhas nas raízes de plantas de fumo cv. NC 95 (Figura 1). O controle positivo (tomate cv. Carolina) também exibiu galhas.

**Figura 1** – Raízes de plantas de fumo cv. NC 95 (A), algodão cv. Deltapine 16 (B) e tomate cv. Carolina (C), sessenta dias após inoculação com *Meloidogyne incognita*, para identificação da raça fisiológica.



Fonte: elaborado pelo autor

### Manutenção da população de nematoides em tomateiros

Após a identificação e determinação da raça fisiológica, a população deste nematoide foi multiplicada em plantas de tomateiro cv. Carolina, em casa de vegetação ( $29 \pm 4$  °C). Para produção de mudas de tomateiro, a semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido (isopor), com 128 células, contendo a mistura autoclavada de solo e esterco caprino na proporção 2:1. As mudas do tomateiro foram transplantadas no estágio de duas a três folhas definitivas para vasos de polietileno (1 L), contendo o mesmo substrato da semeadura.

Para obtenção do inóculo para os experimentos, foi empregado o método de Coolen e D'Herde (1972), que consiste em triturar raízes infectadas no liquidificador, na presença de água e hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,5 %. A suspensão obtida, após passagens pelas peneiras de 20 e 400 mesh, foi distribuída em tubos de centrífuga e adicionado caulim. A suspensão foi centrifugada a 1750 rpm, por 5 minutos. Após descarte do sobrenadante e adição de sacarose a 45%, os tubos foram novamente centrifugados a 1750 rpm por um minuto. O sobrenadante foi recolhido em peneira de 400 mesh, lavado com água corrente e transferido para um béquer, onde foi realizada a contagem de ovos em câmara de Peters, para calibração da suspensão.

Para a inoculação, foram empregados cerca de 5.000 ovos por planta de tomate cv. Carolina, com o objetivo de manter as populações de *M. incognita* a serem utilizadas nos ensaios.

### Obtenção do extrato aquoso de *C. procera*

A metodologia para obtenção do extrato aquoso de *C. procera* utilizada, foi a descrita por Dias *et al.* (2000) e adaptada por Martins e Santos (2016), na qual folhas de plantas cultivadas em casa de vegetação, foram submetidas ao processo de secagem em estufa, a 60 °C por 2 a 3 dias, seguida de posterior pesagem e imersão, na forma macerada, em água destilada por 24 horas. A proporção utilizada foi de 1 g de folha seca para 10 mL de água. Após as 24 horas, as folhas foram maceradas manualmente e os extratos filtrados em gaze e centrifugados durante 10 minutos a 2.000 rpm. O extrato foi obtido na diluição a 10% (p/v) (Figura 2). O extrato aquoso de *C. procera* foi utilizado nos testes *in vitro* e no ensaio de aplicação do extrato ao solo.

**Figura 2** – Preparo do extrato aquoso de *Calotropis procera* para utilização nos ensaios *in vitro* e de aplicação em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) folhas trituradas após secagem; (B) folhas imersas em água destilada por 24 h; (C) maceração das folhas e (D) extrato obtido a 10 %, após centrifugação.



Fonte: elaborado pelo autor

Os seis ensaios realizados foram: (1) Avaliação da suscetibilidade de *C. procera* a *M. incognita* raça 2; (2) Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*; (3) Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*; (4) Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita*; (5) Efeito da incorporação de folhas frescas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita* e (6) Avaliação da população de machos em relação à população de fêmeas e da reprodução de *M. incognita* em tomateiro.

### 3.1 Avaliação da suscetibilidade de *C. procera* a *M. incognita* raça 2

Para avaliar a suscetibilidade de *C. procera* quanto à infecção de *M. incognita*, seis mudas de *C. procera* com 30 dias de idade, produzidas em casa de vegetação ( $29 \pm 4$  °C), foram transplantadas para vasos contendo uma mistura autoclavada de solo e esterco caprino na proporção 2:1. Posteriormente, foram inoculadas com 5.000 ovos de *M. incognita*. Plantas de tomateiro cv. Carolina foram também inoculadas para constituírem o controle positivo. Sessenta dias após a inoculação, as plantas de *C. procera* foram retiradas dos vasos e os sistemas radiculares foram lavados em água corrente, e realizada a contagem do número de galhas (NG) e número de massas de ovos (NMO) dos nematoides do sistema radicular de cada planta/repetição, sob microscópio estereoscópio. As variáveis avaliadas para determinação da suscetibilidade foram: índice de galhas (IG), índice de massa de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR). As médias do IG e do IMO foram determinadas a partir do IG e do IMO de cada planta/repetição do ensaio, conforme a escala numérica de classificação (0 a 5) de Taylor e Sasser (1978) (Tabela 2). De acordo com Hadisoeganda e Sasser (1982), conforme a média do IMO, os graus de resistência de uma planta seguem a seguinte classificação: 0,0 -1,0 Altamente Resistente (AR); 1,1-3,0 Muito Resistente (MR); 3,1-3,5 Moderadamente Resistente (MR); 3,6-4,0 Levemente Resistente (LR) e 4,1- 5,0 Suscetível (S), permitindo, desta forma, atribuir o tipo de comportamento da *C. procera* ao parasitismo de *M. incognita*. Oostenbrink (1966) afirma que outra forma de determinar a suscetibilidade de plantas a *Meloidogyne* spp. é por meio do fator de reprodução (FR), onde FR= 0 é imune, FR<1,0 é resistente e FR>1,0 é suscetível. O FR é determinado pelo quociente entre a população final e a população final do patógeno. A coloração das raízes com fucsina ácida foi realizada para facilitar a contagem de massa de ovos.

**Tabela 2** – Índices de galhas e de massas de ovos de *Meloidogyne* spp.

Índice	Número de galhas e/ou massas de ovos
0	0
1	1-2
2	3-10
3	11-30
4	31-100
5	>100

Fonte: TAYLOR; SASSER (1978)

### **3.2 Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita***

Nos testes *in vitro*, duas diluições do extrato aquoso de folhas de *C. procera* foram testadas, 5 e 10 %. A diluição a 5 % foi obtida empregando uma parte do extrato a 10% e uma parte igual de água destilada (1:1). Para avaliar o efeito do extrato de *C. procera* sobre a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2), placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro foram utilizadas como câmaras de eclosão. Foram distribuídos 3 mL de cada concentração do extrato a ser testada, por placa, contendo 50 ovos de *M. incognita*. A testemunha constou apenas da suspensão de ovos em água destilada. As câmaras de eclosão foram mantidas no escuro e postas em bandejas de polietileno forradas com papel de filtro umedecido diariamente e mantidas a uma temperatura de  $25^{\circ}\pm 2$  C. Decorrido 15 dias, contou-se o número de J2 eclodidos, com auxílio de microscópio estereoscópio. Os ovos empregados nesse ensaio foram obtidos utilizando-se o método de extração de Coolen e D'Herde (1972).

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (extratos a 5, 10 % e uma testemunha) e 10 repetições. A parcela experimental consistiu em uma câmara de eclosão com 50 ovos, totalizando 1.500 ovos nesse ensaio.

### **3.3 Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita***

A avaliação do efeito nematicida do extrato de *C. procera* sobre os juvenis de *M. incognita*, foi realizada mediante duas avaliações considerando o tempo de permanência (24 e 48 h) dos juvenis no extrato, e o tempo de armazenamento das folhas utilizadas no preparo do extrato (01 e 62 dias após secagem das folhas).

Para avaliação da mortalidade de J2, inicialmente, massas de ovos foram retiradas de raízes de tomateiros infestadas por *M. incognita* e transferidas para várias placas de Petri, contendo água destilada. Após 24 horas, foram transferidos 50 juvenis eclodidos com auxílio de micropipetas, para placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro, contendo 3 mL dos extratos de folhas de *C. procera* (5 e 10 %). A testemunha constou apenas da suspensão de juvenis em água destilada.

Na primeira avaliação, considerou-se o efeito dos extratos a 5 e 10 % sobre a mortalidade de juvenis, considerando os indivíduos imóveis e os ativos após 24 e 48 h de permanência no extrato. Realizada a contagem após 24 e 48 h no extrato, os juvenis imóveis

foram transferidos para placa de Petri contendo água destilada para observar a possível recuperação da mobilidade. Decorridas 24 h em água, foi procedida nova contagem dos juvenis mortos (inativos) e vivos (ativos) em microscópio estereoscópio. Calculou-se, assim, a porcentagem de mortalidade dos juvenis.

O delineamento estatístico adotado foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 x 3, com seis tratamentos, resultantes da combinação dos fatores tempo de permanência no extrato (24 e 48 h) e diluições do extrato (5 e 10%) e o controle (água destilada), com 10 repetições. A parcela experimental consistiu em uma placa de Petri com 50 juvenis, totalizando 3.000 indivíduos nesse ensaio.

A segunda avaliação foi realizada com intuito de se verificar se o tempo de armazenamento das folhas interfere no efeito do extrato aquoso sobre a mortalidade dos J2 de *M. incognita*. Para o preparo dos extratos, foram utilizadas folhas de *C. procera* armazenadas por 01 e por 62 dias após secagem (DAS), em estufa 60° C por 2 a 3 dias. A montagem do experimento foi a mesma descrita nos parágrafos anteriores, sendo que a diluição do extrato empregada nesta avaliação foi a de 10 % e o tempo de permanência dos J2 nos extratos foi de 24 h. Ao final, foi procedida a contagem de J2 mortos e vivos em microscópio estereoscópio e calculada a porcentagem de mortalidade dos juvenis.

O delineamento utilizado neste último ensaio foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (extrato obtido de folhas armazenadas a 01 e a 62 DAS) e controle (água destilada), com 10 repetições. A parcela experimental consistiu em uma placa de Petri com 50 juvenis, totalizando 1.500 indivíduos nesse ensaio.

### **3.4 Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita***

Para avaliação do efeito da aplicação do extrato de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita*, alíquotas da suspensão contendo 5.000 ovos do nematoide foram inicialmente distribuídas em três orifícios com 2 cm profundidade, em uma mistura autoclavada e úmida de solo e esterco caprino na proporção 2:1 (v:v), contida em vasos de plástico com capacidade de 1 L. Após a distribuição do inóculo os orifícios foram fechados. No dia posterior à infestação do solo, foi realizada a aplicação de 30 mL do extrato aquoso de folhas secas de *C. procera*, utilizando as mesmas diluições utilizadas nos testes *in vitro* (5 e 10%). A aplicação do extrato foi realizada na forma de rega sobre toda a superfície do solo,

previamente umedecido. Para o controle positivo, foram aplicados 30 mL de água destilada ao solo. Nas regas dos extratos e da água foi utilizado um recipiente com tampa plástica perfurada. O horário de aplicação foi ao final da tarde, a fim de evitar a evaporação dos extratos.

No dia seguinte à aplicação do extrato, uma muda de tomate cv. Carolina com duas a três folhas verdadeiras foi transplantada para cada vaso com o solo infestado e tratado com o extrato (Figura 3). Sete e 14 dias após o transplântio das mudas, novamente foi realizada a aplicação de 30 mL do extrato a 5 e 10 % de *C. procera* ao solo.

**Figura 3** – Mudanças de tomateiro cv. Carolina transplantadas no dia posterior à primeira aplicação do extrato aquoso de *Calotropis procera* no solo.



Fonte: elaborado pelo autor

Quarenta e cinco dias após o transplântio, as plantas de tomateiro foram retiradas e quantificadas, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP), massa fresca da raiz (MFR), número de galhas (NG), número de massas ovos (NMO) e número de ovos (NO) por planta de tomateiro, e calculado o fator de reprodução (FR), redução do fator de reprodução (RFR) e redução do parasitismo (RP), onde:

$$\mathbf{FR = população\ final / população\ inicial}$$

$$\mathbf{RFR = (FR\ padrão - FR\ planta\ teste) / FR\ padrão \times 100}$$

$$\mathbf{RP = 100 \times (1 - T / C)}$$

T = Média do número de ovos do tratamento; C = Média do número de ovos do controle positivo

Neste ensaio, para a avaliação do NO e do FR, a metodologia empregada na extração de ovos foi uma adaptação da técnica Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981) na qual a suspensão de ovos e raízes foi passada por uma peneira de 20 mesh (abertura 0,84 mm) acoplada a uma peneira de 100 mesh (abertura de 0,15 mm) sobre outra de 400 mesh (abertura de 0,037 mm), ficando os ovos retidos nessa última peneira. A contagem procedeu-se conforme descrito anteriormente.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos (plantas inoculadas e tratadas com extrato a 5 e 10 %, plantas não inoculadas e tratadas com extrato a 5 e 10 %, planta inoculada (controle positivo) e planta não inoculada (controle negativo), ambos os controles tratados somente com água destilada) e 10 repetições. A parcela experimental foi constituída de um vaso com uma planta de tomateiro.

### **3.5 Efeito da incorporação de folhas frescas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita***

Mudas de tomateiro cv. Carolina com duas a três folhas verdadeiras foram transplantadas para vasos de plástico com capacidade de 1 L, contendo o mesmo substrato utilizado nos ensaios anteriores. Dois dias após o transplântio, foi realizada a inoculação de 5.000 ovos de *M. incognita*, mantendo essas plantas por um período de 60 dias. Decorrido esse período, as plantas de tomate foram retiradas e realizada a extração de nematoides das raízes, de acordo com Coolen e D'Herde (1972). No dia seguinte, foram adicionados 5.000 ovos do nematoide a cada vaso, com intuito de aumentar ainda mais a população do patógeno no solo.

No dia posterior à adição de 5.000 ovos ao solo, folhas frescas de *C. procera* foram trituradas com faca e pesadas, obtendo-se as dosagens 50 e 100 g de folhas, sendo em seguida incorporadas ao solo infestado, contido em vasos com 01 kg de capacidade. Após a incorporação, os vasos foram mantidos em casa de vegetação ( $29 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ) por um período de 30 dias, com o solo na capacidade de campo. Trinta dias após a incorporação, uma muda de tomateiro cv. Carolina com duas a três folhas verdadeiras foi transplantada para cada vaso. As testemunhas foram representadas por tomateiros cultivados em solo infestado e tomateiros cultivados em solo não infestado, sendo que para ambas as testemunhas, não foram incorporadas ao solo o material vegetal (Figura 4 e 5). Quarenta e cinco dias após o transplântio das mudas foi realizada a avaliação da massa fresca da parte aérea (MFPA),

massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP), massa fresca da raiz (MFR), número de galhas (NG), número de massas ovos (NMO) e número de ovos (NO), por planta de tomateiro, para cálculo do fator de reprodução (FR), da redução do fator de reprodução (RFR) e da redução do parasitismo (RP).

Neste ensaio, a metodologia empregada na extração de ovos das plantas infectadas foi a mesma descrita no ensaio anterior (item 3.4), no qual empregaram-se apenas peneiras.

**Figura 4** - Etapas da montagem do ensaio de incorporação de folhas de *Calotropis procera* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) folhas frescas trituradas de *C. procera*; (B) folhas incorporadas ao solo infestado; (C) solo após 30 dias da incorporação.



Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 5** – Tomateiros cv. Carolina transplantados para os vasos 30 dias após a incorporação de folhas frescas de *Calotropis procera*.



Fonte: elaborado pelo autor

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos (incorporação de 50 e 100 g de folhas de *C. procera* em solo infestado, incorporação de 50 e 100 g de folhas de *C. procera* em solo não infestado, planta em solo infestado sem incorporação (controle positivo) e planta em solo não infestado sem incorporação (controle negativo) e 10 repetições. A parcela experimental foi constituída de um vaso com uma planta de tomateiro.

### **3.6 Avaliação da população de machos em relação à população de fêmeas e da reprodução de *M. incognita* em tomateiro**

Nesse ensaio, mudas de tomateiro cv. Carolina com aproximadamente 30 dias e apresentando duas a três folhas verdadeiras foram transplantadas para vasos com capacidade de 1 L, contendo o mesmo substrato utilizado nos ensaios anteriores. As plantas foram inoculadas com uma suspensão de 5.000 ovos de *M. incognita*, obtidos pelo método de extração de Coolen e D'Herde (1972). Plantas inoculadas e não inoculadas (controle) permaneceram em casa de vegetação ( $29 \pm 4^\circ\text{C}$ ) por um período de 30, 60, 90 e 120 dias, contados a partir a data da inoculação dos tomateiros (Figura 6), ao término dos quais foram retiradas do solo para análise das variáveis.

**Figura 6** – Tomateiros cv. Carolina 60 dias após inoculação de *Meloidogyne incognita* raça 2.



Fonte: elaborado pelo autor

Decorridos esses intervalos, as plantas de tomateiro foram retiradas dos vasos para avaliação de massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR), de cada planta. As raízes foram imersas em água para remoção do solo aderido e, com isso, possibilitar melhor observação para contagem do

número de galhas (NG). Foi realizada também a contagem do número de machos (NM), número de fêmeas (NF), número de massas ovos (NMO) e número de ovos (NO) de cada planta de cada tratamento.

Para contagem do NF, NM e NO foi realizada a extração de nematoides das raízes utilizando-se o método de Coolen e D'Herde (1972). Em seguida, procedeu-se a contagem de todos machos e fêmeas presentes em três alíquotas de 500  $\mu$ L da suspensão, obtendo-se uma média do NF e do NM. Já para a obtenção da média do NO, procedeu-se a contagem do NO presentes em três alíquotas de 50  $\mu$ L da mesma suspensão. Todas as contagens foram realizadas em câmara de Peters sob microscópio esteresocópio.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 x 4, resultantes da combinação inoculação (plantas inoculadas e não inoculadas) e tempo de avaliação após a inoculação (30, 60, 90 e 120 dias), obtendo-se, assim, oito tratamentos com sete repetições. A parcela experimental consistiu em um vaso com uma planta de tomateiro.

### **Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de média de Tukey a 5 % de probabilidade. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.7. (SILVA, 2017).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação da suscetibilidade de *C. procera* a *M. incognita*

O sistema radicular de plantas de *C. procera* observado 60 dias após a inoculação com *M. incognita* raça 2, apresentou galhas que mediam de 0,3 a 0,5 mm (Figura 7).

**Figura 7** – Reação de *Calotropis procera* a *Meloidogyne incognita* raça 2, aos 60 dias após inoculação.



Fonte: elaborado pelo autor

O NG obtido em raízes de *C. procera* variou de 28 a 124 galhas/raiz, gerando, assim, um IG de 3,8, conforme escala de Taylor e Sasser (1978). Considerando a contagem das massas de ovos em cada planta, constatou-se uma variação de 13 a 27 massas de ovos/raiz. O IMO obtido foi de 3,0, segundo escala de Taylor e Sasser (1978), sendo a planta classificada como muito resistente (MR), de acordo com os critérios de Hadisoeganda e Sasser (1982). Para o FR, o valor médio observado para as raízes infectadas foi de 0,52, sendo, segundo Moura (1997), considerada resistente visto que  $FR < 1,0$ .

As raízes de tomateiro cv. Carolina, que foram utilizadas como controle positivo, apresentaram médias do NG de 326/raiz e NMO de 68 /raiz, comprovando a qualidade do inóculo utilizado, uma vez que esta espécie é conhecida como suscetível a *M. incognita*.

Resultado semelhante ao obtido neste ensaio foi constatado por Santos (2015), que ao estudar a hospedabilidade de dez espécies de plantas a *M. enterolobii*, dentre estas *C. procera*, verificou um NG médio de 79,2 galhas/raiz, NMO de 33,7 obtendo um IMO de 3,4, classificando seu comportamento como moderadamente resistente (MOR), e FR de 0,3, sendo, portanto, considerada resistente.

#### 4.2 Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*

Com base nos resultados obtidos ao término do ensaio (15º dia), foi observado um efeito nocivo do extrato aquoso de *C. procera*, tanto a 5 quanto a 10 %, sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*. O extrato a 10 % foi o que provocou o menor percentual de eclosão de J2, apresentando somente 13,2 % de eclosão, com média de 6,6 J2 eclodidos/placa, diferindo significativamente em relação ao controle (água) na qual a eclosão dos J2 alcançou 95,4 % (Tabela 3 e Figura 8).

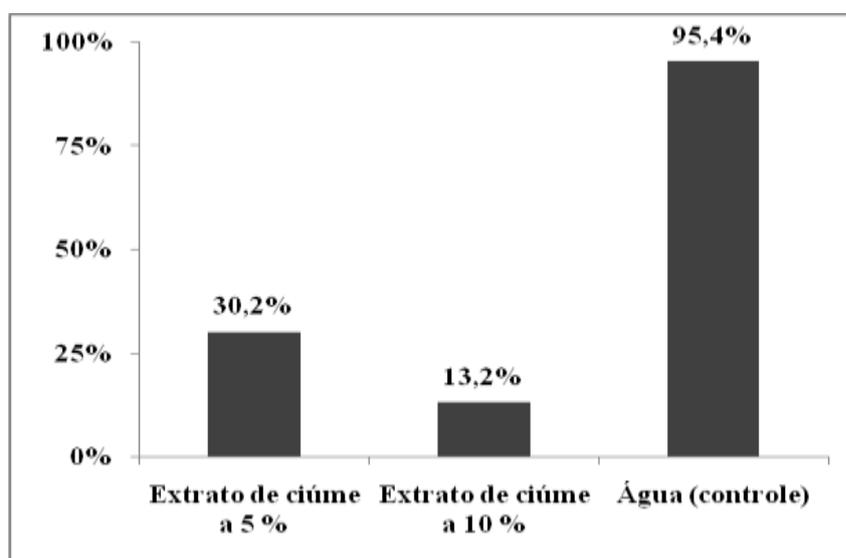
**Tabela 3** – Valores médios e percentual de eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* submetidos ao extrato aquoso de *Calotropis procera* a 5 e 10 % durante 15 dias.

Tratamentos	J2 Eclodidos
Extrato de ciúme a 5 %	15,1 b
Extrato de ciúme a 10 %	6,6 c
Água (controle)	47,7 a
<b>CV (%)</b>	<b>18,81</b>

Média de dez repetições com 50 ovos/placa.

Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 8** – Percentual de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* submetidos ao extrato aquoso de *Calotropis procera* a 5 e 10 % durante 15 dias.



Fonte: elaborado pelo autor

O extrato de *C. procera* a 5 % também inibiu de eclosão de J2 de *M. incognita*, entretanto, este diferiu estatisticamente do tratamento a 10 %, apresentando uma média de eclosão de 15,1 J2 eclodidos/placa e percentual de eclosão de 30,2 %. Este tratamento também diferiu significativamente do controle (água), que obteve média de 47,7 J2 eclodidos/placa (Tabela 3 e Figura 8).

Cavalcante *et al.* (2016) ao avaliar o efeito *in vitro* do extrato de acetato de etila do látex de *C. procera* sobre a eclosão de larvas do nematoide gastrointestinal *Haemonchus contortus*, obteve um percentual de inibição da eclosão de 91,8 %, com a concentração de 4 mg/ml.

Resultados próximos ao obtido neste trabalho com o extrato aquoso de *C. procera* a 10 % foram observados por Morillo e Silva (2015) que verificaram que o extrato aquoso de sementes de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) a 1, 2, 4 e 8 % (p/v) sobre a eclosão de J2 *M. enterolobii*, apresentou percentuais de eclosão inferiores a 10 % para as diferentes concentrações testadas.

Moreira *et al.* (2009) ao avaliar o efeito dos óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), capim santo (*Cymbopogon citratus* D. C. Strapf.), cidreira (*Lippia alba* Mill) e eucalipto (*Eucalyptus terenticornis* Sm.) sobre a eclosão e mortalidade de J2, verificou que os óleos de alecrim pimenta e capim citronela nas concentrações de 0,625, 1,25, 2,5, 5,0 e 10,0 (mL/L) foram os mais eficientes, inibindo 100 % da eclosão de J2 de *M. incognita* raça 2.

Adegbite (2011) verificou o efeito inibidor de extratos foliares de 13 espécies vegetais sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita* raça 2, sendo os extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss), erva-do-sião (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob) e tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) os que apresentaram melhores resultados com percentuais de inibição da eclosão de J2 de 93,30 %, 91,50 % e 90,50 %, respectivamente.

Ferreira *et al.* (2013a) avaliando a atividade nematicida dos extratos aquosos a 10% (p/v) de vedélia (*Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski), erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.), cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L.), girassol mexicano (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray), botão de ouro (*Unxia suffruticosa* (Baker) Stuessy) e zínia (*Zinnia peruviana* (L.) L.) sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*, observaram percentuais de redução da eclosão variando de 89,96 a 97,48 %, quando comparados a testemunha, sendo o extrato de zínia o que obteve o melhor resultado na inibição da eclosão dos juvenis.

Ao avaliar o efeito *in vitro* do extrato aquoso de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*, Mazzonetto *et al.* (2015) obtiveram um percentual de eclosão de 55 % e 29 %, para o extrato nas concentrações de 5 e 10 %, respectivamente. Somente quando os extratos estavam nas concentrações 15, 20, 25 e 30 % é que inibiram 100 % da eclosão dos J2.

Amaral *et al.* (2002) avaliaram o efeito dos extratos aquosos e metanólicos a 4% de 12 espécies vegetais: guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill.), crotalária (*Crotalaria juncea* L.), figueira (*Ficus elastica* Roxb.), arruda (*Ruta graveolens* L.), estilosantes (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw.), leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) Dewit.), romã (*Punica granatum* L.), cebola (*Allium cepa* L.), alho (*Allium sativum* L.), braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.), vinca (*Catharantus roseus* G. Don.) e cravo-de-defunto (*Tagetes minuta* L.) sobre a eclosão de juvenis de *M. exigua* e observaram que todos os extratos apresentaram efeito tóxico sobre o nematoide, porém, os melhores resultados foram obtidos para arruda e cebola, com percentuais de eclosão de J2 de apenas 2 e 3 % para os extratos aquosos, e com percentuais de eclosão de 4 e 1 %, para os extratos metanólicos, respectivamente.

Em ensaio *in vitro* realizado por Bharadwaj e Sharma (2007), foram avaliados extratos aquosos de folhas de nim (*Azadirachta indica* A. Juss), de mamão (*Carica papaya* L.), de manjerição santo (*Ocimum sanctum* Linn.), de mamona (*Ricinus communis* L.) e de flores e folhas de cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L.) sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*. Foi observado elevado percentual de inibição da eclosão, após 48 h, em todos os extratos testados, com valores inferiores a 1 %, sendo zero para o extrato das folhas de manjerição santo.

Neves *et al.* (2005) constataram a redução em 95,3 e 99,3 % da eclosão de juvenis de *M. javanica* e *M. incognita*, respectivamente, em teste *in vitro* utilizando o extrato aquoso de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) a 10 %.

Em outro estudo realizado por Neves *et al.* (2010), foram avaliados os efeitos dos extratos aquosos a 10 % de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.) e maria-mole (*Senecio brasiliensis* (Spreng.) Less.) sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica* e *M. incognita*. O extrato de samambaia provocou a maior redução da eclosão de *M. incognita* e *M. javanica*, de 90,4 e 80,7 %, respectivamente, quando comparados à testemunha. Os demais extratos não diferiram da testemunha.

As plantas, comumente, produzem diversos tipos de compostos orgânicos os quais não possuem uma função direta no seu crescimento ou desenvolvimento. Tais compostos,

denominados metabólitos secundários, são sintetizados pelas plantas e podem atuar na proteção contra microrganismos, entre eles os fitonematoides (TAIZ; ZEIGHER, 2004; FERRAZ *et al.*, 2012).

Plantas medicinais e aromáticas são bastante estudadas no controle de fitonematoides por produzirem uma série de substâncias com propriedades nematicidas. Algumas destas substâncias já foram isoladas de espécies vegetais como *Azadirachta indica* A. Juss (azadiractina, nimbidina e tionemone), *Crotalaria spectabilis* (monocrotalina), *Mucuna aterrima* Piper & Tracy (ácidos graxos, alantoina), *Ocimum basilicum* L. (linalol, metilcavicol), *Tagetes* spp (politiofenos, alfatertienil), entre outras (CHITWOOD, 2002; FERRAZ *et al.*, 2012).

Altos conteúdos de compostos ativos já foram constatados em folhas de *C. procera*, tais como glicosídeos cardíacos, alcaloides, terpenos, resinas, lípidos, flavonoides, taninos, esteroides e saponinas (MOHAMED *et al.*, 2015; MOSSA *et al.*, 1991; MOUSTAFA *et al.*, 2010), sendo comprovado em estudos realizados por Santos (2015) e Cavalcante *et al.* (2016), que o uso de extratos aquosos desta espécie possui efeito nematicida sobre os nematoides do gênero *Meloidogyne* e do nematoide gastrointestinal *Haemonchus contortus*.

Resultados positivos obtidos por diversos autores ao testarem o efeito de diversos extratos vegetais sobre fitonematoides devem servir como base para realização de estudos subsequentes, visando determinar a melhor forma de aplicação desses extratos *in vivo*, só assim estes resultados poderão ser adotados em um programa de manejo e transmitidos aos produtores agrícolas, contribuindo para uma agricultura sustentável e minimizando os efeitos nocivos aos agroecossistemas ocasionados pelo homem.

#### **4.3 Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. procera* sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita***

Os resultados apresentados na Tabela 4 indicam que houve interação significativa entre os fatores, indicando que a diluição do extrato aquoso de *C. procera* e o tempo de permanência dos juvenis de segundo estágio (J2) nos extratos exercem influência entre si.

Os J2 após permanecerem 24 e 48 h em extratos aquosos de *C. procera* na diluição de 10 % apresentaram as maiores médias de J2 imovéis, que foram de 46,10 e 43,90 J2 imovéis/placa, correspondendo a um percentual de 92,2 e 87,8 %, respectivamente (Tabela 4, Figura 9). No extrato a 5%, a média de J2 imóveis foi mais elevada no tempo de 48 h

(44,30 J2 imóveis/placa) obtendo-se 88,6% de imobilidade de J2 (Tabela 4 e Figura 9). Estes resultados indicaram que estas interações foram as que apresentaram os melhores resultados.

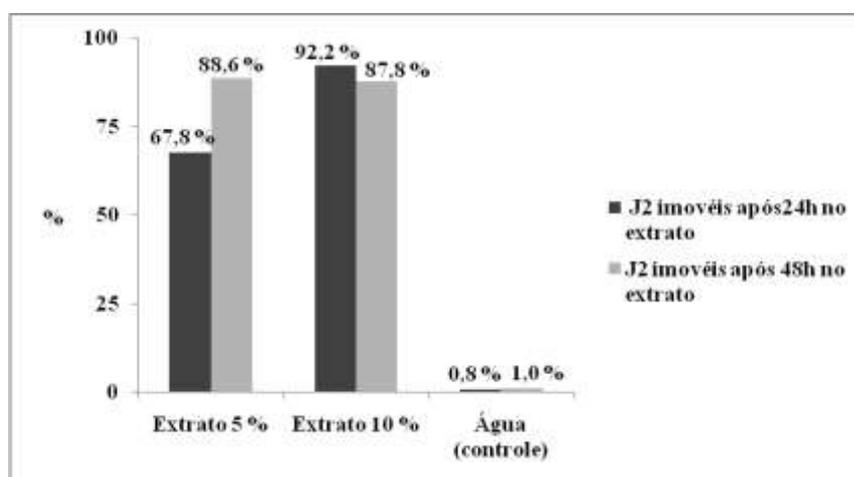
**Tabela 4** - Número de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* imóveis contados após 24 e 48 horas no extrato aquoso de *Calotropis procera*.

Diluições	Tempo de permanência no extrato	
	24 h	48 h
	J2 imóveis após 24h no extrato	J2 imóveis após 48h no extrato
Extrato a 5 %	33,90* b B	44,30 a A
Extrato a 10 %	46,10 a A	43,90 a A
Água (controle)	0,40 c A	0,50 b A
<b>CV %</b>	<b>8,93</b>	

Média de dez repetições com 50 juvenis/placa. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 9** - Percentual de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* imóveis após 24 e 48 horas no extrato aquoso de *Calotropis procera* a 5 e 10 %.



Fonte: elaborado pelo autor

As médias de J2 imóveis do tratamento controle (água) diferiram significativamente dos demais tratamentos, e suas médias para 24 e 48 h de permanência na água foram de 0,40 e 0,50 J2 imóveis/placa correspondendo a percentuais de J2 imóveis de 0,8 e 1,0 %, respectivamente (Tabela 4 e Figura 9).

Resultados apresentados por diversos autores comprovam que é imprescindível a passagem dos juvenis na água após permanência no extrato, uma vez que dependendo das espécies vegetais empregada no preparo do extrato, estas podem apresentar substâncias com

efeito nematostático. Essa condição pode ser revertida, ou seja, o efeito sobre a mobilidade dos juvenis não implica que tenham efeito nematicida (DIAS *et al.*, 2000; COIMBRA *et al.*, 2006).

Após os J2 serem transferidos para água, observou-se que as maiores médias de mortalidade ocorreram nos tratamentos com os extratos de *C. procera* a 5 % por 48 h e a 10 % por 24 h, com 43,1 (86,2%) e 46,1 (92,2%) J2 mortos/placa, respectivamente, confirmando que os extratos exerceram um efeito nematicida sobre os J2 e que houve interação significativa entre os fatores (Tabela 5 e Figura 10).

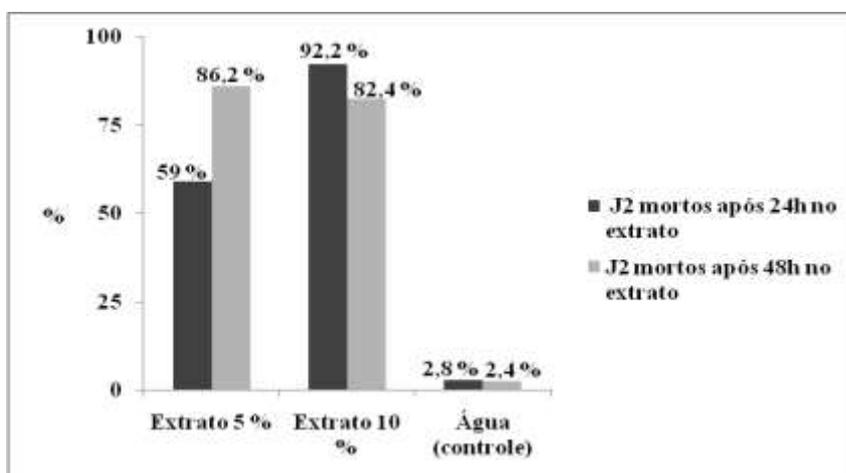
**Tabela 5** - Número de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* mortos, contados depois de transferidos dos extratos aquosos de *Calotropis procera* para água, permanecendo por 24 horas em água para recuperação.

Diluições	Tempo de permanência de J2 no extrato	
	24 h	48 h
	J2 mortos após 24h na água	J2 mortos após 24h na água
Extrato a 5 %	29,50 b B	43,10 a A
Extrato a 10 %	46,10 a A	41,20 a B
Água (controle)	1,40 c A	1,20 b A
CV %	11,14	

Média de dez repetições com 50 juvenis/placa. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 10** - Percentual de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* provenientes dos extratos aquosos de *Calotropis procera* a 5 e 10 % após passagem na água para recuperação.



Fonte: elaborado pelo autor

No tratamento controle (J2 na água), as médias de mortalidade foram de 1,40 (24h) e 1,20 (48h) J2 mortos/placa, correspondendo a 2,8 e 2,4%, respectivamente (Tabela 5).

Coimbra *et al.* (2006) ao avaliar o efeito dos extratos aquosos de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), folhas e sementes de mamão (*Carica papaya* L.), folhas de hortelã (*Mentha piperita* L.) e casca de gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) sobre a mortalidade de juvenis e adultos de *Scutellonema bradys*, observaram que todos os extratos testados apresentaram altos percentuais de imobilidade dos juvenis após 24 h de exposição no extrato, que variaram de 94 a 100 %. Entretanto, o mesmo não foi observado em relação ao percentual de mortalidade, pois houve a recuperação da mobilidade dos juvenis após passarem 24 h na água, obtendo um percentual variando de 33,5 a 67, 2 %. O extrato de sementes de mamão foi o que provocou o maior número de mortes dos juvenis de adultos de *S. bradys*.

Rocha *et al.* (2006) avaliando o efeito nematocida de extratos aquosos de sementes branca, vermelha e preta de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), sementes de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.), sementes de pau-mocó (*Luetzelburgea auriculata* (Alemão) Ducke) e sementes de feijão (*Phaseolus* spp) sobre J2 de *M. incognita*, observou-se um percentual de mortalidade de 100 % no tratamento com extrato de sementes de pau-mocó seguido por semente branca de feijão-fava com 68,5 %, após 24h no extrato.

Santos (2015) constatou o efeito nematocida *in vitro* do extrato aquoso a 10 e 5 % de folhas ciúme (*Calotropis procera* (Ait.) R. Br), timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong), estramônio (*Datura stramonium* L.) e metel (*D. metel* L.) sobre J2 de *M. enterolobii*, provocando 100 % de mortalidade dos J2 após 48 h nos extratos, para todas as espécies testadas.

Em estudos realizados por Martins e Santos (2016), testando o efeito de extratos vegetais de agrião-do-brejo (*Eclipta alba* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum* L.), artemísia (*Artemisia vulgaris* L.), capim citronela (*Cymbopogon winteranus* Jowitt), chambá (*Justicia pectoralis* var. *stenphylla* Leonard), confrei (*Symphytum officinale* L.), hortelã (*Mentha x vilosa* Huds), lombrigueira (*Spigelia anthelmia* L.), mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) e menta (*Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Holme), obtidos por maceração, foi observado que os extratos de lombrigueira, agrião-do-brejo e mastruz ocasionaram 100 % de mortalidade dos J2 de *M. incognita* raça 2, após passagem por 48 h nos extratos.

Freire (2016) obteve resultados semelhantes ao deste ensaio em relação ao percentual de mortalidade, ao avaliar a eficácia dos extratos aquosos foliares a 10 % de

zabumba (*Datura stramonium* L.), louco (*Plumbago scandens* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.), nos quais os juvenis, após 48h imersos nos extratos, apresentaram um percentual de mortalidade de 86,0, 84,6 e 86,4 %, respectivamente.

Em relação ao tempo de armazenamento das folhas utilizadas no preparo dos extratos aquosos de *C. procera* a 10 %, observou-se que no tratamento utilizando folhas armazenadas por 1 DAS, a média de J2 imóveis após 24 h no extrato e J2 mortos após 24 h na água foi a mesma, 46, 83/placa (92,7 %) (Tabela 6). Quando o extrato foi obtido de folhas de *C. procera* armazenadas a 62 DAS, observou-se que o percentual de J2 imóveis foi de 90,7 % com média de 45,33/placa, após 24 h no extrato. Porém, após passagem pela água, o percentual de mortalidade de J2 foi de apenas 11 % com média de 5,50 de juvenis mortos/placa (Tabela 6 e Figura 11).

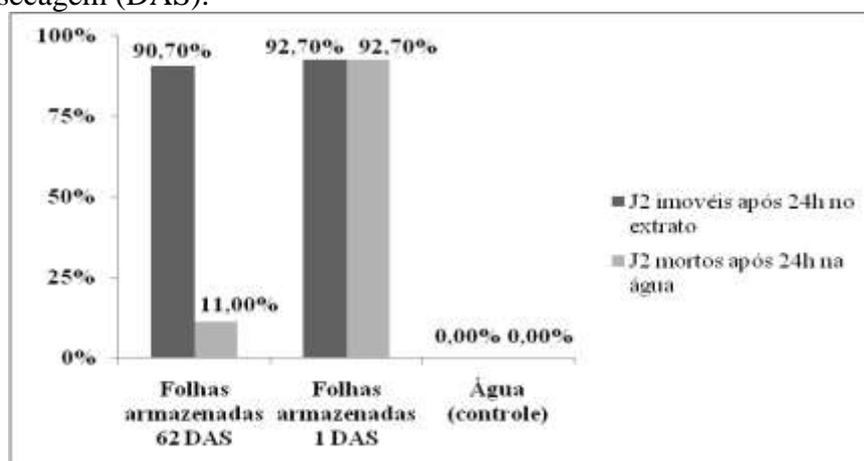
**Tabela 6**– Número de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* imóveis após 24 horas no extrato aquoso de *Calotropis procera* a 10 %, e de juvenis mortos após 24 horas em água para recuperação, preparados a partir de folhas armazenadas durante 62 dias e 1 dia após a secagem (DAS).

Tratamentos	J2 imóveis após 24h no extrato	J2 mortos após 24h na água
Folhas armazenadas 62 DAS*	45,33 a	5,50 b
Folhas armazenadas 1 DAS	46,83 a	46,83 a
Água (controle)	0,00 b	0,00 c
CV (%)	6,84	8,15

Média de 10 repetições com 50 juvenis/placa. \*DAS=dias após a secagem.

Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 11** – Percentual de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* imóveis após 24 horas no extrato aquoso de *Calotropis procera* a 10 %, e de juvenis mortos após 24 horas em água para recuperação, preparados a partir de folhas armazenadas durante 62 dias e 1 dia após a secagem (DAS).



Fonte: elaborado pelo autor

Estes resultados indicam que extratos preparados a partir de folhas de *C. procera* armazenadas por um longo período têm o seu efeito nematicida reduzido, mantendo o efeito nematostático. Portanto, o uso de folhas secas de *C. procera* armazenadas por longo período, não é recomendado para preparo de extratos aquosos a serem utilizados no controle de *M. incognita*, pois não provoca mortalidade em níveis desejados. Considerou-se, assim, que avaliar o tempo de armazenamento de folhas empregadas em extratos naturais é fundamental para se obter uma maior eficiência da ação dos extratos sobre os fitonematoides.

Os metabolitos presentes em folhas secas podem sofrer alterações ao serem armazenados. Assim importância deve ser dada a vários fatores relacionados à planta da qual se obterá os extratos a serem utilizados no controle de fitonematoides. Dentre os principais fatores que influenciam a dinâmica dos metabólitos estão os ciclos sazonais, circadianos e fenológicos, altitude, longitude, disponibilidade hídrica e de nutrientes, temperatura, nível de radiação, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos, herbívora e ataque por patógenos, entre outros. A idade e o desenvolvimento da planta, bem como dos diferentes órgãos vegetais, também são de considerável importância e podem influenciar a quantidade total de metabólitos produzidos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007),

Dias *et al.* (2000) avaliaram após 24 h, o efeito dos extratos aquosos de 15 espécies de plantas medicinais sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita*. Os autores realizaram dois ensaios em períodos diferentes e com o material vegetal coletado em duas épocas distintas. Verificou-se que houve diferença entre o percentual de juvenis inativos e mortos, entre os dois ensaios realizados. O extrato de melão São Caetano (*Momordica charantia* L.) foi o que apresentou maior diferença entre os resultados nos dois ensaios, havendo 100% de morte de juvenis no primeiro ensaio e de apenas 17 % de mortalidade no segundo, realizado após um intervalo de 60 dias. Isso indica que resultados diferentes podem ser obtidos dependendo da época da coleta de material vegetal a ser usado na produção de extratos.

O conhecimento da composição química de extratos e óleos essenciais pode levar à síntese de moléculas dando origem a nematicidas naturais, em substituição aos nematicidas convencionais (SILVA, 2011). Neste sentido, o efeito comprovado *in vitro* sobre a mortalidade dos juvenis das espécies do gênero *Meloidogyne*, deve ter uma continuidade, a fim de se testar seus efeitos em áreas de plantio infestadas pelos nematoides das galhas, permitindo que, especialmente, o pequeno produtor possa controlar este fitopatógeno

utilizando recursos da própria propriedade, e conseqüentemente, irá reduzir seus custos de produção, ao deixar de adquirir nematicidas químicos.

#### 4.4 Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita*

As médias da massa fresca da parte aérea (MFPA) dos tomateiros cv. Carolina nos tratamentos em que foram aplicados os extratos de *C. procera* (5 e 10%), independente da inoculação, não diferiram entre si, apresentando valores variando de 25,9 g a 31,4 g. O mesmo foi verificado para a massa seca (MSPA) com valores que ficaram entre 3,9 g a 4,6 g. Essas duas variáveis analisadas não diferiram do controle negativo (planta não inoculada e sem extrato) que foram de 27,5 g e 3,9 g para MFPA e MSPA, respectivamente, porém diferiram do controle positivo (planta inoculada sem extrato) o qual apresentou as menores médias para massa fresca (13,2 g) e seca (1,9 g) da parte aérea (Tabela 7).

**Tabela 7** – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cv. Carolina cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e tratado com extrato aquoso de *Calotropis procera*.

Tratamentos	MFPA	MSPA	AP	MFR
Planta inoculada + extrato a 5 %	25,9 a	4,2 a	51,6 a	7,3 a
Planta inoculada + extrato a 10 %	28,4 a	4,5 a	49,4 ab	7,5 a
Planta não inoculada + extrato a 5 %	31,4 a	4,6 a	53,5 a	7,9 a
Planta não inoculada + extrato a 10 %	26,7 a	3,9 a	46,2 ab	7,6 a
Controle negativo (planta não inoculada s/ extrato)	27,5 a	3,9 a	40,8 b	4,8 b
Controle positivo (planta inoculada s/ extrato)	13,2 b	1,9 b	31,9 c	7,4 a
<b>CV (%)</b>	17,87	15,93	10,74	16,35

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Fonte: elaborado pelo autor

Para altura da planta (AP), em todos os tratamentos em que foram aplicados os extratos de *C. procera* (5 e 10%) e o controle negativo, as plantas apresentaram médias de altura (40,8 a 53,5 cm) significativamente superiores à das plantas do controle positivo (31,9

cm) (Tabela 7). Constatou-se ainda que o crescimento das plantas foi mais acentuado nos tratamentos em que foi aplicado ao solo os extratos a 5 e 10 % (Tabela 7 e Figura 12).

Ressalta-se que os extratos de *C. procera* a 5 e a 10 % não provocaram fitotoxidez nos tomateiros cv. Carolina, uma vez que nem o crescimento das plantas e nem a coloração das folhas foram afetados.

**Figura 12** – Plantas de tomateiro cv. Carolina 45 dias após o transplantio, avaliadas quanto à eficiência da aplicação do extrato aquoso de *Calotropis procera* em solo infestado.



TRAT 1 = Planta inoculada + extrato a 5 %; TRAT 2 = Planta inoculada + extrato a 10 %; TRAT 3= Controle negativo (planta não inoculada s/ extrato); TRAT 4 = Planta não inoculada + extrato a 5 %; TRAT 5 = Planta não inoculada + extrato a 10 %; TRAT 6= Controle positivo (planta inoculada s/ extrato).

Fonte: elaborado pelo autor

Resultados semelhantes ao deste ensaio para MFPA foram obtidos por Ferreira *et al.* (2013a) por meio da aplicação no solo de extratos foliares de seis espécies vegetais da família Asteraceae: botão de ouro (*Unxia suffruticosa* (Baker) Stuessy), cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L.), erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.), girassol mexicano (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray), vedélia (*Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski) e zínia (*Zinnia peruviana* (L.) L.) visando o controle de *M. incognita* em tomateiro cv. Santa Cruz Kada Gigante, cujas médias de MFPA de todos os tratamentos não diferiram significativamente em relação ao controle negativo.

Em trabalho realizado por Mateus *et al.* (2014), os autores constataram maior altura das plantas de tomateiro cv. Santa Clara nos tratamentos em que foram aplicados extratos aquosos de gervão (*Verbena officinalis* L.), mulungu (*Erythrina mulungu* Mart. ex Benth.), pau-amargo (*Quassia amara* L.) e tansagem (*Plantago lanceolata* L.) para o controle

de *M. incognita*, em relação à testemunha do ensaio, não se observando o mesmo para extrato de picão-preto (*Bidens pilosa* L.).

Gardiano *et al.* (2009) ao testarem a eficiência do extratos aquosos de 20 espécies vegetais de 14 famílias botânicas no controle de *M. javanica* em plantas de tomateiro, aplicados no solo, verificaram que 17 dos extratos testados promoveram um aumento da altura das plantas quando comparados à testemunha.

Para a variável massa fresca da raiz (MFR), os tratamentos com aplicação de extrato de *C. procerca* a 5 e 10 % e o controle positivo não diferiram entre si, entretanto todos estes diferiram do controle negativo, que apresentou a menor média de MFR (4,8 g). O tratamento planta não inoculada e com aplicação de extrato a 5 %, foi o que obteve a maior média de peso fresco da raiz (7,9 g) ainda que não tenha diferença estatística em relação aos demais (Tabela 7).

Morillo e Silva (2015) observaram que não houve diferença estatística entre as médias de MFR de plantas de tomateiro cv. Santa Cruz Kada Gigante em que foi aplicado extrato aquoso de sementes de feijão-de-porco (*C. ensiformes*) em solo infestado com *M. enterolobii* quando comparada com plantas da testemunha (planta inoculada sem aplicação do extrato), resultados semelhantes aos obtidos nesse ensaio.

Da mesma forma, Franzener *et al.* (2007) avaliando o efeito protetor do extrato aquoso obtido, isoladamente, de folhas, flores e raízes de *Tagetes patula* L. em tomateiro cv. Santa Cruz Kada em relação à infecção por *M. incognita*, observaram que o MFR dos tratamentos em que houve aplicação via solo dos extratos aquosos de folhas e de raízes de *T. patula*, não diferiu estatisticamente da testemunha (planta inoculada sem aplicação de extrato).

Neste trabalho, observou-se que as médias de AP e o MFR das plantas na presença do extrato de *C. procerca* a 5% foram sempre superiores àquelas observadas nas plantas de controle negativo, sugerindo que nessa concentração de extrato teria ocorrido alguma absorção de substâncias estimuladoras do crescimento ora presente nas folhas do ciúme (Tabela 7).

A aplicação do extrato aquoso de *C. procerca* a 5 e 10%, reduziu o número de galhas (NG), o número de massas de ovos (NMO), o número de ovos (NO) e o fator de reprodução (FR), em relação à testemunha (controle positivo), indicando a eficiência da aplicação desse extrato vegetal no controle de *M. incognita* na forma de rega do solo (Tabela 8).

As médias do NG, para ambas as diluições testadas do extrato (5 e 10 %) no controle de *M. incognita* em tomateiro, não diferiram entre si, mas diferiram significativamente do controle positivo. As médias do NG dos tratamentos com os extratos a 5 e 10 % foram 259,7 e 126,4 galhas/raiz, respectivamente, representando uma redução de 62,5 e 81,7 %, respectivamente. O controle positivo apresentou uma média de NG de 692,7 galhas/raiz (Tabela 8 e Figura 13). Esse resultado indica que a aplicação do extrato ao solo foi eficiente no controle do patógeno.

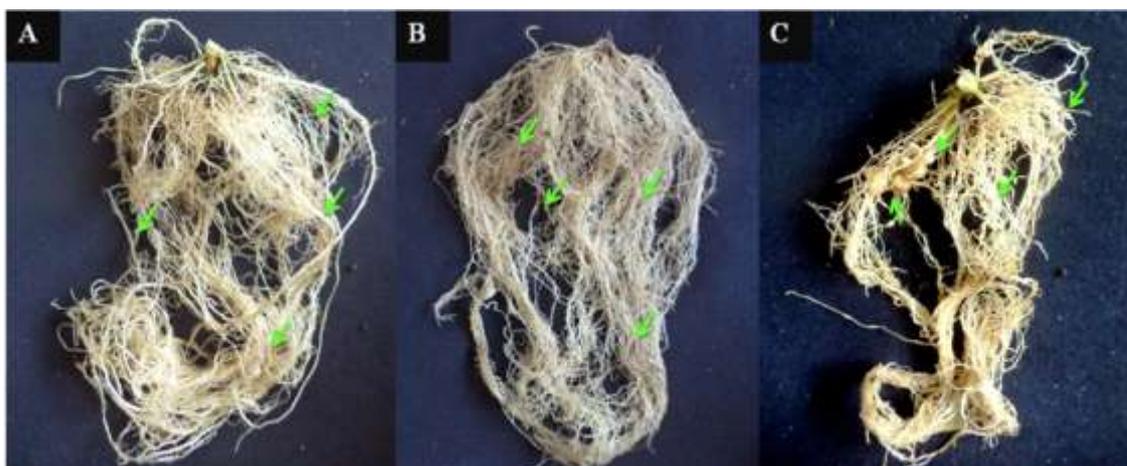
**Tabela 8** – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR), redução do fator de reprodução (RFR %) e redução do parasitismo (RP %) de plantas de tomateiro cv. Carolina cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e tratado com extrato aquoso de *Calotropis procera*.

Tratamentos	NG	NMO	NO	FR	RFR %	RP %
Planta inoculada + extrato a 5 %	259,7a (62,5 %)	29,2a	1483,3a	0,29a	80,4	80,05
Planta inoculada + extrato a 10 %	126,4a (81,7 %)	12,6a	1624,4a	0,33a	77,7	78,14
Controle positivo (Planta inoculada s/ extrato)	692,7 b (0,0 %)	105,7b	7433,2b	1,48b	-	-
<b>CV (%)</b>	32,47	42,44	41,61	41,68		

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 13** – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Carolina após aplicação de extrato aquoso de *Calotropis procera* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) extrato a 5 %, (B) extrato a 10 % e (C) controle positivo (água).



Fonte: elaborado pelo autor

Mateus *et al.* (2014) ao aplicar extratos de gervão (*Verbena officinalis* L.), mulungu (*Erythrina mulungu* Mart. ex Benth.), pau-amargo (*Quassia amara* L.), picão (*Bidens pilosa* L.) e tansagem (*Plantago lanceolata* L.) em solo infestado por *M. incognita*, observaram que houve uma redução do NG de galhas quando comparados à testemunha (água), com um percentual de redução variando de 30,0 a 44,4 %, sendo que o extrato de gervão foi o que apresentou o melhor resultado.

Em ensaio realizado por Silva *et al.* (2011), extratos vegetais a 10 % obtidos da casca e de folha de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* Vell.), gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium* Schott.), jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) foram avaliados em relação ao efeito sobre o parasitismo do nematoide *M. incognita* raça 3 no algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) cv Delta Opal. Os extratos obtidos da folha de tamboril e da casca de jatobá foram os mais eficientes na redução do NG, com percentuais de 65 e 97 %, respectivamente, quando comparados à testemunha (planta inoculada e sem extrato).

Natarajan *et al.* (2006) verificaram que houve redução do NG em plantas de tomateiros cv. PKM-1, que foram tratadas com extrato aquoso de plantas inteiras de *Tagetes erecta* L., com 40 e 70 dias de idade aplicados ao solo para o controle de *M. incognita*, obtendo resultado semelhante ao nematicida carbofuran, utilizado como controle.

Em relação ao NMO, constatou-se que os tratamentos com aplicação dos extratos de *C. procer*a a 5 e 10 % não diferiram estatisticamente entre si, apresentando médias de NMO de 29,2 e 12,6 massas de ovos/raiz, respectivamente. A média de NMO do controle positivo foi de 105,7 massas de ovos/raiz, diferindo significativamente dos tratamentos com extratos (Tabela 8).

Ao aplicar o extrato aquoso a 10 % de agrião-do-brejo (*Eclipta alba* L. Hassk), alfavaca (*Ocimum basilicum* L.), artemísia (*Artemisia vulgaris* L.), chambá (*Justicia pectoralis* var. *stenophylla* Leonard), confrei (*Symphytum officinale* L.), lombrigueira (*Spigelia anthelmia* L.), e mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) para controle de *M. incognita* em tomateiro cv. Santa Clara, Martins (2009) obteve redução do NG variando de 61,5 a 97 %, e percentual de redução de NMO variando de 61,2 a 98,3 %. O extrato de mastruz foi o que apresentou o melhor resultado na redução de galhas e de massas de ovos de *M. incognita* em raízes de tomateiro.

Para a variável NO, observou-se que não houve diferença entre os tratamentos com aplicação dos extratos a 5 e 10 % com médias de NO 1483,3 e de 1624,4 ovos/raiz,

respectivamente. Já o controle positivo diferiu significativamente desses tratamentos, apresentando uma média de NO de 7433,2 ovos/raiz (Tabela 8).

Segundo ensaio realizado por Franzener *et al.* (2007), onde os autores avaliaram o efeito protetor do extrato aquoso de folhas, flores, e raízes de *T. patula* em tomateiro cv. Santa Cruz Kada a *M. incognita*, verificou-se que o extrato puro de flores de *T. patula* quando aplicados ao solo promoveu a redução do NG em 62,2 % e do NO em 52,8 %, em relação à testemunha (tomateiro inoculado sem aplicação de extrato).

Considerando o FR, os tratamentos com os extratos promoveram a redução desta variável, quando comparados ao controle positivo (Tabela 8). Não houve diferença significativa entre os extratos a 5 e a 10 % de *C. procera* quando aplicados ao solo para controle de *M. incognita* em tomateiro, ambos menores que 1, sendo que o FR obtido no tratamento com extrato a 5 % foi de 0,29, e no extrato a 10 % foi de 0,33. O FR da testemunha foi de 1,48, a qual diferiu significativamente dos dois tratamentos.

Para a variável RFR, o tratamento com extrato a 5 % apresentou um percentual de 80,4 %, enquanto que o tratamento utilizando o extrato aquoso de *C. procera* a 10 % o RFR foi de 77,7 %. Portanto os dois extratos provocaram reduções próximas na reprodução do patógeno (Tabela 8).

O percentual médio de redução do parasitismo (RP) obtido no ensaio com os extratos foi de 80,05 % para o tratamento utilizando extrato de *C. procera* a 5 %, e de 78,14 % para o extrato na diluição de 10 %, sendo que o cálculo desta variável foi realizado com base na média do NO dos tratamentos e do controle positivo (Tabela 8).

Freire (2016) observou resultado próximo ao encontrado neste trabalho em relação ao RP, ao aplicar no solo extrato aquoso de mamona visando o controle de *M. enterolobii*, obtendo RP de 83,77 %.

Olabiya (2008) verificou que a aplicação via solo de extratos aquosos obtidos a partir de raízes de cravo-de-defunto (*Tagetes erecta* L.), betônia (*Hypis suaveolens* (Poit)) e manjerição (*Ocimum gratissimum* L.) provocou a redução do fator de reprodução de *M. incognita* parasitando raízes de tomateiro cv. DT 69/257.

Extratos botânicos apresentam algumas vantagens sobre pesticidas sintéticos, tais como: oferecem novos compostos que as pragas ainda não podem inativar, são de rápida biodegradação, podem possuir múltiplos modos de ação e são derivados de recursos renováveis (QUARLES, 1992).

Os resultados obtidos neste ensaio indicam que o uso de extrato aquoso de *C. procera* aplicado no solo pode ser considerado promissor, uma vez que reduz a infecção na planta, e também viável no controle de *M. incognita*, considerando o baixo custo e a facilidade do preparo do extrato aquoso.

Entretanto, mais pesquisas serão necessárias a fim de investigar os compostos ativos presentes nas folhas de *C. procera* com efeito nematicida, que poderão gerar produtos eficientes no controle de nematoide das galhas.

#### 4.5 Efeito da incorporação de folhas frescas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita*

Em geral, observou-se que os tratamentos que receberam a incorporação de folhas de *C. procera* (50 ou 100 g), juntamente com os controles negativo e positivo, apresentaram valores de massa fresca da parte aérea (MFPA) semelhantes entre si (Tabela 9). O tratamento solo infestado e incorporado com 100 g de folhas, porém, destacou-se dos demais com a maior média de MFPA (37,3 g), diferindo significativamente do controle positivo (planta em solo infestado s/ incorporação) com média de 27,6 g, fato não observado para os demais tratamentos (Tabela 9).

**Tabela 9** – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e incorporado com folhas frescas de *Calotropis procera*.

Tratamentos	MFPA	MSPA	AP	MFR
Solo infestado + 50g de folhas incorporadas	33,8 ab	3,4 a	59,5 ab	2,1 a
Solo infestado + 100g de folhas incorporadas	37,3 a	3,7 a	68,8 a	2,7 a
Solo não infestado + 50g de folhas incorporadas	33,3 ab	2,8 a	57,41 ab	2,6 a
Solo não infestado + 100g de folhas incorporadas	29,08 ab	3,1 a	57,0 ab	2,7 a
Controle negativo (planta em solo não infestado s/incorporação)	33,9 ab	3,3 a	56,7 ab	2,7 a
Controle positivo (planta em solo infestado s/ incorporação)	27,6 b	2,8 a	52,5 b	2,3 a
<b>CV (%)</b>	14,75	24,86	14,79	34,96

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Fonte: elaborado pelo autor

Ferreira *et al.* (2013b) ao avaliar o efeito da incorporação ao solo de parte aérea, seca a sombra, de 10 espécies vegetais da família Asteraceae sobre o crescimento de tomateiro cv. Santa Cruz Kada Gigante em casa de vegetação, verificou o aumento da MFPA das plantas, pois todos os tratamentos diferiram estatisticamente do obtido no controle (solo sem incorporação).

Com relação às médias de massa seca da parte aérea (MSPA) de todos os tratamentos e controles, constatou-se que os valores (2,8 a 3,7 g) foram estatisticamente semelhantes ao nível de 5 % de probabilidade (Tabela 9).

Para altura da planta (AP), as médias se comportaram de maneira semelhante às médias de MFPA, onde o tratamento solo infestado com 100g de folhas de *C. procera* incorporado ao solo foi o que apresentou a maior média de AP com 68,8 cm, diferindo significativamente do controle positivo com altura média de 52,5 cm (planta em solo infestado s/ incorporação). Os demais tratamentos não diferiram significativamente de nenhum destes dois casos (Tabela 9 e Figura 14).

**Figura 14** – Plantas de tomateiro cv. Carolina 45 dias após o transplantio, avaliadas quanto à eficiência da incorporação de folhas frescas de *Calotropis procera* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*.



TRAT 1 = Solo infestado + 50g de folhas de *C. procera* incorporadas; TRAT 2 = Solo infestado + 100g de folhas de *C. procera* incorporadas; TRAT 3 = Controle positivo (planta em solo infestado s/ incorporação); TRAT 4 = Solo não infestado + 50g de folhas de *C. procera* incorporadas; TRAT 5 = Solo não infestado + 100g de folhas de *C. procera* incorporadas; TRAT 6 = Controle negativo (planta em solo não infestado s/ incorporação).

Fonte: elaborado pelo autor

Ao avaliar o desempenho agrônomo da cultura do rabanete (*Raphanus sativus* L.) em canteiro com incorporação de parte aérea seca de *C. procera*, Silva *et al.* (2017) observaram que houve um efeito significativo na altura de plantas do rabanete com o aumento das quantidades de biomassa incorporada.

Para a variável massa fresca da raiz (MFR), observou-se que não houve diferença estatística entre as médias dos tratamentos, variaram de 2,1 a 2,7 g (Tabela 9).

Lopes *et al.* (2008) ao avaliarem o efeito da incorporação ao solo de folhas secas de *C. procera*, crotalária (*C. spectabilis*), falso-boldo (*Plectranthus barbatus* (Andr.) Benth) e feijão-de-porco (*C. ensiformis*) no controle de *M. javanica*, verificaram que a incorporação de folhas de crotalária promoveram o maior aumento da massa fresca das raízes de tomateiro cv.Santa Cruz Kada, seguido pelo falso-boldo e *C. procera*. No presente estudo não foram conduzidos ensaios com folhas secas de *C. procera*.

De acordo com a avaliação do sistema radicular das plantas de tomateiro cultivadas em vasos com solo infestado e incorporado com ambas as doses de folhas frescas de *C. procera*, pela ausência de galhas nas raízes, constatou-se que não houve infecção do nematoide em nenhuma das plantas (Figura 15). Com isso pode-se concluir que a incorporação de folhas de *C. procera* promoveu a redução de 100 % da população de *M. incognita* existente no solo.

**Figura 15** – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Carolina após a incorporação de folhas frescas de *Calotropis procera* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) 50g de folhas incorporadas, (B) 100g de folhas incorporadas (C) controle positivo (planta em solo infestado s/ incorporação).



Fonte: elaborado pelo autor

O controle positivo, ou seja, as plantas de tomateiro cultivadas em solo infestado e não incorporado com folhas de *C. procera*, apresentaram médias de NG de 166,8, médias de NMO de 8,2, médias de NO de 2.086,7. Esses dados comprovaram que o solo dos vasos utilizados no ensaio estava inicialmente infestado com o patógeno e que não foi a ausência de plantas requerida nos vasos durante os 30 dias o que provocou a eliminação do nematoide do solo, mas sim a incorporação das folhas de *C. procera*.

Santos (2015) obteve resultados semelhantes ao obtido neste trabalho, ao avaliar o efeito da incorporação de folhas de *C. procera*, timbauba (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell) Morong), alface (*Lactuca sativa* L.), estramonio (*Datura stramonium*), metel (*D. metel*), trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench), milho (*Pennisetum glaucum* L.) em solo infestado com *M. enterolobii*, onde observou que após 60 dias, as raízes das plantas de tomateiro cv. Santa Clara que foram transplantadas para o solo após incorporação, não apresentavam galhas, obtendo 100 % de controle do nematoide.

Em ensaio desenvolvido por Lopes *et al.* (2008), resultados diferentes ao verificado neste trabalho foram obtidos ao avaliarem o efeito da incorporação ao solo de folhas secas de *C. procera* no controle de *M. javanica*. Foi verificado que houve uma redução de 53 % da reprodução do nematoide tomateiro cv Santa Cruz Kada. Os autores recomendaram o uso da incorporação de forma integrada com outras formas de manejo, como solarização e controle biológico, a fim de permitir o controle mais eficiente do nematoide.

Rao *et al.* (1996) ao estudar o efeito resultante da incorporação de *C. procera* e inoculação do fungo micorrízico *Glomus fasciculatum* no manejo de *M. incognita* em mudas de tomateiro cv. Pusa Ruby, os autores constataram um efeito sinérgico positivo sobre o crescimento das mudas, além de observarem a redução significativa do número de galhas, número de ovos e massas de ovos provocados pela interação entre *C. procera* e o fungo.

Hussain *et al.* (2011) ao estudarem o efeito nematicida resultante da incorporação de folhas secas de quatro plantas medicinais: nim (*A. indica*), *C. procera*, estramônio (*D. stramonium*) e cravo-de-defunto (*Tagetes erecta* L.) no controle de *M. incognita*, verificaram que as plantas de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.) cv. Punjab cultivadas nos vasos com solo incorporado com as espécies vegetais nim e *C. procera* foram responsáveis pelas maiores reduções do número de ovos e fator de reprodução do nematoide.

Lugo *et al.* (2010) realizaram um estudo com intuito de verificar o efeito da solarização e de incorporação de folhas de *C. procera* isolados e combinados, no controle de *M. incognita* na cultura do melão. A combinação resultante da solarização do solo por 30 e 60

dias com a incorporação de 5.000 kg/ha de *C. procera* proporcionou a maior redução do índice de galhas das raízes e incrementou o rendimento da produção do melão.

Silva *et al.* (2006), avaliaram o efeito da incorporação de resíduos foliares secos de pimenta de macaco (*Piper aduncum* L.) ao solo sobre o parasitismo de *M. incognita* em tomateiro. Os resultados obtidos verificaram que a adição de resíduos de pimenta de macaco ao solo reduziu a reprodução de *M. incognita* no tomateiro.

Ao avaliar o efeito nematicida de algumas espécies de gramíneas forrageiras incorporadas ao solo para o controle de *M. incognita* e *M. javanica*, Dias-Arieira *et al.* (2003) observou que os tratamentos com espécies do gênero *Brachiaria* (*B. brizantha* e *B. decumbens*.) eliminou quase totalmente as duas espécies de nematoides utilizadas no experimento.

Moraes *et al.* (2006) avaliando a influência de leguminosas: mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy), feijão-de-porco (*C. ensiformis*) e crotalária (*Crotalaria juncea* L.) no controle de *Helicotylenchus dihystra*, *M. javanica* e *M. incognita* na cultura da alface americana (*Lactuca sativa* L.) e do repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), verificaram que a incorporação das leguminosas mucuna-preta e crotalária, reduziu as populações de *Meloidogyne* spp em canteiros.

Neves *et al.* (2012), avaliaram a incorporação ao solo de farinha de semente de mamão (*Carica papaya* L.) para o controle de *M. javanica* em tomateiro cv. Santa Clara. A incorporação reduziu o número de galhas em até 100 %, e também promoveu um aumento da massa fresca da parte aérea das plantas quando comparadas à testemunha sem incorporação.

A incorporação de resíduos orgânicos ao solo é uma prática cultural tradicional que provoca uma melhora na fertilidade e estrutura do solo, como também é utilizado como método de controle de fitopatógenos presentes no solo, entre eles os nematoides parasitas de plantas (FERRAZ *et al.*, 2012). Esta prática pode atuar sobre os fitonematoides por meio de diferentes formas: pela ação direta ao liberar ou produzir substâncias nematicidas durante o processo de decomposição no solo, ou pela ação indireta ao estimular a população microbiana antagonista presente no solo (OKA, 2010).

Segundo Oka (2010) Um dos problemas associados ao uso da incorporação de material vegetal como método de controle dos fitonematoides é a variação que pode existir no efeito resultante desta prática, influenciada pelo tipo de resíduo orgânico, espécie vegetal utilizada, época do ano, quantidade de material incorporado, tipo de solo, entre outros.

Portanto, compreender os mecanismos envolvidos na supressão destes patógenos em solos onde houve a incorporação é essencial para se obter a máxima eficácia de controle.

A quantidade de matéria orgânica utilizadas para promover a supressão dos fitopatógenos é muito variável, pois, além da dependência das interações patógeno-hospedeiro e condições ambientais *versus* cultura, dependem também do nível populacional da espécie e de sua correta identificação (RITZINGER; FANCELL, 2006).

Dentre as pesquisas que vêm sendo realizadas com intuito de desenvolver e aprimorar os métodos de controle de fitonematoides, a incorporação de resíduos vegetais ao solo tem obtido resultados positivos no controle destes patógenos.

Tendo em vista as vantagens que o uso deste método pode oferecer como redução dos custos de produção e por apresentar baixo impacto sobre os agroecossistemas, este método de controle torna-se aplicável tanto em sistemas de agricultura sustentável como também em sistemas convencionais. A espécie *C. procera* pode vir a ser uma dessas plantas recomendadas para o controle de nematoides, especialmente o nematoide das galhas.

#### 4.6 Avaliação da população de machos em relação à população de fêmeas e da reprodução de *M. incognita* em tomateiro

As médias das variáveis analisadas apresentadas na Tabela 10 indicaram que ocorreu uma interação significativa entre os fatores combinados, indicando que a inoculação de *M. incognita* juntamente com o tempo de avaliação após a inoculação do patógeno exerceram influência entre si.

**Tabela 10** – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cv. Carolina inoculadas e não inoculadas com *Meloidogyne incognita* após 30,60, 90 e 120 dias após a inoculação.

Tempo de avaliação	Plantas Inoculadas				Plantas Sem Inoculação			
	MFPA	MSPA	AP	MFR	MFPA	MSPA	AP	MFR
<b>30 dias</b>	39,6 aA*	5,3 cA	52,1 aA	9,6 aA	36,0 cA	4,8 cA	51,4 aA	8,64 aA
<b>60 dias</b>	48,8 aB	7,6 bB	80,2 aA	30,2 aA	59,2 bA	9,7 bA	82,2 aA	23,0 aA
<b>90 dias</b>	46,5 aB	10,3 aB	90,5 aA	49,0 aA	72,7 aA	12,8 aA	103,6 aA	40,3 aA
<b>120 dias</b>	44,2 aB	11,2 aB	94,3 aA	24,4 aA	73,2 aA	13,5 aA	101,6 aA	15,5 aA
<b>CV %</b>	16,21	13,95	9,79	24,9	16,21	13,95	9,79	24,9

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre pelo Teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: elaborado pelo autor

Verificou-se que para médias de massa fresca da parte aérea (MFPA), tanto de tomateiros cv. Carolina inoculados como não inoculados (controle) decorridos 30 dias da realização da inoculação, não houve diferença significativa, obtendo-se os valores de 39,6 e 36,0 g para plantas inoculadas e não inoculadas, respectivamente. Plantas retiradas dos vasos aos 60, 90 e 120 dias, suas médias diferiram estatisticamente em relação ao fator inoculação (Tabela 10).

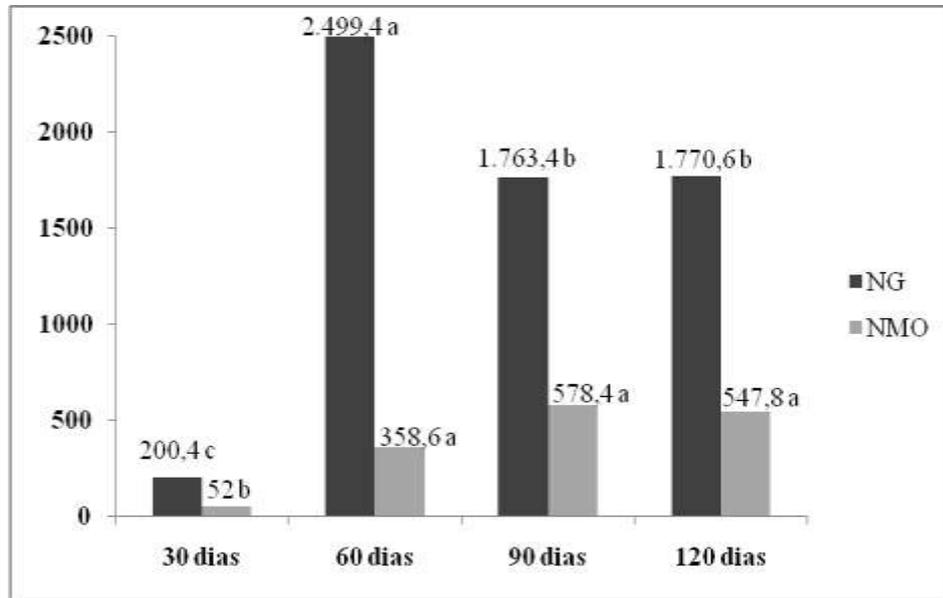
Em relação ao tempo de avaliação após a inoculação (30, 60, 90 e 120 dias), as médias de MFPA para plantas não inoculadas diferiram significativamente entre si, sendo que nos tempos de avaliação de 90 e 120 dias, ocorreram as maiores médias de MFPA com 72,7 e 73,2 g, respectivamente. Essa diferença se deve ao desenvolvimento da planta com o tempo. Para as plantas inoculadas, no entanto, não houve diferença estatística entre as médias de MFPA das plantas em nenhum dos quatro tempos utilizados para a avaliação neste ensaio (Tabela 10).

As médias da massa seca da parte aérea (MSPA) apresentaram os mesmos comportamentos quanto a significância da interação das suas médias em relação a variável MFPA. Para essa variável, tanto de tomateiros inoculados como não inoculados (controle) as plantas retiradas aos 30 dias não apresentaram diferença significativa entre as médias (5,3 e 4,8 g), sendo observada, porém, diferença estatística entre as médias de MSPA referentes aos demais intervalos de tempo de avaliação (60, 90 e 120 dias) (Tabela 10).

Quanto às médias de altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR), não houve interação significativa entre os fatores, ou seja, a inoculação das plantas com *M. inocognita* e os quatro tempos de avaliação não exerceram influência entre si para esta variável (Tabela 10).

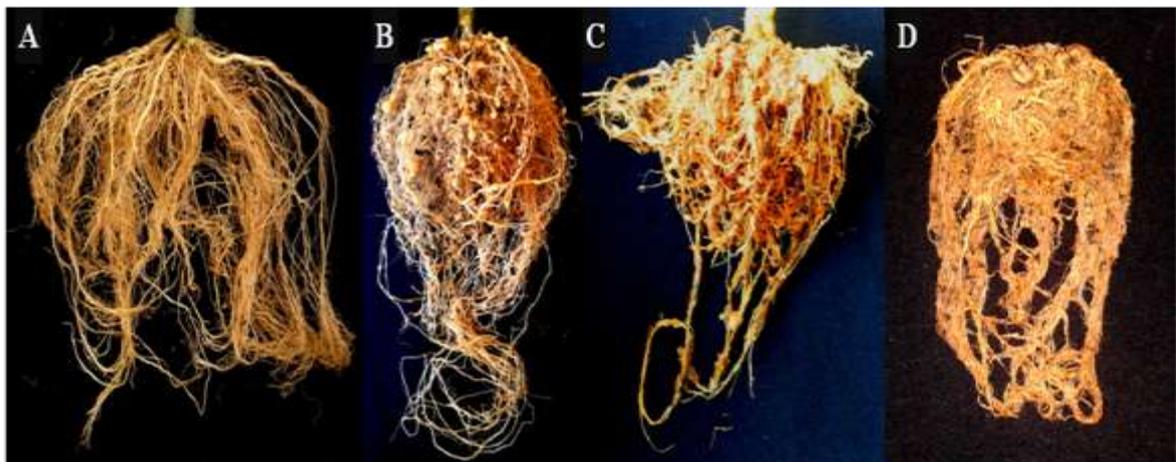
Com relação às variáveis relacionadas com a infecção, verificou-se que as plantas com 60 dias de inoculadas apresentaram a maior média de NG que foi de 2.499,4 galhas/raiz. Uma redução no NG foi observada aos 90 dias e 120 dias após a inoculação, com médias de 1.763,4 e 1.770,6 galhas/raiz, respectivamente, valores semelhantes estatisticamente. Plantas com 30 dias de inoculadas obtiveram o menor NG, com média de apenas 200,4 galhas/raiz (Figura 16 e 17).

**Figura 16** – Médias do número de galhas (NG) e número de massas de ovos (NMO) de plantas de tomateiro cv. Carolina aos 30, 60, 90 e 120 dias inoculadas com *Meloidogyne incognita*.



Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 17** – Raízes de tomateiro cv. Carolina aos (A) 30, (B) 60, (C) 90 e (D) 120 dias após inoculação com *Meloidogyne incognita*.



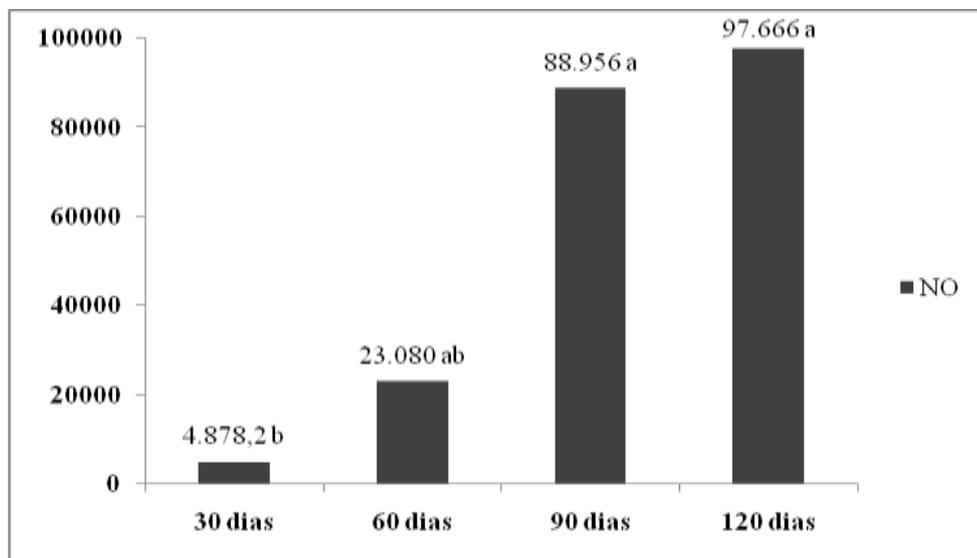
Fonte: elaborado pelo autor

Em relação ao número de massas de ovos (NMO), as médias dos tratamentos com plantas de tomateiro com 60, 90 e 120 dias de inoculadas não diferiram entre si significativamente, apresentando valores de 358,6, 578,4 e 547,8 massas de ovos/raiz, respectivamente. Já as plantas com 30 dias de inoculadas obtiveram a menor média de NMO (52 massas de ovos/raiz) (Figura 16).

Morillo e Silva (2015) verificaram que 35 dias após a inoculação de *M. enterolobii* em plantas de tomateiro cv. Santa Cruz Kada Gigante, a média do NG foi de 100 galhas/raiz, valor inferior ao observado neste trabalho, com *M. incognita*, que aos 30 dias após a inoculação a média do NG foi de 200,4 galhas/raiz, enquanto que para a variável NMO, a média obtida pelos autores foi de 88,71 massas de ovos/raiz, valor superior ao obtido neste trabalho, que foi de 52 massas de ovos/raiz.

As médias do número de ovos (NO) de *M. incognita* em raízes de plantas de tomateiro comportaram-se de modo crescente, ou seja, o NO aumentou com o decorrer dos dias após a inoculação, apresentando a maior média de NO em plantas com 120 dias da inoculação. Entretanto, esta média não diferiu da média das plantas dos tratamentos com 60 e 90 dias de inoculadas. E como esperado, baseado no comportamento das outras variáveis avaliadas, plantas com 30 dias inoculadas foram as que apresentaram a menor média de NO, com 4.878,2 ovos/raiz (Figura 18).

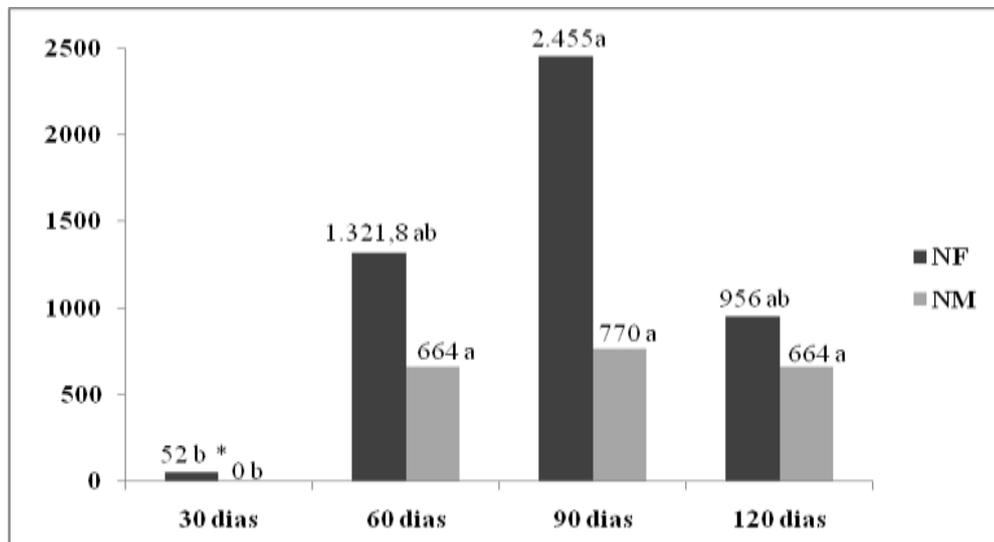
**Figura 18** – Médias do número de ovos (NO) de plantas de tomateiro cv. Carolina os 30, 60, 90 e 120 dias inoculadas com *Meloidogyne incognita*.



Fonte: elaborado pelo autor

O número de fêmeas (NF) de *M. incognita* foi crescente nas raízes de tomateiros, sendo a média de 52 fêmeas/raiz aos 30 dias, 1.321,8 aos 60 dias, atingindo a média máxima de 2.455 fêmeas/raiz aos 90 dias após a inoculação (Figura 19). Em seguida, houve uma redução significativa do NF ao chegar aos 120 dias após a inoculação, com 956 fêmeas/raiz.

**Figura 19** - Médias do número de fêmeas (NF) e do número de machos (NM) de plantas de tomateiro cv. Carolina os 30, 60, 90 e 120 dias inoculadas com *Meloidogyne incognita*.

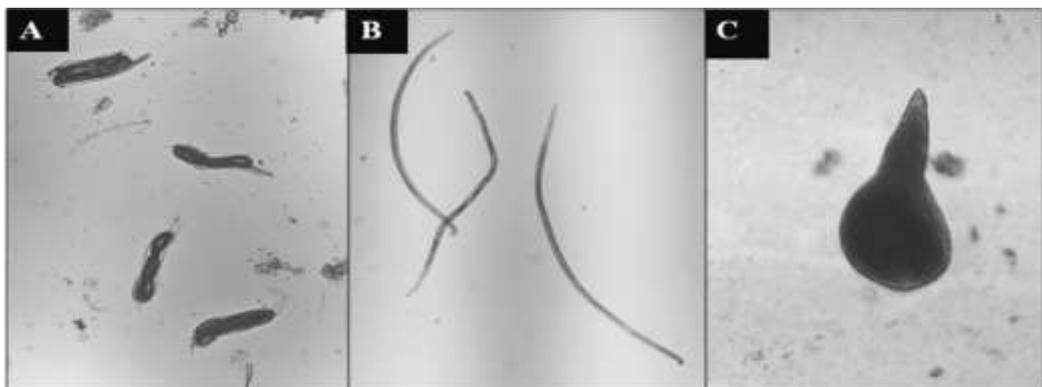


\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor

Em relação ao número de machos (NM), em raízes de plantas com 30 dias de inoculadas não se observou a presença desses indivíduos. A partir do tratamento em que as plantas estavam com 60 dias de inoculadas foram encontrados machos de *M. incognita* (Figura 20), com média de 664 machos/raiz. Aos 90 dias o NM foi de 770 machos/raiz e aos 120 dias o NM foi de 664 machos/raiz, não diferindo significativamente o NM nas plantas desses três tratamentos (Figura 19). Não foi realizada extração de nematoides do solo, portanto, machos presentes no solo não foram contabilizados.

**Figura 20** – Indivíduos de *Meloidogyne incognita* obtidos após extração das raízes de tomateiro infectadas cv. Carolina. (A) machos antes da emergência (B) macho após a emergência e (C) fêmea.



Fonte: elaborado pelo autor

A proporção do NF para NM em plantas com 60 dias de inoculadas foi de 2:1, enquanto que no tratamento com plantas aos 90 dias de inoculadas a razão foi 3:1 e para plantas com 120 dias de inoculadas, a proporção foi de 1,4:1. Observou-se um percentual de 33,4, 23,8 e 40,98 % de machos em relação ao total aos 60, 90 e 120 dias, respectivamente. Nessas ocasiões, as médias de NO foram de 23.080, 88.956 e 97.666, para 60, 90 e 120 dias, quantidade de ovos, 4, 17,7 e 19 vezes superior ao inóculo inicial, respectivamente, demonstrando que as raízes do tomateiro cv Carolina estavam em boas condições para o parasitismo.

Ao estudar o ciclo biológico de *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *M. javanica* em porta-enxertos de tomateiros cv. Magnet e Helper M, resistentes à meloidoginose, Westerich (2010) constatou a presença de todos os estádios de desenvolvimento, incluindo os machos, apenas em raízes infectadas por *M. enterolobii* em ambos porta-enxertos testados, aos 24 dias após a inoculação, período que completou seu ciclo, sendo que a porcentagem de machos dentre os indivíduos não diferiu entre os porta-enxertos de tomateiro, sendo 0,80 e 0,72 % para as cv. Helper M e Magnet, respectivamente.

Charchar *et al.* (2006) avaliando métodos de extração de *Meloidogyne* spp, observou a presença de machos de *M. incognita* raça 1 em raízes em tomateiro cv. Rutgers com mais de 80 dias da inoculação realizado com 6.000 ovos/planta. Os autores obtiveram uma média do número de machos de 3.663, correspondente a um pouco mais da metade do número de fêmeas (7.100) nas mesmas raízes. O número médio de ovos registrado nessa extração foi de 812.400.

De acordo com Lordello (1984), o número de machos numa população dependerá de diversos fatores tais como a disponibilidade de nutrientes. Havendo abundância a maior parte de juvenis originará fêmeas e na escassez, resultante de alta infestação, ocorrerá a formação de machos em grande quantidade.

As fêmeas predominam em condições normais, ocorrendo o aumento na população de machos com a alta competitividade por alimentos na raiz, ou em plantas altamente parasitadas, debilitadas ou velhas (MOURA, 1996).

Segundo Karssen e Moens (2006), a proporção de machos varia de acordo com o tipo de reprodução da espécie. Em espécies de fertilização cruzada (*M. carolinensis*, *M. spartinae*) a proporção de macho/fêmeas geralmente é de 1:1. Já em espécies que se reproduzem por

partenogênese facultativa ou obrigatória (*M. incognita*, *M. hapla*) ocorre variação nessa proporção sexual.

Dependendo das condições do ambiente, machos podem estar ausentes, raros ou abundantes. Em condições adversas de desenvolvimento, a oferta de alimento pode ser fator determinante para a abundância de machos na raiz. Em condições desfavoráveis, fêmeas jovens podem se tornar machos adultos, reversão sexual. E, algumas vezes, nos machos revertidos sexualmente podem aparecer uma a duas gônadas de tamanhos variáveis. Para *M. incognita* temperaturas ótimas variam de 25 a 30°C (LORDELLO, 1984).

Moura (1996) diz que plantas más hospedeiras são um dos fatores que favorecem o aumento do número de machos presentes em uma raiz parasitada pelos nematoides das galhas.

De acordo com Ferraz e Monteiro (2011), tanto *M. incognita* quanto *M. javanica*, em que há reprodução por partenogênese mitótica obrigatória, as populações do nematoide são compostas basicamente por fêmeas, surgindo machos somente em condições especiais.

Os resultados obtidos neste trabalho com relação ao número de machos diferem das afirmações de diversos autores, pois o ensaio foi desenvolvido em ambiente de casa de vegetação com temperaturas e  $29 \pm 4^\circ\text{C}$  e o tomateiro é considerado um bom hospedeiro das espécies do gênero *Meloidogyne*, fato comprovado em trabalhos realizados por vários autores (KAMRAN *et al.*, 2001; LOPES *et al.*, 2008; FERREIRA *et al.*, 2013a). As plantas de tomate com 60 e até 120 dias de inoculadas apresentavam raízes parasitadas, mas em bom estado sem indícios de qualquer decomposição (Figura 17). Com o tempo, o número de ovos continuou a aumentar alcançando o maior número em 120 dias, sugerindo que a raiz ainda possibilitava a alimentação dos nematoides.

O tipo de reprodução mais comum de muitas espécies de *Meloidogyne* é a partenogênica. A partir desta afirmação infere-se que a presença dos machos não se faz necessária para completar o ciclo de vida, e ovos viáveis podem ser produzidos pelas fêmeas sem que ocorra fertilização. Por essa razão, os machos podem considerados raros em algumas espécies e encontrados somente quando a população dos nematoides estiver sujeita a algum tipo de estresse ambiental (MITKOWSKI; ABAWI, 2003).

*Calotropis procera* é considerada uma espécie ruderal, portanto facilmente encontrada nas mais diversas regiões, e tendo em vista que neste ensaio o uso do extrato foliar desta planta inibiu a eclosão e provocou mortalidade de juvenis de *M. incognita in vitro* e *in vivo*, como também afetou o patógeno por meio da incorporação de suas folhas em solo infestado, sua utilização no manejo desse fitonematoide pode se tornar uma alternativa viável,

barata e promissora quando comparada ao uso de nematicidas químicos, reduzindo desta forma os possíveis danos que venham a ser provocados por esse fitopatógeno nas culturas.

## 5 CONCLUSÕES

A espécie vegetal *Calotropis procera* é considerada resistente à infecção por *M. incognita* raça 2.

O extrato aquoso de *C. procera* inibiu a eclosão de J2 de *M. incognita in vitro*.

O extrato de *C. procera* apresentou elevada ação nociva sobre os juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita*, ocasionando a mortalidade destes *in vitro*.

Extrato de *C. procera* preparado a partir de folhas após um dia da secagem foi mais eficiente sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita in vitro* que de folhas armazenadas.

A aplicação do extrato de *C. procera* em solo infestado foi eficaz na redução do parasitismo do fitonematoide em tomateiro cv. Carolina.

A incorporação de folhas frescas de *C. procera* em solo infestado com *M. incognita* promoveu a erradicação deste fitonematoide no solo.

Apesar de serem considerados indivíduos raros, machos de *M. incognita* raça 2, foram encontrados em elevado número em raízes de plantas de tomateiro cv. Carolina.

## REFERÊNCIAS

- ADEGBITE, A. A. Effects of some indigenous plant extracts as inhibitors of egg hatch in root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* race 2). **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 1, n. 3, p. 96-100, 2011.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5<sup>a</sup> ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.
- AKHTAR, M. A.; MALIK, A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Bioresource Tecnology**, v. 74, n. 1, p. 35-47, 2000.
- ALMEIDA, F. A.; PETTER, F. A.; SIQUEIRA, V. C.; ALCÂNTARA NETO; F.; ALVES, A. U.; LEITE, M. L. T. Modos de preparo de extratos vegetais sobre *Meloidogyne javanica* no tomateiro. **Nematropica**, v. 42, n. 1, p. 9-15, 2012.
- ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. In:\_\_\_\_\_. **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e hidroponia**. Lavras: Editora UFLA, 2004. p. 15–18.
- ALVAREZ, F. C. V.; DUETE, R. R. C.; MURAOKA, T.; DUETE, W. L. C.; ABREU JUNIOR, C. H. Utilização de fósforo do solo e do fertilizante por tomateiro. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 167-172, 2002.
- AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P.; CARVALHO, D. A. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 43-48, 2002.
- ANDRADE, L. N. T.; NUNES. M. U. C. **Produtos alternativos para controle de doenças e pragas em agricultura orgânica**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. 20 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 281).
- ASMUS, G. L. Ocorrência de nematóide fitoparasitos em algodoeiro no estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 77-86, 2004.
- AZEVEDO FILHO, J. A.; MELO, A. M. T. Avaliação de tomate silvestre do tipo cereja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 41, 2001, Brasília. **Resumos...** Brasília: ABH, 2001. CD-ROM.
- BALDIN, E. L. L.; WILCKEN, S. R. S.; PANNUTI, L. E. R.; SCHLICK-SOUZA, F. P. V. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematóide das galhas em cenoura. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 36-41, 2012.
- BARBOSA, L. C.A; BARCELOS, F. F.; DEMUNER, A. J.; SANTOS, M. A. Chemical constituents from *Mucuna aterrima* with activity against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Nematropica**, v. 29, n. 1, p. 81-88, 1999.
- BHARADWAJ, A.; SHARMA, S. Effect of some plant extracts on hatch of *Meloidogyne incognita* eggs. **International Journal of Botany**, v. 3, n. 3, p. 312-316, 2007.

BIRCH, A. N. E.; ROBERTSON, W. M.; FELLOWS, L. E. Plant products to control plant parasitic nematodes. **Pest Management Science**, v. 39, n. 2, p. 141-145, 1993.

BONETTI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 6, n.3, p.553, 1981.

CAMARGO, F. P.; ALVES, H. S.; CAMARGO FILHO, W. P.; VILELA, N. J. Cadeia produtiva de tomate industrial no Brasil: resenha da década de 1990, produção regional e perspectivas. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.36, n.11, p. 7-20, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; BRAGA, R. S.; ALMEIDA, C. A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à meloidoginose no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUENEHERVE. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, n. 6, p. 645-654, 2000.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O.; SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 2, p. 177-189, 1996.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; NEVES, D. I. N.; ALMEIDA, M. R. A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 27, p. 219-222, 2003.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MONTEIRO, J. M. S.; SILVA, U. C.; GOMES, G. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. p. 47-70.

CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GONÇALVES, W. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro nos estados de São Paulo e Minas Gerais através dos fenótipos de esterase e SCAR-Multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 233-241, 2005.

CASTILLO, P.; DI VITO, M.; VOVLAS, N.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. Host-parasite relationships in root-knot disease of white mulberry. **Plant Disease**, v. 85, n. 3, p. 277-281, 2001.

CAVALCANTE, G. S. **Composição química e avaliação *in vitro* do extrato acetato de etila do látex de *Calotropis procera* (Ait.) (Apocynaceae) sobre *Haemonchus contortus***. 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, 2015.

CAVALCANTE, G. S.; MORAIS, S. M.; ANDRE, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C.; RODRIGUES, A. L. M.; LIRA, F. C. M. L.; VIANA, J. M.; BEVILAQUA, C. M. L.

Chemical composition and in vitro activity of *Calotropis procera* (Ait.) latex on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 22-25, 2016.

CHARCHAR, J. M.; ARAGÃO, F. A. S. Sequência de cultivos no controle de *Meloidogyne javanica* em campo. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 81-86, 2003.

CHARCHAR, J. M.; OLIVEIRA, V.; ARAGÃO, F. A. S. Extração dos espécimens de *Meloidogyne* das raízes de tomateiro pela técnica do liquidificador. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 245-250, 2006.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p.221-249, 2002.

CHOUDHURY, M. M.; MOREIRA, W. A.; FILHO, J. N. N. **Controle de nematóides com crotalárias em bananeira irrigada**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 1998, 5 p. (Embrapa Semiárido. Comunicado Técnico, 78).

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

COOK, R.; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. **Principles and practice of nematode control in crops**. Sydney: Academic Press, 1987. p. 179-231.

CUNHA, F. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P. Extratos vegetais com propriedades nematicidas e purificação do princípio ativo do extrato de *Leucaena leucocephala*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 438-441, 2003.

CURTIS, R. H. C.; ROBINSON, A. F.; PERRY, R. N. Hatch and host location. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root Knot Nematodes**. Cambridge: CAB International, 2009. p. 139-162.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; NASCIMENTO, J. C.; VIEIRA, J. J.; SANTOS, M. A. Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna cinerea* contra *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 335-339, 2003.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; MIZOBUTSI, E. H. Avaliação de gramíneas forrageiras para o controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Nematoda). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 473-477, 2003.

DIAS, C. R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v.24, n.2, p.203-210, 2000.

DICKSON, D. W.; HUISINGH, D.; SASSER, J. N. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases, and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera*, and *Aphelenchus* spp. **Journal of Nematology**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 1971.

DI VITO, M.; VOVLAS, N.; CASTILLO, P.. Host-parasite relationships of *Meloidogyne incognita* on spinach. **Plant Pathology**, v. 53, n. 4, p. 508-514, 2004.

DONG, L. Q.; ZHANG, K. Q. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant Soil**, v. 288, n. 1, p. 31-45, 2006.

EISENBACK, J. D. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne**: Biology and control. vol. 1. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 95-112.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 22, n. 1, p. 10- 15, 1990.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**, v. 17, p. 6-20, 1985.

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2014. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 07 fev. 2017.

FASSULIOTIS, G.; SKUCAS, G. P. The effect of pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita* acrita. **Journal of Nematology**, v. 1, p. 287-288, 1969.

**FELTRIN**. Disponível em: <<https://www.sementesfeltrin.com.br/Produto/tomate-carolina>>. Acesso em: 17 dez. 2016.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematóides. In: BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**: princípios e conceitos, ed. 4. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, 2011, p. 211-305.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. **Nematology**: advances and perspectives. Wallingford UK: Cabi Publishing, 2004, p. 931-977.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. Viçosa: Editora UFV, 2012. 304 p.

FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S. Efeito de extratos aquosos de espécies de Asteraceae sobre *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 1, p. 40-44, 2013a.

FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S. Manejo de *Meloidogyne incognita* com espécies da família Asteraceae. **Nematologia Brasileira**, v. 37, n. 1-2, p. 9-14, 2013b.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 421p.

FIorentin, F. **Identificação de *Meloidogyne* spp. em reservas legais e avaliação do parasitismo de *Meloidogyne incognita* raça 3 e *M. javanica* em plantas nativas do Oeste Paranaense.** 2010. 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Marechal Cândido Rondon, 2010.

FOGanholi, A. P. A. M. **Hospedabilidade de *Meloidogyne paranaensis* em plantas medicinais, composição química do óleo essencial de *Mentha pulegium* e efeito do parasitismo de *M. paranaensis* sobre as substâncias fenólicas e *M. pulegium*.** 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, 2012.

Fontes, P. C. R.; SILVA, D. J. H. Cultura do tomate. In: FONTES, P. C. R. **Olericultura: teoria e prática.** Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 457-475.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. S.; STANGARLIN, J. R.; FURLANETTO, C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 27-36, 2007.

FREITAS, C. D. T.; NOGUEIRA, F. C. S.; VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. A.; DOMONT, G. B.; RAMOS, M.V. Osmotin purified from the latex of *Calotropis procera*: biochemical characterization, biological activity and role in plant defense. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 7, p. 738–743, 2011.

FREITAS, C. D. T.; OLIVEIRA, J. S.; MIRANDA, M. R. A.; MACEDO N. M. R.; SALES M. P.; VILLAS-BOAS L. A.; RAMOS M. V. Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. **Plant Physiology and Biochemistry**., v.45, n. 10/11, p.781-789, 2007.

FREITAS, C. D. T. **Proteína do látex de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. e seus efeitos sobre pragas agrícolas.** 2006. 118 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Vegetal) – Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, 2006.

FREITAS, L. G.; LIMA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia.** Viçosa: Editora UFV, 2008. 84 p.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. Nematoides como patógenos de plantas. In: ZAMBOLIN, L.; JESUS JR, W.C. & PEREIRA, O.L. **O essencial da fitopatologia.** Viçosa: Editora Suprema, 2012. p. 89-128.

FREIRE, M. S. **Reação de plantas medicinais e efeito de seus extratos sobre *Meloidogyne incognita*.** 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza. 2016.

GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X.; FREITAS, L. G. Avaliação de extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 551-556, 2009.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; SILVA, M. M.; DOLINSKI, C. Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 154-160, 2008.

GULZAR, A.; SIDDIQUI, M. B. Allelopathic effect of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. on growth and antioxidant activity of *Brassica oleracea* var. *botrytis*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, p. 1-8, 2016.

GULZAR, A.; SIDDIQUI, M. B.; ARERATH, U. Phytotoxic effects of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. extract on three weed plants. **Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie**, v. 21, n. 2, p. 57-60, 2014.

HALBRENDT, J. M. Allelopathy in the management of plant parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 28, p. 8-14, 1996.

HARTMAN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of diferencial host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. **Na advanced treatise on Meloidogyne: Methodology**, v. 2. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 69-77.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root-knot nematodes**. Cambridge: CABI, 2009, p. 55-97.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, p. 197-204, 2011.

HUSSEY, R. S.; GRUNDLER, F. M. W. Nematode parasitism of plant. In: PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. **Physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes**. New York: CAB International, 1998. p.213-243.

IBGE. 2017. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 07 fev. 2017.

IQBAL, Z.; LATEEF, M.; JABBAR, A.; MUHAMMAD, G.; KHAN, M. N. Anthelmintic activity of *Calotropis procera* (Ait). Ait. F. flowers in sheep. **Journal Ethnopharmacology**, v. 102, n. 2, p. 256-261, 2005.

JAVED, N.; INAM-UL-HAQ, M.; KHAN, S. A. Mobility of juveniles of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) through soil amended with neem (*Azadirachta indica* A. Juss) products. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 42, n. 3/4, p. 58-60, 2005.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 10ª ed. São Paulo: Editora Nacional; 1979. 777p.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES M. G.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL,

W. M.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v.14, n.9, p.946-961, 2013.

KAMRAN, M.; ANWAR, S. A.; KHAN, S. A. Evaluation of tomato genotype against *Meloidogyne incognita* infection. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 31-34, 2011.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Ed). **Plant nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2006. p. 59-90.

KRATOCHVIL, R. J.; SARDANELLI, S.; EVERTS, K.; GALLAGHER, E. Evaluation of crop rotation and other cultural practices for management of root-knot and lesion nematodes. **Agronomy Journal**, v.96, p.1419-1428, 2004.

KUMAR, V. L.; CHAUDHARY, P.; RAMOS, M. V.; MOHAN, M.; MATOS, M. P. Protective effect of proteins derived from the latex *Calotropis procera* against inflammatory hyperalgesia in monoarthritic rats. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 9, p. 1336-1341, 2011.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do Tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, Ed. 4. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 2005. p. 607-626.

LARHSINI, M.; BOUSAID, M.; LAZREK, H.B.; JANA, M.; AMAROUCH, H. Evaluation of antifungal and molluscicidal properties of extracts of *Calotropis procera*. **Fitoterapia**, v. 68, n. 4, p. 371-373, 1997.

LÁZARO, S. F.; FONSECA, L. D.; FERNANDES, R. C.; TOLENTINO, J. S.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Efeito do extrato aquoso do algodão de seda (*Calotropis procera* Aiton) sobre a eficiência reprodutiva do carrapato bovino. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p.302-305, 2012.

LEÃO, T. C. C.; ALMEIDA, W. R.; DECHOUM, M.; ZILLER, S. R. **Espécies exóticas invasoras no nordeste do Brasil**: Contextualização, manejo e políticas públicas. Recife: Cepan, 2011. 99p.

LIMA, J. A. A. **Virologia essencial & viroses em culturas tropicais**. Fortaleza: Edições UFC, 2015. 605 p.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P. A.; FREITAS, L. G.; GARDIANO, C. G.; DHINGRA, O. D.; DALLEMOLE-GIARETTA. Efeito da Incorporação da Parte Aérea de Quatro Espécies Vegetais sobre *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 76-80, 2008.

LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8ª ed. São Paulo, Ed. Livraria Nobel, 1984, 314 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LUGO, Z.; CROZZOLI, R.; GRECO, N.; CORTEZ, A.; FERNANDEZ, A. Efecto de la solarización y de *calotropis procera* en el control de *Meloidogyne incognita* en melón en el estado falcón, Venezuela. **Nematología Mediterránea**, v. 38, p. 121-127, 2010.

MACEDO, M. A. **Progreso temporal e espacial de begomovirose e crinivirose em tomateiro**. 2016. 138 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília (UNB), Brasília, 2016.

MANSO, E. C.; TENENTE, R. C. V.; FERRAZ, L. C. B., OLIVEIRA, R. S.; MESQUITA, R. **Catálogo de nematóides fitoparasitos encontrados associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1994. 488p.

MARCOS, S. K.; JORGE, J. T. Desenvolvimento de tomate de mesa, com o uso do método dfq (desdobramento da função qualidade), comercializado em um supermercado. **Horticultura Brasileira**, Brasília v.20, n.3, Setembro, p.490-496, 2002.

MARTINS, M. C. B. **Reação de plantas medicinais e efeito de seus extratos sobre *Meloidogyne incognita***. 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza. 2009.

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

MATEUS, M. A. F.; FARIA, C. M. D. R.; BOTELHO, R. V.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERREIRA, S. G. M.; ZALUSKI, W. L. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 730-736, 2014.

MATTOS, V. S. **Variabilidade genética e agressividade a soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] de populações de *Meloidogyne* spp. do cerrado e de áreas de cultivo**. 2013. 82 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília (UNB), Brasília, 2013.

MAZZONETTO, F.; SOSSAI, V. L. M.; BENASSATTO, R.; MELO, V. P.; PIZETTA, L. C. Avaliação da eficiência do extrato aquoso de mandioca sobre *Meloidogyne incognita in vitro*. **Revista Agrogeoambiental**, v. 7, n. 4, p. 105-112, 2015.

MELO, M. M.; VAZ, A. A.; GONÇALVES, L. C.; SATURNINO, H. M. Estudo fitoquímico da *Calotropis procera* Ait., sua utilização na alimentação de caprinos: efeitos clínicos e bioquímicos séricos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.2, n.1, p.15-20, 2001.

MENG, Q. P.; LONG, H.; XU, J. H.; PCR assays for rapid and sensitive identification of three major root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*. **Acta Phytopathologica Sinica**, v. 34, p. 204-210, 2004.

MITKOWSKI; N. A.; ABAWI G. S. Nematóide das galhas. **American Phytopathological Society**, St. Paul, 2003. Disponível: <

<https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/Nematodes/Pages/RootknotNematodePort.aspx>. Acesso em: 22 ago. 2017.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root-knot nematodes**. Cambridge: CAB International, 2009. p. 1-19.

MOHAMED, N. H.; LIU, M.; ABDEL-MAGEED, W. M.; ALWAHIBI, L. H.; DAI, H.; ISMAIL, M. A.; BADR, G.; QUINN, R. J.; LIU, X.; ZHANG, L.; SHOREIT, A. A. M. Cytotoxic cardenolides from the látex of *Calotropis procera*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 4615-4620, 2015.

MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; WILSON, J. H. Host tests to differentiate *Meloidogyne chitwoodi* races 1 and 2 and *M. hapla*. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 3, p. 468-473, 1988.

MORCELLE, S. R.; CAFFINI, N. O.; PRIOLO, N. Proteolytic properties of *Funastrum clausum* latex. **Fitoterapia**, v. 75, n. 5, p. 480-493, 2004.

MORAES, S. R. G.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; FONTANETTI, A.; CARVALHO, G. J.; MAXIMINIANO, C. Influência de Leguminosas no Controle de Fitonematóides no Cultivo Orgânico de Alface Americana e de Repolho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 188-191, 2006.

MOREIRA, F. J. C.; SANTOS, C. D. G.; INNECCO, R.; SILVA, G. S. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 207-213, 2015.

MOREIRA, F. J. C.; SANTOS, C. D. G.; INNECCO, R. Ecloração e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raça 2 em óleos essenciais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 3, p. 441-448, 2009.

MORILLO, S. R. C.; SILVA, G. S. Efeito antagônico de feijão-de-porco sobre *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 305-310, 2015.

MOSSA, J. S.; TARIQ, M.; MOUSIN, A.; BAGEEL, A. M.; ALYAHYA, M. A.; AL-SAID, M. S.; RAFATULLANH, S. Pharmacological studies on aerial parts of *Calotropis procera*. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 19, n.3/4, p. 223-231, 1991.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p. 209-244, 1996.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.5, p. 281-315, 1997.

MOUSTAFA, A. M. Y.; AHMED, S. H.; NABIL, Z. I.; HUSSEIN, A. A.; OMRAN, M. A. Extraction and phytochemical investigation of *Calotropis procera*: effect of plant extracts on the activity of diverse muscles. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 10, p. 1080-1190, 2010.

NATARAJAN, N.; CORKB, A.; BOOMATHIA, N.; PANDIA, R.; VELAVANA, S.; DHAKSHNAMOORTHY, G. Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for

control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 25, n. 11, p. 1210-1213, 2006.

NAVES, R. L. **Diagnose e manejo de doenças causadas por fitonematóides na cultura da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 12 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 57).

NEVES, W. S.; COUTINHO, M. M.; ZOOCA, R. J. F.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G. Inibição da eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* por extrato aquoso de sementes de mamão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38, 2005. Brasília. **Resumos...**Brasília: Universidade de Brasília, 2005. p. 32.

NEVES, W. S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; COUTINHO, M. M. Efeito de extratos botânicos sobre a eclosão e inativação de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 1, capa, 2010.

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; COUTINHO, M. M.; FERRAZ, S.; PARREIRA, D. F. Incorporação de Farinha de Semente de Mamão ao Solo para o Controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 36, n. 1-2, p. 25-31, 2012.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments - A review. **Applied Soil Ecology**, v. 44, p. 101–115, 2010.

OKENDI, E. M.; KARIUKI, G. M.; MARAIS, M.; MOLELEKI, L. N. The threat of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Africa: a review. **Plant Pathology**, v. 63, n. 4, p. 727-737, 2014.

OLABIYI, T. I. Pathogenicity study and nematotoxic properties of some plant extracts on the root-knot nematode pest of tomato, *Lycopersicon esculentum* (L.) Mill. **Plant Pathology Journal**, v.71, n. 1, p. 45-49, 2008.

OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. **Diagnose de fitonematoides**. 1ª ed. Campinas: Editora Millennium, 2016. 368 p.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen, v. 66, n. 4, p. 1-46,1966.

PARIHAR, G.; SHARMA, A.; GHULE, S.; SHARMA, P.; DESHMUKH, P.; SRIVASTAVA, D. N. Anti inflammatory effect of *Calotropis procera* root bark extract. **Asian Journal of Pharmacy & Life Science**, v. 1, n. 1, p. 29-44, 2011.

PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D. M. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. **Systematic Botany**, v. 30, n. 2, p. 424-434, 2005.

PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root Knot Nematodes**. Cambridge: CAB International, 2009. 488p.

- PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F.; VIEIRA, J. V. **Manejo do nematóide-das-galhas (*Meloidogyne spp.*) em cultivos de cenoura na região de Iracê –BA**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2010. 7 p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado técnico, 77).
- PRIYA, S.; SANTHIYA, S. Phytochemical properties and antibacterial activity of *Calotropis procera* extract against human pathogens. **Advances in Pharmacology and Toxicology**, v. 12, n. 2, p. 21-24, 2011.
- QUARLES, W. **Botanical pesticides from *Chenopodium***. IPM Practitioner, [S.l.], v.14, n.2, p.1-11, 1992.
- RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 22, n. 1, p. 56-68. 1990.
- RAMOS, M. V.; FREITAS, C. D. T., STANISÇUASKI, F.; MACEDO, L. L. P.; SALES, M. P.; SOUZA, D. P., CARLINI, C. R. Performance of distinct crop pests reared on diets enriched with latex proteins from *Calotropis procera*: role of laticifer proteins in plant defense. **Plant Science**, Limerick, v. 173, p. 349-357, 2007.
- RANGEL, E. S.; NASCIMENTO, M. T. Ocorrência de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Apocynaceae) como espécie invasora de restinga. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 3, p. 657-663, 2011.
- RAO, M. S.; REDDY, P. P.; DAS, S. M. Effect of integration of *Calotropis procera* leaf and *Glomus fasciculatum* on the management of *Meloidogyne incognita* infesting tomato. **Nematologia Mediterranea**, v. 24, n. 1, p. 59-61, 1996.
- RITZINGER, C. H. S. P.; COSTA D. C. Nematóides e alternativas de manejo. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Fruticultura e Mandioca, 2004. p. 183-194.
- RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.
- ROBERTS, P. A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International, 2002. p. 25-41.
- ROCHA, T. L.; MURAD, A. M.; EVARISTO, R. G. S.; ALMEIDA, W. S.; MAGALHÃES, J. C. C.; MATTAR, M. C. S.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. **Efeito nematicida de extratos aquosos de sementes de plantas sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita***. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006, 9 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado Técnico, 144).
- ROSENTHAL, G. A.; DAHLMAN, D. L. L-Canavanine and protein synthesis in the tobacco hornworm *Manduca sexta*. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 83, p. 14-18, 1986.

SANTOS, M. F. A. **Diversidade de *Meloidogyne incognita* e espécies correlatas como sugerem abordagens biológicas, citológicas, morfológicas e moleculares**. 2011. 85 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília (UNB), Brasília, 2011.

SANTOS, M. L. L. **Emprego de plantas com princípios tóxicos no controle de *Meloidogyne enterolobii***. 2015. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza. 2015.

SANTOS, P. V. **Reação de acessos de pimenteiras (*Capsicum spp.*) a *Meloidogyne incognita* raça 3**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, 2008.

SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne*: biology and control**, vol 1. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985.

SASSER, J. N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, v.64, n. 1, p. 36-41, 1980.

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

SCHAEFFER, S. T.; ZALKOW, L. H.; TEJA, A. S. Extraction of monocrotaline from *Crotalaria spectabilis* using supercritical carbon dioxide and carbon dioxide-ethanol mixtures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 34, n. 11, p. 1357-1365, 1989.

SILVA, A. F. A.; SOUZA, E. G. F.; JÚNIOR BARROS, A. P.; NETO BEZERRA, F.; SILVEIRA, L. M. Desempenho agrônômico do rabanete adubado com *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. em duas épocas de cultivo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 2, p. 328-336, 2017.

SILVA, F. A. S. **Sistema de análise estatística para Windows: Assistat. Versão 7.7 pt**. Campina Grande: DEAG-CTRN-UFCG, 2017.

SILVA, G. A.; COIMBRA, J. L.; SANTOS, S. F.; NUNES, H. B. Efeito de extratos vegetais sobre o parasitismo do *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 1949, no algodoeiro. **Natureza on line**, v. 9, n. 2, p. 82-86, 2011.

SILVA, G. S. Métodos alternativos de controle de fitonematoides. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 19, p. 81-152, 2011.

SILVA, G. S. PEREIRA, A. L.; BASTOS, C. N.; MENDONÇA, V. C. M. Efeito da incorporação de resíduos foliares de *Piper aduncum* ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.2, p.219-222, 2006.

SILVA, G. S.; PEREIRA, A. L. Efeito da incorporação de folhas de nim ao solo sobre o complexo *Fusarium x Meloidogyne* em quiabeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 368-370, 2008.

SILVA, J. F. V. Problemas fitossanitários da soja no Brasil com ênfase em nematoides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 20, 1998. Maringá. **Resumos**...Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1998. p. 20-21.

SILVA, J. F. V. Resistência genética de soja a nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja, p. 95-127. 2001.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. A. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, p. 221-246. 2005.

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G.; SILVA, G. S. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 4, p. 710-719, 2016.

SILVA, R. V. **Produção de inoculo e diferenciação de raças de *Meloidogyne exigua* em *Coffea spp.*** 2005. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa, 2005.

SOUTO, P. C.; SALES, F. C. V.; SOUTO, J. S.; SANTOS, R. V.; SOUSA, A. A. Biometria de frutos e número de sementes de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br no semi-árido da Paraíba. **Revista Verde**, v. 3, n. 1, p. 108-113, 2008.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 16, p. 265-304, 2008.

STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International, 2002. 288 p.

SINGH, S. K.; HODDA, M.; ASH, G. J. Plant-parasitic nematodes of potencial phytosanitary importance, their main host and reported yield losses. **OEPP/EPPO Bulletin**, v. 43, n. 2, p. 334-374, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: TAIZ, I.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artimed, p. 309-334. 2004.

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

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: Funep, 1993. 372p.

TRUDGILL, D. L.; BLOK, V. C. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 53-77, 2001.

VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, n. 2, p. 85-97, 1999.

VAN QUAQUEBEKE, E.; SIMON, G.; ANDRÉ, A.; DEWELLE, J.; YAZIDI, M. E.; BRUYNAEEL, F.; TUTI, J.; NACOULMA, O.; GUISSOU, P.; DECAESTECKER, C.; BRAEKMAN, J. C.; KISS, R.; DARRO, F. Identification of a novel cardenolide (200 - Oxovorucharin) from *Calotropis procera* and the hemisynthesis of novel derivatives displaying potent *in vitro* antitumor activities and high *in vivo* tolerance: structure-activity relationship analyses. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.48, n. 3, p.849-856, 2005.

VIGLIERCHIO, D. R. **The world of nematodes**: a fascinating component of the animal kingdom. Davis: University of California, 1991. 266 p.

WESTERICH, J. N. **Estudos histopatológicos e ciclos biológicos de *Meloidogyne mayaguensis* e *M. javanica* em tomateiros com gene Mi**. 2010. 83 p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, 2010.

WOFFORD, D. S.; GRAY, F. A.; ECKERT, J. W. Pathogenicity of two populations of *Meloidogyne hapla* Chitwood on alfafa and sainfoin. **Journal of Nematology**, v. 21, n. 1, p. 87-91, 1989.

YESMIN, M. N.; UDDIN, S. N.; MUBASSARA, S.; AKOND, M. A. Antioxidant and antibacterial activities of *Calotropis procera* Linn. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 4, n. 5, p. 550–553, 2008.