



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

LAIANNY MORAIS MAIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE *Chenopodium ambrosioides* L.
NO CONTROLE DE *Meloidogyne* spp. EM TOMATEIRO E ESTUDO DO CICLO DE
VIDA E DE HOSPEDEIROS DE *M. konaensis***

FORTALEZA

2019

LAIANNY MORAIS MAIA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE *Chenopodium ambrosioides* L. NO
CONTROLE DE *Meloidogyne* spp. EM TOMATEIRO E ESTUDO DO CICLO DE VIDA E
DE HOSPEDEIROS DE *M. konaensis*

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

Orientador: Prof^a. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M187a Maia, Laianny Moraes.

Avaliação do efeito do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L. no controle de *Meloidogyne* spp. em tomateiro e estudo do ciclo de vida e de hospedeiros de *M. konaensis* / Laianny Moraes Maia – 2019.
155 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de PósGraduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2019. Orientação: Prof. Dr. Carmem Dolores Gonzaga Santos.

1. *Meloidogyne*. 2. Controle alternativo. 3. *Solanum lycopersicum* L. . I. Título.

CDD 630

LAIANNY MORAIS MAIA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE *Chenopodium ambrosioides* L. NO
CONTROLE DE *Meloidogyne* spp. EM TOMATEIRO E ESTUDO DO CICLO DE VIDA E
DE HOSPEDEIROS DE *M. konaensis*

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

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. José Emilson Cardoso
EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL

Prof. Dr. Cristiano Souza Lima
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Prof. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Rosa Firmo Morais e
Laudemiro Maia Neto (*In memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa estudos concedido durante os quatro anos de curso.

À Deus por ter me dado força e paciência para aceitar os desafios que me foram propostos e por ter iluminado os meus caminhos me permitindo concluir mais esta tarefa.

À Universidade Federal do Ceará por me permitir obter o título de Doutora em Agronomia/Fitotecnia, através do apoio financeiro e da disponibilização do espaço físico para a realização do meu trabalho de tese.

À Professora Carmem Dolores Gonzaga Santos, pela sua excelente orientação, apoio constante, confiança, paciência e acima de tudo por sua amizade.

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

À Professora Maria da Conceição Ferreira de Oliveira e a Diana Kelly pelo suporte que nos foi dado na realização da etapa final deste trabalho.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e encorajaram a buscar conhecimento e por acreditarem no meu potencial. A minha irmã, Laisianny Maia, que mesmo distante, se fazia presente me dando apoio durante toda esta caminhada e toda a minha família, que sempre me deram suporte nos momentos difíceis.

Aos meus companheiros do laboratório de Fitopatologia, Isabelle Abreu, Jhonatas, em especial ao Bruno Café e Natália Costa, pela amizade oferecida e pelos bons momentos de descontração e diversão, que tornaram meus dias mais alegres. E a todos que por aqui passaram durante estes quatro anos que de alguma forma contribuíram com a realização deste trabalho.

Agradeço de coração aos meus amigos de vida Tamiris Pereira, Ravena, Lainara, Aline, Graziela e Everton que me acolheram nesta cidade. Vocês se tornaram parte da minha família ao me darem o suporte que precisava e por tornarem os meus dias mais leves.

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

*“Aqueles que passam por nós, não vão sós,
não nos deixam sós. Deixam um pouco de si,
levam um pouco de nós.”*

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

Os nematoides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, constituem o grupo de fitonematoides com maior importância econômica na agricultura mundial. A constante busca por métodos de controle desses fitopatógenos, que reduzam o uso de nematicidas, tem provocado um aumento das pesquisas utilizando extratos vegetais. Os objetivos deste trabalho foram: (1) avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* do extrato aquoso de folhas de *Chenopodium ambrosioides* sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de *Meloidogyne* spp.; (2) investigar o tempo de armazenamento de folhas secas na preservação da atividade nematicida do extrato; (3) avaliar o efeito do extrato aquoso aplicado ao solo e na imersão de plantas infectadas no controle de *Meloidogyne* spp; (4) avaliar o extrato aquoso como indutor de resistência em tomateiro no controle de *M. incognita*; (5) identificar, através do fracionamento bioguiado, classes de compostos químicos presentes em *C. ambrosioides* com ação nematicida; (6) estudar o ciclo de vida e gama de hospedeiros de uma nova espécie do nematoide das galhas, *M. konaensis*. Os ensaios realizados *in vitro* indicaram que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* nas concentrações de 5 e 10% inibiram a eclosão de juvenis de *Meloidogyne* spp em até 99% e provocaram a mortalidade de J₂ de até 99,8%. O extrato preparado com folhas secas armazenadas por 70 dias manteve a atividade nematicida. A aplicação do extrato aquoso ao solo e a imersão de raízes infectadas de tomateiro no extrato vegetal causaram a redução da infecção de *M. incognita* em até 99,3% e 96%, respectivamente. O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* aplicado 24 horas antes da inoculação com o nematoide pode ter ativado mecanismos de defesa de mudas de tomateiro cv. Santa Clara, o que provocou a redução da infecção por *M. incognita* em 43,76%. O fracionamento bioguiado do extrato aquoso de *C. ambrosioides* revelou que os compostos ativos contra *M. incognita* estão presentes na fração aquosa do extrato e que a concentração letal do extrato de *C. ambrosioides* contra *M. incognita* foi de 4.500 ppm. Os estudos sobre os aspectos biológicos de *M. konaensis* indicaram que a eclosão de juvenis (J₂) e a sua infectividade em tomateiro 'Santa Clara' foram influenciadas pela temperatura. O ciclo de vida deste nematoide em tomateiro foi de 21 dias e esta espécie é capaz de infectar espécies das famílias Asteraceae, Brassicaceae, Caricaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Lamiaceae e Solanaceae. As informações obtidas nesta pesquisa confirmaram que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* é considerado um produto natural promissor no controle de *Meloidogyne* spp.

Palavras-chave: *Meloidogyne*. Controle alternativo. *Solanum lycopersicum* L.

ABSTRACT

The root-knot-nematode belonging to the genus *Meloidogyne*, constituted by the group of phytonematoids with greater economic importance in the world agriculture. The objective of the treatment of phytopathogenesis, the reduction of use of the nematicides, and the demenate extracts vegetables. The objectives of this work were: (1) to evaluate the in vitro and in vivo effect of the aqueous extract of *C. ambrosioides* leaves on hatching and mortality of juveniles of *Meloidogyne* spp. (2) investigate the storage time of actions in the preservation of the nematicidal activity of the extract; (3) to evaluate the effect of the aqueous extract on soil and immersion of infected plants in the control of *Meloidogyne* spp; (4) to evaluate the aqueous extract as a force inducer in the tomato in the control of *M. incognita*; (5) identify, through bioguided fractionation, classes of chemical substances present in *C. ambrosioides* with nematicidal action; (6) To study the life cycle and host range of a new species of gall nematode, *M. konaensis*. In vitro assays indicated the aqueous extract of *C. ambrosioides* at concentrations of 5% and caused hatching of juveniles of *Meloidogyne* spp by up to 99% and caused a J₂ rate of 99.8%. The extract prepared with dry leaves stored for 70 days maintained a nematicidal activity. The application of the aqueous extract to the soil and the immersion of infected roots of tomato in the vegetal extract caused the reduction of *M. incognita* infection in up to 99.3% and 96%, respectively. The aqueous leaf extract of *C. ambrosioides* was applied 24 times before inoculation with the nematoid may have activated mechanisms of protection of tomato plants cv. Santa Clara, which caused *M. incognita* infection to be reduced by 43.76%. Bioguided fractionation of the aqueous extract of *C. ambrosioides* revealed that the active compounds against *M. incognita* are present in the aqueous fraction of the extract and that the lethal concentration of *C. ambrosioides* extract against *M. incognita* was 4.500 ppm. Studies on the biological aspects of *M. konaensis* have indicated that juvenile hatching (J₂) and its infectivity in 'Santa Clara' tomato can be influenced by temperature. The life cycle of this nematode in tomato was 21 days and this species is able to infect species of the families Asteraceae, Brassicaceae, Caricaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Solanaceae. The information obtained in this research confirmed that the aqueous extract of *C. ambrosioides* is considered a promising natural product in the control of *Meloidogyne* spp.

Keywords: *Meloidogyne* spp. Alternative control. *Solanum lycopersicum* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Plantas de tomateiro cv. Santa Clara 45 dias após o transplântio, avaliadas quanto à eficiência da aplicação do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i>	77
Figura 2 – Sistemas radiculares de tomates cv. Santa Clara após aplicação de extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> . (A) controle positivo (água), (B) extrato a 5% e (C) extrato a 10%.....	80
Figura 3 – Sistemas radiculares de tomates cv. Santa Clara após aplicação de extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> . (A) controle positivo; (B) planta sadia; (C) imersão em extrato 5% por 1 hora; (D) imersão em extrato 5% por 1:30 hora; (E) imersão em extrato 10% por 1 hora e (F) imersão em extrato 10% por 1:30 hora.....	84
Figura 4 – Sistemas radiculares de tomates cv. Santa Clara após aplicação de extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> em solo infestado com <i>Meloidogyne enterolobii</i> . (A) controle positivo; (B) planta sadia; (C) imersão em extrato 5% por 1 hora; (D) imersão em extrato 5% por 1:30 hora; (E) imersão em extrato 10% por 1 hora e (F) imersão em extrato 10% por 1:30 hora.....	85
Figura 5 – Espectro de RMN ¹ H do extrato aquoso de <i>C. ambrosioides</i>	110
Figura 6 – Espectro de RMN ¹³ C do extrato aquoso de <i>C. ambrosioides</i>	111
Figura 7 – Ciclo de vida de <i>Meloidogyne konaensis</i> em tomateiro 'Santa Clara'.....	129
Figura 8 – Galhas de <i>M. konaensis</i> em pimenta cumari do Pará 60 dias após a inoculação.....	136

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Percentual de inibição de eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp. submetidos ao extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10% durante 15 dias..... 68
- Gráfico 2 – Percentual de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp. mortos após 24 e 48 horas de permanência no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10%..... 72
- Gráfico 3 – Percentual de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne incognita* imóveis após 24 horas no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10% armazenados nos períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 dias..... 74
- Gráfico 4 – Percentual de redução do número de galhas em raízes de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas em intervalos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas com *Meloidogyne incognita* após o tratamento..... 88
- Gráfico 5 – Percentual de redução do número de massas de ovos em raízes de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas em intervalos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas com *Meloidogyne incognita* após o tratamento..... 90
- Gráfico 6 – Percentual de redução do número ovos em raízes de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas em intervalos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas com *Meloidogyne incognita* após o tratamento..... 91
- Gráfico 7 – Porcentagem de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne incognita* submetidos ao tratamento com as frações obtidas do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* na concentração de 4.500 ppm. A - Extrato bruto (Controle), B – Fração 1, C- Fração 2; D - Fração 3; E - Fração 4; F - Fração 5; G – Água (Controle)..... 108
- Gráfico 8 – Percentual de eclosão de J₂ de *Meloidogyne konaensis* aos (A) 5, (B) 10, (C) 15 dias e (D) a porcentagem total de indivíduos eclodidos ao final da avaliação submetidos a temperaturas de 5, 15, 25, 30 e 35 °C..... 123

Gráfico 9 – Porcentagem de J₂ de *Meloidogyne konaensis* obtidos em temperaturas de 5 a 35 °C e presentes em raízes de tomateiro cinco dias após a inoculação.. 127

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Média de eclosão de juvenis de segundo estágio (J_2) de *Meloidogyne* spp. submetidos ao extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10% durante 15 dias..... 68
- Tabela 2 – Número de juvenis de segundo estágio (J_2) de *Meloidogyne* spp. vivos, após permanecerem 24 e 48 horas no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 71
- Tabela 3 – Número médio de juvenis de segundo estágio (J_2) de *Meloidogyne incognita* mortos após permanecerem 24 horas no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 73
- Tabela 4 – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e altura da planta (AP), e de plantas de tomateiro cv. Santa Clara cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e tratado com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 77
- Tabela 5 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e tratado com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 78
- Tabela 6 – Médias da altura da planta (AP), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara inoculadas com *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* e submetidas a imersão do sistema radicular em extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 81
- Tabela 7 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara inoculadas com *Meloidogyne incognita* submetidas a imersão do sistema radicular em extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 82
- Tabela 8 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara inoculadas com *Meloidogyne enterolobii* e submetidas a

imersão do sistema radicular em extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	83
Tabela 9 – Médias dos parâmetros vegetativos das plantas de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> e ASM e inoculadas com <i>M. incognita</i>	86
Tabela 10 – Médias do número de galhas (NG) em plantas de tomateiro cv. Santa Clara previamente pulverizadas com extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> e ASM e inoculadas com <i>M. incognita</i>	87
Tabela 11 – Médias do número de massas de ovos (NMO) em raízes de tomateiro cv. Santa Clara pulverizadas com extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> e ASM e inoculadas com <i>M. incognita</i>	89
Tabela 12 – Médias do número de ovos (NO) em raízes de tomateiro cv. Santa Clara pulverizadas com extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i>	91
Tabela 13 – Efeito do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre juvenis de segundo estágio de <i>M. incognita</i>	106
Tabela 14 – Número médio de juvenis mortos e porcentagem de mortalidade relativa de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> submetidos a diferentes concentrações do extrato aquoso e <i>Chenopodium ambrosioides</i> ..	106
Tabela 15 – Número de juvenis de segundo estágio (J ₂) de <i>Meloidogyne incognita</i> mortos após serem submetidos ao tratamento com as frações obtidas do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> na concentração de 4.500 ppm.....	107
Tabela 16 – Concentração mínima letal das frações obtidas sobre juvenis de segundo estágio (J ₂) mortos de <i>Meloidogyne incognita</i> submetidos ao tratamento com as frações obtidas do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> ...	108
Tabela 17 – Média de J ₂ de <i>Meloidogyne konaensis</i> eclodidos após 15 dias de permanência nas temperaturas de 5, 15, 25, 30 e 35 °C.....	122
Tabela 18 – Média de J ₂ de <i>Meloidogyne konaensis</i> encontrados em raízes de tomateiro cinco dias após a inoculação.....	126
Tabela 19 – Avaliação da reprodução de <i>Meloidogyne konaensis</i> (NG – número de	

galhas; NO – número de ovos e FR – fator de reprodução em 44 espécies
vegetais e cultivares 60 dias após a inoculação..... 134

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
3	CAPITULO 1 – ATIVIDADE NEMATICIDA DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne</i> spp.....	59
4	CAPÍTULO 2 – FRACIONAMENTO BIOGUIADO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE <i>Chenopodium ambrosioides</i> PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEMATICIDA	100
5	CAPÍTULO 3 – ASPECTOS BIOLÓGICOS DE <i>Meloidogyne konaensis</i> EM TOMATEIROS E SUAS ESPÉCIES VEGETAIS HOSPEDEIRAS	118
6	CONCLUSÃO	142
	REFERÊNCIAS	139

1 INTRODUÇÃO GERAL

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.), originário dos Andes, é a segunda hortaliça mais cultivada em todo o mundo (FAO, 2017; FILGUEIRA, 2008). No Brasil, esta cultura se destaca, tanto em termos de produção quanto em valor econômico (IBGE, 2019). O tomateiro é uma das hortaliças mais suscetíveis ao ataque de artrópodes-praga e fitopatógenos, requerendo a adoção de medidas fitossanitárias eficientes que elevam os custos de produção (KUROZAWA & PAVAN, 2005).

Dentre os principais grupos de patógenos que atacam a cultura do tomateiro estão os fitonematoides (Filo Nematoda), que estão entre os organismos mais numerosos da terra. Alimentam-se, principalmente, de órgãos subterrâneos de plantas superiores, como raízes, rizomas e tubérculos (NAVES, 2005). Estes organismos são responsáveis por causar consideráveis perdas na produtividade agrícola podendo, em condições favoráveis, comprometer totalmente a produção (TIHOHOD, 1993; FERRAZ & MONTEIRO, 2011).

Os nematoides formadores de galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, constituem o grupo de nematoides fitoparasitas mais importantes no mundo, com mais de 100 espécies descritas (AHMED *et al.*, 2013), e mais de 2.000 espécies de plantas hospedeiras, representando ameaça à produção agrícola mundial (PERRY *et al.*, 2009). Este patógeno ocasiona deformação, subdesenvolvimento radicular e redução na absorção de água e nutrientes, aliado à formação de tumores em todo o sistema radicular, tendo como consequência um menor desenvolvimento da parte aérea, clorose generalizada nas folhas, redução na produtividade e possível morte da planta (MOURA, 1997; TIHOHOD, 2000; VALE *et al.*, 2013).

No Brasil, as espécies do gênero *Meloidogyne* predominantes em cultivo de tomateiro são *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *M. hapla* (Chitwood, 1949), *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 (raças 1 a 4) e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, sendo as mais frequentemente encontradas *M. incognita* e *M. javanica* (EMBRAPA, 2003). Entretanto, no país uma outra espécie, *M. enterolobii* (Yang & Eisenback, 1983), tem causado sérios prejuízos em diferentes culturas, incluindo o tomateiro. Essa espécie foi relatada no estado de São Paulo parasitando e causando perdas econômicas em híbridos de tomateiro conhecidos como resistentes ao nematoide das galhas (CARNEIRO *et al.*, 2006). A espécie *M. konaensis* Eisenback, Bernard & Schmitt, 1994, recentemente relatada no Brasil parasitando naturalmente repolho (*Brassica capitata* L.), mamão (*Carica papaya* L.), noni (*Morinda citrifolia* L.) e canapum (*Physalis angulata* L.) no Ceará (SILVA, 2014; MONTEIRO *et al.*, 2017), é capaz de infectar plantas de tomateiro em condições casa

de vegetação (EISENBACK *et al.*, 1994; MONTEIRO *et al.*, 2017; FREIRE & SANTOS, 2018), o que representa um risco potencial para a cultura.

De acordo com Alvarenga (2004), plantas de tomateiros quando atacadas severamente por *Meloidogyne* spp, apresentam o sistema radicular completamente desorganizado, com poucas raízes funcionais. No início da cultura, as altas infestações desses nematoides podem levar à morte de mudas no campo, e nas plantas sobreviventes, a produção é fortemente afetada em relação à quantidade e qualidade dos frutos.

As perdas causadas por esses nematoides à produção de frutos de tomateiros cultivados em sistema protegido podem variar de 14 a 44% (CHARCHAR & ARAGÃO, 2003). Em campo, quando presente em altas infestações, *Meloidogyne* spp. pode inviabilizar áreas produtivas de tomateiro (SIKORA & FERNANDEZ, 2004).

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). Os métodos de controle mais utilizados para as fitonematoses são: a rotação de cultura, o cultivo de espécies antagonistas em plantio intercalado (consorciado ou em rotação), a incorporação de matéria orgânica, a solarização, o uso de variedades resistentes, o controle biológico e o controle químico (TIHOHOD, 1993; FERRAZ *et al.*, 2012). Este último, que consiste do uso de moléculas com ação nematicida, é o mais impactante ao meio ambiente, além de ser tóxico a animais e ao homem. Atualmente, seu emprego vem sendo mais 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 fitonematoides (FANCELLI, 2005; STANGARLIN *et al.*, 2008; GARDIANO *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2015), visto que as plantas sintetizam diversos tipos de metabólitos secundários, os quais podem exercer atividades de defesa à microrganismos, incluindo os nematoides fitoparasitas (TAIZ & ZEIGHER, 2004; FERRAZ *et al.*, 2012).

Várias espécies botânicas medicinais e ornamentais sintetizam substâncias tóxicas a nematoides como alcaloides, terpenos, glicosídeos cardíacos, taninos, flavonoides, esteroides e lipídios (MOSSA *et al.*, 1991; PARIHAR *et al.*, 2011; FREITAS *et al.*, 2011).

A espécie medicinal *Chenopodium ambrosioides* L., tem sido objeto de várias pesquisas envolvendo a caracterização química de seus constituintes, para fins de uso

medicinal e também para emprego no controle de pragas e doenças de plantas (MARINS *et al.*, 2011), devido a presença de compostos químicos como flavonoides, alcaloides, saponinas e terpenos.

A vantagem adicional do emprego de extratos naturais é que estes 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). Ressalta-se que o estudo da aplicação destes extratos via solo tem resultados significativos no controle de fitonematoides (GARDIANO *et al.*, 2008).

Neste contexto, considerando a importância do tomateiro, os problemas gerados pelo parasitismo de *Meloidogyne* spp. e a necessidade de se buscar alternativas de controle sustentáveis que possam contribuir no manejo do nematoide das galhas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* do extrato aquoso de *C. ambrosioides* no controle do nematoide das galhas em tomateiro, identificar, através do fracionamento bioquímico, classes de compostos químicos em *C. ambrosioides* com ação nematicida como também estudar o ciclo de vida e gama de hospedeiros da nova espécie do nematoide das galhas, *M. konaensis*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A cultura do tomateiro

Características gerais do tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) pertencente à família Solanaceae e ao gênero *Solanum*, originou-se da espécie silvestre *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (TAYLOR, 1986) na América do Sul, na região dos Andes, que compreende a área entre o norte do Chile até o Sul do Equador. Provavelmente foi domesticada pela primeira vez no México e, posteriormente, foi disseminada da Europa para a Ásia meridional e oriental, África e Oriente Médio (PRANCE & NESBITT, 2005; FILGUEIRA, 2008). No Brasil, o tomateiro foi introduzido por imigrantes europeus no final do século XIX (ALVARENGA, 2000). Tornou-se uma das hortaliças mais cultivadas, sendo a segunda mais produzida em todo o mundo e é plantada praticamente em todas as regiões geográficas do planeta sob diferentes sistemas de cultivo e diferentes níveis de manejo cultural (LOPES & STRIPARI, 1998).

Taxonomicamente, o tomateiro pertence à classe Magnoliophyta, ordem Solanales e família Solanaceae. De acordo com Linnaeus, o tomateiro foi classificado no gênero *Solanum*, recebendo a denominação *Solanum lycopersicum* L. Contudo, em 1754, Miller, reclassificou essa planta, em um novo gênero denominado *Lycopersicon*, renomeando o tomateiro como *Lycopersicon esculentum* Mill. (ALVARENGA, 2004). Atualmente, baseado em estudos moleculares e morfológicos mais aprofundados, a classificação inicial, proposta por Linnaeus, foi adotada novamente, confirmando sua proximidade com a batata, *Solanum tuberosum* (PERALTA *et al.*, 2005; JONES, 2008).

O tomateiro é uma planta herbácea, perene e autopolinizável, contudo, é cultivada como anual. Possui caule piloso e flexível quando jovem, tornando-se fibrosa com o passar do tempo, as folhas são alternadas e compostas. O fruto é uma baga de tamanho e formato muito variáveis, internamente os frutos são divididos em lóculos, nos quais as sementes encontram-se imersas na mucilagem placentária (FILGUEIRA, 2008; BRITO JUNIOR, 2012).

O fruto do tomateiro é fonte de diversas vitaminas (A, B e C) e sais minerais, como fósforo, ferro, potássio e magnésio, além de possuir excelente palatabilidade (KEIKO, 1980). Possui, em sua composição 93 a 95% de água e 5 a 7% de compostos inorgânicos (FILGUEIRA, 2008). Além disso, possui baixo valor calórico, baixo teor de massa seca e rico em licopeno, que é um composto bioativo com propriedades antioxidantes, importantes na prevenção de doenças crônicas, especialmente cânceres e doenças cardíacas (ANDREUCETTI *et al.*, 2005; SHIRAHIGE *et al.*, 2010; CRUZ *et al.*, 2012).

O ciclo de cultivo do tomateiro pode variar de 4 a 7 meses, incluindo-se de 1 a 3 meses de colheita. Em casa de vegetação, o ciclo e a colheita podem prolongar-se ainda mais. A floração e a frutificação ocorrem juntamente com a vegetação. A planta possui dois hábitos de crescimento, determinado e indeterminado, que condicionam a condução da cultura (FONTE & SILVA, 2005).

O hábito de crescimento indeterminado é aquele que ocorre na maioria dos cultivares de mesa, destinadas ao consumo *in natura* que são tutoradas e podadas, com caule atingindo mais de 2,5 m de altura. Ocorre dominância da gema apical sobre as gemas laterais, que se desenvolvem menos. O crescimento vegetativo da planta é vigoroso e contínuo, ocorrendo juntamente com a produção de flores e frutos (FILGUEIRA, 2008).

O hábito de crescimento determinado ocorre nas cultivares melhoradas ou desenvolvidas especialmente para cultura rasteira, com a finalidade agroindustrial. As hastes podem atingir apenas 1 m, apresentando um cacho de flores na extremidade. O crescimento vegetativo é menos vigoroso e as hastes crescem mais uniformemente e a planta assume a forma de uma moita. Cada um destes segmentos possui características intrínsecas na sua cadeia produtiva, no que se refere a produção, beneficiamento, processamento e comercialização. (FILGUEIRA, 2008).

O tomateiro possui numerosas cultivares que são didaticamente reunidas em cinco grupos, os quais são divididos conforme as características do fruto e da planta, sendo estes: Santa Cruz, Salada, Cereja, Italiano e Agroindustrial (FILGUEIRA, 2008). O grupo Santa Cruz, representado pela cultivar Santa Clara, que foi a cultivar mais plantada na década de 1990, é o que predomina na cultura tutorada pela notável resistência dos frutos ao manuseio. O tomateiro do tipo cereja *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* tem se tornado uma boa alternativa para os agricultores, uma vez que possui maior rusticidade, tolerância a pragas e doenças, alto valor de mercado, maior produtividade e boa aceitação por parte dos consumidores (AZEVEDO FILHO & MELO, 2001).

Importância econômica da cultura do tomateiro

Mundialmente, o tomate é a segunda hortaliça mais cultivada, sendo a China o maior produtor mundial, seguida da Índia e dos Estados Unidos. Atualmente, o Brasil é o maior produtor da América Latina e ocupa o nono lugar no ranking da produção mundial, com a produção de 4,1 milhões de toneladas, plantadas em uma área de 59.738 hectares (IBGE, 2019). Em 2017, a região Centro-Oeste foi a responsável pela maior produção de tomate, com aproximadamente 1,8 milhão de toneladas, sendo o estado de Goiás o principal

produtor, seguida pelas regiões Sudeste e Sul. A região Nordeste, na safra de 2017, 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, ocupa a 9ª posição no ranking nacional de produção de tomate e, na safra de 2017, foi responsável por 3,29 % da produção nacional, produzindo 123.451 toneladas em 2.532 ha de área plantada, com produtividade de 48.517 kg/ha (IBGE, 2019).

O tomate é uma hortaliça importante, tanto pelos aspectos socioeconômicos quanto pelo teor nutricional e nos últimos anos a produção de tomate para o consumo *in natura* tem passado por grandes transformações tecnológicas. A crescente demanda por hortaliças de qualidade tem impulsionado alterações nas técnicas de produção. Verifica-se gradual substituição do plantio de hortaliças em solo para o cultivo em substrato, principalmente quando a presença de patógenos no solo impossibilita sua exploração (FERNANDES, 2006). Devido à importância que essa cultura representa, o cultivo em ambiente protegido e a utilização de cultivares de elevada produtividade tem sido buscado como alternativas para aumentar a produção e minimizar os problemas comumente encontrados no cultivo convencional (SELEGUINI, 2005; BRITO JÚNIOR, 2012).

O cultivo de tomate é considerado uma atividade de alto risco, principalmente pela grande susceptibilidade da cultura ao ataque de pragas e doenças, oscilações nos preços de mercado e exigências de insumos e serviços (FERNANDES *et al.*, 2007). 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 é afetada por um amplo espectro de patógenos (FILGUEIRA, 2008), incluindo 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), apresentando importância variada, sendo as espécies do gênero *Meloidogyne* as que mais afetam negativamente a cultura.

O gênero *Meloidogyne*

Características gerais

O primeiro relato de plantas infectadas por nematoides em raízes data de 1855, quando Berkeley, trabalhando na Inglaterra descobriu que havia uma associação entre um pequeno verme do solo com a formação de nódulos nas raízes de pepino (MOURA, 1996). No Brasil, tumores em raízes foram constatadas pela primeira vez em 1877 por C. Jobert em cafezais apresentando declínio, na então Província do Rio de Janeiro (FERRAZ &

MONTEIRO, 1995). A referência ao gênero *Meloidogyne* foi feita pelo zoólogo suíço Emílio Goeldi, em 1887, em raízes de cafeeiro que apresentavam pequenas e numerosas estruturas as quais foram denominadas de galhas. Estas continham ovos elípticos e pequenos animais vermiformes, descritos detalhadamente no seu "Relatório sobre a Moléstia do Cafeeiro na Província do Rio de Janeiro". O nome proposto por Goeldi ao nematoide que estudou (1887) foi de *M. exigua*, descrevendo, nessa ocasião, a importância do patógeno para a cultura (MOURA, 1998). Chitwood (1949) revisou o gênero *Meloidogyne*, aceitando *M. exigua* como espécie-tipo e descrevendo cinco novas espécies. O autor postulou que todas as espécies formadoras de galhas pertenceriam ao gênero *Meloidogyne* (LORDELLO, 1992).

Com o decorrer dos anos, novas espécies foram descritas e o gênero *Meloidogyne* tornou-se o de maior importância econômica e de maior interesse no mundo (FERRAZ, 2001). As quatro espécies mais disseminadas são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, associadas às maiores perdas para agricultura mundial (CARNEIRO & ALMEIDA, 2001).

O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, pertence a classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, infraordem Tylenchomorpha, superfamília Tylenchoidea e família Meloidogynidae (KARSEN & MOENS, 2006). As espécies do gênero *Meloidogyne* descrita por Goeldi (1887) constituem uma pequena parte do filo Nematoda, que compreendem os nematoides em geral, incluindo os parasitas do homem, dos animais e de plantas, além de espécies de vida livre presentes no solo, água doce e no mar (MAGGENTI, 1981).

Os nematoides formadores de galhas constituem um grupo polífago de parasitas de plantas economicamente importantes. Estes nematoides estão distribuídos ao redor do mundo, parasitando uma ampla variedade de espécies de plantas superiores (MOENS *et al.*, 2009). Sua ampla distribuição mundial, extensa gama de hospedeiros, habilidade de se reproduzirem em uma faixa ampla de temperatura, a interação com outros organismos patogênicos e seu difícil controle coloca este nematoide dentre os principais patógenos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola mundial (LORDELLO, 1984; SASSER & CARTER, 1985; FERRAZ & MONTEIRO, 2011; JONES *et al.*, 2013).

O parasitismo desses nematoides influencia diretamente o desenvolvimento das plantas, ocasionando deformação, subdesenvolvimento radicular e redução na absorção de água e nutrientes, aliado a formação de galhas em todo o sistema radicular. Estas alterações prejudicam a fisiologia e a nutrição da planta, tendo como consequência um menor desenvolvimento da parte aérea, clorose generalizada nas folhas, redução na produtividade,

além de predispor a planta a outros patógenos, em especial a fungos e bactérias do solo, a estresses ambientais e mesmo causar a morte da planta (TIHOHOD, 2000, ASMUS, 2001, GOMES *et al.*, 2008).

Importância do gênero Meloidogyne

No Brasil, esses nematoides se constituem como fator limitante à produtividade agrícola de diversas culturas como, tomate e outras culturas olerícolas, café, cana-de-açúcar, soja, fruteiras, dentre outras. Mais de 2.000 espécies de plantas já foram relatadas sendo parasitadas por, pelo menos 100 espécies do gênero *Meloidogyne*, representando grande ameaça à produção agrícola em escala mundial (SASSER, 1980).

No Brasil, já foram descritas 20 espécies deste nematoide, sendo estas: *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treb) 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 & Karsen, *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).

Espécies como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* e mais recentemente *M. enterolobii*, são comumente relatadas causando problemas para a agricultura em diversas regiões do país (FERRAZ & MONTEIRO, 2011; CARNEIRO *et al.*, 2006). No final da década de 80, aproximadamente 95% dos prejuízos atribuídos aos nematoides das galhas na agricultura mundial eram causados por *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, (MOURA, 1996). Esta situação continua sendo mantida apesar do elevado número de novas espécies desses gêneros terem sido descritas (CARNEIRO *et al.*, 2016).

Silva *et al.* (2016) realizaram um levantamento das espécies de *Meloidogyne*, em 11 microrregiões no estado do Ceará, e verificaram que as espécies *M. incognita* e *M. enterolobii* foram as mais frequentes nas áreas amostradas, afetando cultivos de hortaliças e de frutíferas. Além disso, verificou-se também a ocorrência de uma nova espécie no Brasil pertencente ao gênero *Meloidogyne*, parasitando mamão, noni, repolho e *Canapum* sp. em quatro localidade do estado do Ceará (SILVA & SANTOS, 2012; SILVA, 2014). A espécie

foi identificada através de estudos morfológicos, biológicos e moleculares como sendo *M. konaensis* Eisenback, Bernard & Schmitt, 1994 (MONTEIRO *et al.*, 2016), esta espécie foi primeiramente relatada e descrita ocorrendo naturalmente em populações isoladas a partir de plantas de café (*Coffea arabica* L.) na ilha do Kona, Havaí, EUA (EISENBACK *et al.*, 1994).

Em geral, a ocorrência dos nematoides das galhas está quase sempre associada a regiões quentes. As espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne* sobrevivem em regiões com temperatura de solo acima de 28 °C. Entretanto, algumas espécies são típicas de clima frio, como a *M. hapla* que é frequentemente encontrada em regiões de clima ameno e tolera temperatura de solo abaixo de 12 °C. As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são mais cosmopolitas, sendo mais frequentes em regiões de clima quente, predominando nas regiões tropicais e são bem adaptadas às diferentes condições climáticas brasileiras (TAYLOR & SASSER, 1978; EMBRAPA, 2003).

As perdas ocasionadas pelos nematoides das galhas no Brasil são estimadas entre 5 e 15%, dependendo da cultura (LORDELLO, 1984). Em tomateiros cultivados em campo, Charchar e Aragão (2003) relataram que as perdas causadas por espécies do gênero *Meloidogyne* podem variar de 14 a 24%, e em estufas, as perdas tendem a ser maiores, variando de 15 a 44%, devido à ocorrência de temperaturas elevadas no interior da estufa.

Aspectos biológicos do gênero *Meloidogyne*

Os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários e são conhecidos por provocarem 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. Tal fato, compromete a absorção de nutrientes e água, provocando subdesenvolvimento, murcha e deficiência nutricional (FERRAZ & MONTEIRO, 2011; FREITAS *et al.*, 2012).

Há uma diferenciação no formato dos corpos dos indivíduos adultos do gênero *Meloidogyne* chamada dimorfismo sexual, em que as fêmeas são globosas e os machos fusiformes (CARNEIRO *et al.*, 2016). A fêmea possui comprimento variando de 0,3 mm a 2 mm e diâmetro médio de 0,4 mm, formato globoso, coloração esbranquiçada, estilete curto e vulva subterminal, próxima ao ânus (LUC *et al.*, 1990; TIHOHOD, 1993).

O ciclo biológico do nematoide das galhas dura em média quatro semanas, com faixa ideal de temperatura de 25 a 30 °C. Este patógeno passa por seis estágios de desenvolvimento: ovo, quatro juvenis (J₁, J₂, J₃, J₄) e adultos, sendo bastante influenciado por

fatores como temperatura, umidade e planta hospedeira. (BLUM, 2006). Cada fêmea é capaz de produzir cerca de 400 a 2.500 ovos, gerando assim, um aumento da população em curtos períodos de tempo (MOENS *et al.*, 2009; FERRAZ & MONTEIRO, 2011).

A fêmea deposita seus ovos em uma matriz gelatinosa denominada massa de ovos, na maioria das vezes, externamente à raiz, podendo também ocorrer internamente no parênquima cortical. Algumas horas após a deposição, inicia-se o desenvolvimento embrionário, no qual ocorrem sucessivas divisões celulares até que ocorre a formação do juvenil de primeiro estágio (J_1). Este indivíduo passa pela primeira ecdise ainda dentro do ovo, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J_2). A eclosão do J_2 ocorre quando as condições ambientais são favoráveis à sua sobrevivência, tais como temperatura apropriada, disponibilidade de oxigênio e níveis de umidade do solo adequados. Assim, o J_2 eclode do ovo por força mecânica exercida por seu estilete, e também pela ação das quitinases, lipases, proteinases e colagenases produzidas nas glândulas esofagianas e liberadas através do estilete (EISENBACK & TRIANTAPHYLLOU, 1991; PERRY *et al.*, 1992; TIHOHOD, 2000; ABAD *et al.*, 2009; MOENS *et al.*, 2009).

A eclosão forçada por algum agente externo pode causar reduções no inóculo pela morte por falta de alimento, devido à eclosão na ausência do hospedeiro (SALGADO *et al.*, 2007). Por outro lado, quanto maior o tempo que o juvenil leva para eclodir após a exposição ao estímulo, maior será o consumo de lipídeos do seu corpo, e, conseqüentemente, menor a infectividade e desenvolvimento (DIAS-ARIEIRA *et al.*, 2002).

Após a eclosão, seguindo um gradiente de concentração de exsudatos radiculares, o J_2 orienta seu movimento em direção à raiz e a penetra na região da zona de alongamento celular. Ao penetrar, o indivíduo J_2 migra no interior da raiz, atravessa o parênquima cortical, alcançando a região de alongamento celular no córtex, onde estabelece o seu sítio de alimentação e inicia o parasitismo. Por meio de seu estilete, o J_2 injeta secreções produzidas em suas glândulas esofagianas as quais causam alterações morfológicas e fisiológicas, causando hipertrofia e hiperplasia de células, dando origem às células gigantes, que aumentam de tamanho e passam a fornecer alimento ao nematoide, que se torna sedentário (TAYLOR & SASSER, 1983; ZHAO *et al.*, 2000; MOENS *et al.*, 2009).

Definido seu sítio de alimentação, o J_2 aumenta de tamanho e seu corpo passa a ter uma forma salsichoide, perdendo a mobilidade e tornando-se sedentário. Nesse estágio começam a multiplicação e o desenvolvimento dos primórdios sexuais. Se ocorrer a formação de apenas um prolongamento no primórdio sexual, desenvolverá um macho. Se formar, bifurcadamente, dois prolongamentos, resultará numa fêmea. Ao atingir o seu máximo

crescimento, o juvenil de segundo estágio passa por outras duas ecdises, originando os juvenis do terceiro estágio (J₃) e posteriormente juvenil do quarto estágio (J₄). Finalmente, ocorre uma quarta e última ecdise, que origina os indivíduos adultos (macho ou fêmea) (LORDELLO, 1984; MOURA, 1996; ZHAO *et al.*, 2000; MOENS *et al.*, 2009; FERRAZ & MONTEIRO, 2011; FERRAZ & BROWN, 2016).

A formação do macho acontece durante o quarto estágio juvenil (J₄), onde este indivíduo sofre uma rápida metamorfose, seu corpo se alonga e adquire aspecto fusiforme, por fim, emergirá um indivíduo completamente desenvolvido, provido de estilete e espículas, e deixa a raiz (ZHAO *et al.*, 2000; MOENS *et al.*, 2009; FERRAZ & MONTEIRO, 2011) .

As fêmeas, após a quarta ecdise, têm seu corpo aumentado, adquirindo formato globoso. O completo amadurecimento da fêmea culmina com o início da postura de ovos. Estas fêmeas produzem ovos durante três semanas, depois desse tempo, cessa a produção, sendo capazes de produzir até 2.500 ovos (MOENS *et al.*, 2009).

Em geral, a reprodução dos nematoides das galhas ocorre por partenogênese, na qual não há a fecundação dos óvulos, podendo ser meiótica facultativa ou mitótica obrigatória. Contudo, em alguns casos raros pode ocorrer por anfimixia. Em condições normais, e com índice adequado de parasitismo, há uma predominância de indivíduos adultos fêmeas (EISENBACK & TRIANTAPHYLLOU, 1991). Entretanto, em condições adversas, os juvenis que originariam fêmeas, tornam-se machos, ocorrendo a formação de testículos ao invés de ovários. Esse fenômeno é conhecido como reversão sexual. Trata-se de um mecanismo de sobrevivência desses nematoides, garantindo a sobrevivência das fêmeas formadas em condições desfavoráveis (FREITAS *et al.*, 2006). No entanto, Costa (2017), relatou a presença de vários machos em raízes de tomateiro 'Santa Clara' 40 dias após inoculação, cujo número aumentou aos 60 dias após inoculação. Relato de grande número de machos foi também realizado por Silva em raízes de cóleus (*Solenostemus scutelerioides* L. (Codd.)).

***Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919; Chitwood, 1949)**

A espécie *M. incognita* destaca-se como uma das mais importantes dentro do gênero *Meloidogyne*, pois trata-se de uma espécie polífaga, com ampla distribuição mundial, sendo comumente encontrada em regiões de clima tropical e temperado (MOURA, 1996; TRUDGILL & BLOK, 2001; KARSSSEN & MOENS, 2006). Em um levantamento realizado por Campos (2000), verificou-se que em 97% das espécies vegetais parasitadas por

Meloidogyne encontram-se as espécies *M. incognita* e *M. javanica*, infectando plantas daninhas, espécies florestais, frutíferas, culturas anuais e perenes e hortaliças em geral.

Apesar de se reproduzirem por partenogênese mitótica, a espécie *M. incognita* apresenta uma rápida colonização e adaptação em ambientes desfavoráveis e isso, possivelmente, lhe confere vantagens em termo de parasitismo e capacidade de causar danos em plantas, uma das razões pelas quais é considerada uma das mais destrutivas patógenos do mundo (TRUDGILL & BLOK, 2001).

A capacidade de parasitar uma extensa gama de espécies vegetais e cultivares, é devido a variabilidade genética existente em *M. incognita*, podendo ser observada pela existência de quatro raças fisiológicas (SASSER, 1980) e por fenótipos isoenzimáticos variantes (SANTOS *et al.*, 2012; MONTEIRO, 2016).

A identificação de raças pode ser feita utilizando hospedeiras diferenciadoras, tendo como base a preferência alimentar, gerando uma resposta positiva ou negativa à infecção em determinadas espécies vegetais. As raças de uma mesma espécie de *Meloidogyne* não podem ser diferenciadas morfológica, bioquímica ou molecularmente (HARTMAN & SASSER, 1985; FREITAS *et al.*, 2006).

As quatro raças de *M. incognita* reproduzem-se em tomateiro ‘Rutgers’; em melancia (*Citrulus lanatus* L.) ‘Charleston Gray’ e em pimentão (*Capsicum annum* L.) ‘Early California Wonder’ e, variam na resposta ao fumo (*Nicotiana tabacum* L.) ‘NC 95’ e ao algodão (*Gossypium hirsutum* L.) ‘Deltapine 61’, ocorrendo ou não a presença de galhas. Nenhum dos quatro biótipos se multiplica em amendoim (*Arachis hypogaea* L.) ‘Florunner’ (HARTMAN & SASSER, 1985).

Considera-se raça 1, quando não ocorre infecção em algodão e fumo; a raça 2 quando infecta apenas fumo; raça 3 quando infecta apenas algodão e raça 4 quando há infecção em ambas as espécies. No mundo, a raça que ocorre com mais frequência é a raça 1, segundo Tihohod (1993); Moura (1996) 67% são da raça 1, 8% da raça 2, 11% da raça 3 e raça 4 com 4% de ocorrência em plantas.

As fêmeas de *M. incognita* apresentam corpo em formato globoso. Seus padrões perineais típicos são arco dorsal elevado, anguloso, sulcos laterais ausentes, campo lateral apresentando estrias com bifurcações e interrupções (EISENBACK, 1985; HUNT & HANDBOO, 2009). Os machos possuem corpo em formato vermiforme, são migradores e medem 700-2.000 µm de comprimento (HUNT & HANDBOO, 2009).

A observação dos padrões da região perineal de *Meloidogyne* spp. foi uma das principais formas utilizadas na identificação de espécies do gênero. Entretanto, nas últimas

décadas, essa técnica passou a ser menos utilizada, devido à ocorrência de variações nas configurações perineais, dentro e entre as espécies, resultando em identificações equivocadas (FERRAZ & MONTEIRO, 2011; MOURA, 1996; CARNEIRO *et al.*, 2016). Atualmente, técnicas moleculares e bioquímicas têm sido estudadas e utilizadas como ferramenta para identificação de fitonematoides, dentre elas o uso de marcadores isoenzimáticos, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), sequenciamento de DNA e análises filogenéticas (CARNEIRO *et al.*, 2005; BLOK & POWERS, 2009). Os padrões enzimáticos se mostraram úteis na identificação das quatro espécies mais comuns dos nematoides das galhas *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. hapla*) (CARNEIRO *et al.*, 2000, MONTEIRO, 2016).

Meloidogyne arenaria (Neal, 1889) Chitwood, 1949

A espécie *M. arenaria* é cosmopolita, podendo ser encontrada em regiões tropicais e subtropicais, e é raramente encontrada em regiões frias (CARNEIRO *et al.*, 2008). É a espécie com maior variação morfológica, isoenzimática, citológica e molecular, dentro do gênero *Meloidogyne* (EISENBACK & TRIANTAPHYLLOU, 1991), e se reproduz por partenogênese mitótica obrigatória (TRIANANTAPHYLLOU, 1985).

O primeiro relato de *M. arenaria* ocorreu nos Estados Unidos (Flórida), parasitando plantas de amendoim, ainda no século XIX. No Brasil, foi relatada na década de 1950, infectando a cultura da soja. Trata-se de uma espécie altamente polífaga, que ataca uma extensa lista de monocotiledôneas e dicotiledôneas. A cultura do amendoim é considerada como sendo uma importante espécie hospedeira, entretanto há populações da espécie *M. arenaria* que não conseguem parasitá-la (SILVA, 2014).

São reconhecidas duas raças de acordo com as hospedeiras diferenciadoras: a raça 1 que causa infecção em amendoim e a raça 2 que não causa infecção em amendoim. A raça 1 dessa espécie parasita as cultivares de pimentão ‘Early California Wonder’ e amendoim ‘Florunner’, enquanto que a raça 2 não parasita pimentão e amendoim (HARTMAN & SASSER, 1985).

As populações de *M. arenaria* apresentam mais variações em seus padrões de configuração perineal e enzimático que as outras espécies também muito comuns como *M. javanica*, *M. incognita* e *M. hapla*. Seu padrão perineal varia de oval a arredondado, geralmente com arco dorsal baixo, achatado com estrias lisa ou ligeiramente ondulada, contínua ou quebrada, ligeiramente inclinada para a ponta da calda na linha lateral e formação de ombros na porção lateral do arco. Em *M. arenaria* são observados três fenótipos de esterase mais comuns (A1, A2 e A3). O fenótipo de atividade da enzima malato

desidrogenase, varia de N1 a N3 de acordo com a população (ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU, 1985; CARNEIRO *et al.*, 2000; COFCEWICZ *et al.*, 2005).

A reprodução de *M. arenaria* ocorre por partenogênese mitótica, e a duração do ciclo de vida dura, em média, de 3 a 4 semanas, sendo o ciclo mais curto em faixas de temperaturas de 25 a 27 °C. Em hospedeiros menos favoráveis, a duração pode se estender por períodos mais longos (HARTMAN & SASSER, 1985).

***Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback, 1983**

O primeiro relato desta espécie ocorreu na ilha de Hainan no sul da China, parasitando raízes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, (YANG & EISENBACK, 1983). No Brasil, a espécie *M. enterolobii* foi assinalada pela primeira vez nos municípios de Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), em plantios comerciais de goiabeira causando danos severos. Inicialmente, esta espécie foi descrita como *M. mayaguensis* (CARNEIRO *et al.*, 2001). Entretanto, após estudos envolvendo análises morfológicas, gama de hospedeiros, fenótipos de isoenzimas e sequenciamento do DNA mitocondrial (mtDNA), verificou-se que se tratava da espécie anteriormente descrita (XU *et al.*, 2004). Deste modo, o nematoide anteriormente conhecido como *M. mayaguensis* passou a ser considerado como sinonímia de *M. enterolobii* (PERRY *et al.*, 2009).

O parasitismo por *M. enterolobii* causa declínio generalizado da espécie hospedeira. Em goiabeira, os sintomas característicos nas raízes são os de galhas, apodrecimento e ausência de raízes finas e na parta aérea bronzeamento, amarelecimento, queima dos bordos e queda da folha e, frequentemente, o nematoide provoca a morte da planta (GOMES *et al.*, 2008).

Após o seu primeiro relato em 2001, esta espécie foi detectada em diferentes regiões do país, parasitando goiabeiras em plantios comerciais nos estados do Rio de Janeiro (LIMA *et al.*, 2003), Rio Grande do Norte (TORRES *et al.*, 2004), Ceará (TORRES *et al.*, 2005), São Paulo (ALMEIDA *et al.*, 2006), Paraná (CARNEIRO *et al.*, 2006), Piauí (SILVA *et al.*, 2006), Espírito Santo (LIMA *et al.*, 2007), Mato Grosso do Sul (ASMUS *et al.*, 2007), Santa Catarina e Rio Grande do Sul (GOMES *et al.*, 2008) e Minas Gerais (NEVES & MONTEIRO, 2010).

Esta espécie de nematoide, no entanto, é considerada polífaga, uma vez que parasita numerosas outras espécies vegetais incluindo olerícolas, ornamentais, fruteiras, culturas anuais e inclusive araçazeiros selvagens (MARANHÃO *et al.*, 2001; CARNEIRO, 2003; LIMA *et al.*, 2003; ALMEIDA *et al.*, 2008) e plantas daninhas (RICH *et al.*, 2009).

No submédio São Francisco o ataque do nematoide *M. enterolobii* provocou redução da área plantada de goiabeira de 6.000 para 1.668 hectares, em apenas seis anos. Nos pomares que ainda se cultivam a goiabeira, a doença continua a avançar de forma que os especialistas estimam uma redução 10% ao ano da produção, o que torna uma ameaça concreta à permanência do cultivo da goiaba para os produtores da região (RIBEIRO & CASTRO, 2007).

A configuração perineal das fêmeas de *M. enterolobii* varia de circular a ovalada, tendo seu arco dorsal variando de arredondado a trapezoidal, podendo ser alto ou baixo. As estrias são largamente espaçadas com a região da cauda grande, circular e geralmente sem estrias, com as linhas laterais quase sempre ausentes. Nos machos, a região cefálica é alta e retangular e não projetada para fora do corpo. Na fase de juvenil de segundo estágio, a cauda afila-se gradualmente até a ponta terminal (CARNEIRO *et al.*, 2001).

A capacidade de infectar plantas resistentes a outras espécies de *Meloidogyne* caracteriza a espécie de *M. enterolobii* como sendo altamente virulenta e a torna uma ameaça à diversas outras culturas de interesse econômico. Estudos mostraram que *M. enterolobii* foi capaz de quebrar a resistência do tomateiro cv. Rossol, da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) cv. CDH e da soja (*Glycine max* L.) cv. Forest, todas resistentes a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (CARNEIRO *et al.*, 2001; CARNEIRO *et al.*, 2006). Cantu *et al.* (2009), avaliando a resistência de oito porta-enxertos de tomate a *M. enterolobii* considerados resistentes a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, constatou que todas foram suscetíveis a *M. enterolobii*, demonstrando a capacidade de quebra da resistência do gene Mi em tomate e em outras espécies vegetais antes consideradas resistente a *Meloidogyne* spp.

Além da goiabeira, no Ceará, a espécie *M. enterolobii* foi relatada ocorrendo naturalmente em espécies frutíferas, hortaliças, ornamentais, plantas medicinais e invasoras. (SILVA, 2014), confirmando o seu alto grau de polifagia.

As associações de *M. enterolobii* com as plantas daninhas podem torna-las eficientes hospedeiras em áreas cultivadas. Dessa maneira a rotação de cultura ou o alqueive, periodicamente, permitem que essas plantas invasoras sejam eliminadas das áreas cultivadas, evitando a multiplicação dos nematoides e aumento de sua população (CASTRO *et al.*, 2007).

***Meloidogyne konaensis* Eisenback, Bernard & Schmitt, 1994**

A espécie *M. konaensis* foi descoberta em 1991 e descrita em 1994 a partir de populações isoladas de plantas de café (*Coffea arabica* L.) no Havaí, na ilha de Kona, nos Estados Unidos (EISENBACK *et al.*, 1994). Esta espécie limita a produção do cafeeiro no

Havaí conhecida como declínio do café, cujos sintomas são amarelecimento das folhas, murcha e possível morte da planta (EISENBACK *et al.*, 1994; NELSON *et al.*, 2002).

Na década de 1990, com a expansão da cultura do café no Havaí, ocorreu também a disseminação do *M. konaensis* na ilha, provavelmente, devido ao fato da utilização de mudas de café infectadas. Em 2001, 85% das áreas produtoras de café em Kona estavam infectadas com este patógeno, causando uma redução de cerca de 20-25% na produção (NELSON *et al.*, 2002).

No Brasil, o primeiro relato de *M. konaensis*, ocorreu no estado do Ceará, infectando plantas de repolho (*Brassica capitata* L.), mamão (*Carica papaya* L.), noni (*Morinda citrifolia* L.) e canapum (*Physalis angulata* L.) em diferentes localidades do Estado. Através do método de eletroforese de isoenzimas, verificou-se a presença de populações atípicas de *Meloidogyne*, as quais diferiam de todas as espécies de *Meloidogyne* já relatadas no Brasil (SILVA, 2014). Por meio de abordagens morfológicas, morfométricas, citológicas, bioquímicas, hospedeiras diferenciadoras e técnicas moleculares, foi possível a identificação da espécie como sendo a mesma do Havaí, *M. konaensis*. Contudo, os isolados encontrados no Brasil não causam infecção no cafeeiro (MONTEIRO, *et al.*, 2016).

Diferentemente do Brasil, o *M. konaensis* no Havaí foi encontrado, ocorrendo naturalmente, apenas em café. Entretanto, verificou-se que, em condições de casa de vegetação, este nematoide apresentou uma elevada taxa de reprodução em tomateiro, além da capacidade de se desenvolver em uma ampla faixa de temperatura (ZHANG & SCHMITT, 1994).

O corpo das fêmeas tem formato de pera, podendo variar no tamanho, apresentando, na maioria das vezes, pescoço longo e proeminente e curvados para vários ângulos do corpo. Os padrões perineais são variáveis em formato e são similares a *M. incognita* com arco dorsal alto e quadrangular e a *M. arenaria* com o arco dorsal baixo e arredondado. As estrias são grossas e, em alguns casos suavemente contínuas a onduladas, algumas vezes com linhas laterais (EISENBACK *et al.*, 1994; MONTEIRO *et al.*, 2016).

Os machos possuem corpo vermiforme, arredondado posteriormente. A região labial é alta e arredondada, e a região anterior sem anelações. O estilete com grandes projeções na haste, é o carácter diagnóstico mais utilizado para identificar *M. konaensis* (EISENBACK *et al.*, 1994; MONTEIRO *et al.*, 2016).

Os padrões perineais desta espécie podem variar entre as características dos padrões de espécies como *M. arenaria* e *M. incognita*. Em estudos realizados no Havaí, observou-se que *M. konaensis* apresenta três fenótipos diferentes de esterase, sendo estes Est

F1 (=Est P1), Est I1 (= *M. incognita*) e Est F1I1, variando de acordo com a espécie hospedeira (SIPES *et al.*, 2005).

Métodos de controle de fitonematoides

Vários métodos de controle têm sido empregados, buscando manter as populações de fitonematoides abaixo do nível de dano econômico, contudo, nem sempre isso ocorre. A melhor medida a ser tomada para manejo desses patógenos, ainda é a preventiva, evitando a introdução dos mesmos em áreas livres. As medidas fitossanitárias preventivas que podem ser recomendadas incluem a introdução de materiais propagativos sadios, limpeza de implementos e máquinas agrícolas e o uso de botas e pneus limpos. A análise prévia do solo e de raízes de vegetação espontânea presentes em áreas de histórico desconhecido é também um cuidado que deve ser observado no controle do patógeno (TIHOHOD, 1993; FERRAZ *et al.*, 2012)

Uma vez que o nematoide foi introduzido nas áreas de cultivo, é necessário adotar práticas que mantenham a população de fitonematoides em baixos níveis, para permitir a utilização do local, visto que, após seu estabelecimento no campo a sua erradicação é muito difícil (TIHOHOD, 1993).

Tem-se dentre as principais medidas de controle para fitonematoides práticas como a rotação de culturas, o uso de plantas antagonistas, as culturas armadilhas, as variedades resistentes, o pousio, a solarização, o revolvimento do solo, o controle biológico e o controle químico (FERRAZ *et al.* 2012).

Durante muito tempo, o uso de nematicidas foi o método mais utilizado no controle de fitonematoides, devido a sua elevada eficiência e relativa facilidade de aquisição e de sua aplicação. Contudo, a busca por uma exploração agrícola sustentável, economicamente viável e que não agrida o meio ambiente e a saúde humana e animal, tem causado restrições no uso desses produtos. Embora este método represente a possibilidade mais viável do ponto de vista econômico após o estabelecimento da cultura, também tem demonstrado inúmeras limitações, como por exemplo, a natureza temporária do controle obtido, a possibilidade de acumulação dos resíduos tóxicos no solo e risco a saúde humana (CHITWOOD, 2002; STARR *et al.*, 2007). Este fato, tem alavancado estudos por métodos alternativos de controle que atendam estes requisitos e sejam eficientes no controle dos fitonematoides.

Uma das possibilidades para o controle de fitonematoides, consiste em manter uma área infestada sem o cultivo de espécies vegetais por algum tempo, técnica denominada de pousio. Ao realizar esta prática, é possível observar uma redução significativa na

população de nematoides. No entanto, essa prática nem sempre é eficiente. Em áreas mantidas em pousio durante oito meses, verificou-se, após o transplante de goiabeiras, a presença de *M. enterolobii*. Sugerindo a sobrevivência de ovos dormentes, em níveis populacionais não detectado (SOUZA *et al.*, 2006).

Métodos de controle cultural, como a rotação de culturas com espécies não hospedeiras e/ou antagonistas de nematoides, apresentam resultados positivos para o controle desses patógenos (COSTA & FERRAZ, 1990). Este método mantém as populações dos nematoides abaixo do nível de dano econômico, e não oferecem riscos ao ambiente (FERRAZ & VALLE, 2001). Entretanto, se torna pouco viável, principalmente, em culturas perenes, que apresentam grandes dificuldades para a implementação de tais metodologias (SASSER & CARTER, 1985; STARR *et al.*, 2002).

O gene *Mi*, identificado há mais de cinquenta anos, confere resistência às plantas de tomateiro quanto à infecção pelas espécies de nematoides das galhas *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (GILBERT & MCGUIRE, 1956). Os nematoides são atraídos e penetram nas raízes, contudo, em plantas resistentes não há formação do sítio de alimentação, impossibilitando o J₂ de desenvolver o parasitismo. Ao invés disso, desenvolve-se ao redor da região anterior dos juvenis um conjunto de células necróticas. Esse mecanismo de defesa é denominado de reação de hipersensibilidade (DROPKIN, 1967).

Em culturas portadoras do gene *Mi*, os nematoides de galhas são controlados pelo uso desse gene de resistência, o qual é proveniente da espécie *Lycopersicon peruvianum* (L.) Mill, 1768, que foi empregado para conferir resistência a tomateiros comerciais. No entanto, já foram relatadas que populações de *M. enterolobii* foram capazes de quebrar a resistência conferida por este gene em diferentes espécies botânicas, tais como o feijoeiro comum (IPA-9), o caupi (IPA-206) e os cultivares de tomateiros Santa Cruz e Viradouro, portadores do gene *Mi* de resistência, os quais se comportaram como suscetíveis à essa espécie de nematoide (RODRÍGUEZ *et al.*, 2007),

O uso da resistência genética é um dos métodos de controle de fitonematoides mais eficientes e econômicos (ROBERTS, 1982). A utilização desse método tem como vantagens a diminuição dos riscos de contaminação do ambiente, a supressão da reprodução dos nematoides, não requerendo equipamentos especiais para a sua utilização e não trazendo 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).

Os fitonematoides possuem uma grande quantidade de inimigos naturais, como fungos, ácaros, bactérias, nematoides predadores, dentre outros (DIJKSTERHUIS *et al.*, 1994). De acordo com Baker & Cook (1974), este mecanismo de controle envolve a ação de um ou mais organismos, resultando na redução de populações de nematoides ou afetando a capacidade dos mesmos em se alimentarem ou causar danos nas plantas. Segundo os mesmos autores, o controle biológico pode ocorrer de forma natural, pela manipulação do ambiente ou pela introdução de um ou mais organismos antagonistas na área.

O uso de produtos à base de microrganismos tem aumentado a cada dia, porém, ainda é uma alternativa pouco estudada e pouco aplicada em nível de campo. O controle biológico dos nematoides apresenta inúmeras vantagens em relação ao controle químico, tais como: não causam efeito danoso ao ambiente; não deixam resíduos nos produtos colhidos; não favorecem o surgimento de formas resistentes dos nematoides e não causam desequilíbrio na biota do solo (SOARES, 2006).

O fenômeno da indução de resistência também conhecido como indução de proteção ou imunidade adquirida é definida como a ativação dos mecanismos latentes de resistência em uma planta através de tratamentos com agentes externos que podem ser bióticos (microrganismos) ou abióticos (moléculas químicas), sem que haja qualquer alteração do genoma da planta tem sido utilizado no controle de fitonematoides (BENHAMOU & BELANGER, 1998; ROMEIRO, 2000; CAVALCANTI *et al.*, 2005).

A indução de resistência pode ocorrer em condições controladas e também no campo, este método de controle apresenta vantagens como possuir um amplo espectro de ação contra microrganismos, atua de forma sistêmica, pode ser transmitido por enxertia e não impõe pressão de seleção sobre o patógeno, dificultando a quebra de resistência. Por outro lado, em alguns casos, a resistência pode ser parcial, incompleta e com o decorrer do tempo pode ser necessário a reativação da indução com novas aplicações do agente indutor (SILVA & RESENDE, 2001).

Uso de extratos vegetais no controle de fitonematoides

Alternativas de controle que sejam eficientes e garantam a sustentabilidade dos agroecossistemas têm sido bastante estudadas. O uso de 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 e reduzindo os

danos causados pelos nematoides (MORILLO; SILVA, 2015; MARTINS; SANTOS, 2016; FERREIRA *et al.*, 2013; 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).

O incremento da demanda de produção orgânica cria a necessidade de novas tecnologias e produtos que viabilizem esse modelo de produção. Entre as muitas táticas utilizadas pelos produtores, o uso de plantas e seus metabólitos secundários vêm recebendo atenção especial. Cabe lembrar, que as propriedades das plantas são dependentes de sua constituição química, e que essa pode ser influenciada por uma série de fatores como: idade e estágio vegetativo da planta, pH do solo, estação do ano entre outros (SILVA *et al.*, 2006).

Além da atividade inibitória apresentada pelos metabólitos secundários produzidos pelas plantas, Bettiol *et al.* (2006) e Carvalho *et al.* (2009), salientaram que o uso de produtos naturais no manejo fitossanitário das culturas tornam os produtos mais atrativos ao consumidor, pelo fato de não apresentarem resíduos tóxicos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, ainda que empregados em quantidades elevadas.

Os metabólitos são formados a partir do metabolismo secundário das plantas e não são essenciais para o organismo sintetizador, estando geralmente relacionados com os mecanismos de defesa (HOCHULI, 2001; TAIZ & ZEIGHER, 2004). Estes metabólitos apresentam diversas funções importantes, dentre elas a proteção contra o ataque de patógenos e herbívoros, alelopatia, atração de organismos favoráveis como os polinizadores, além das ações de proteção contra os estresses abióticos (mudanças na temperatura, raios solares, dentre outros) (EHLERT *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2016). Os metabólitos secundários podem ser usados como medicamentos e no controle de pragas e doenças, de maneira direta ou indireta (ARNASON *et al.*, 1990) e seus efeitos variam, sendo tóxicos, repelentes, inibindo o crescimento desenvolvimento e alimentação, interferindo no sistema hormonal, causando até mesmo morte do organismo (BELL *et al.*, 1990).

De acordo com Campos *et al.* (2014) os compostos produzidos pelo metabolismo secundário incluem substâncias aromáticas, ácidos fenólicos, alcaloides e óleos essenciais (OE). Dentre esses grupos, os OE são os produtos de plantas que apresentam grandes potencialidades no controle de doenças de plantas, uma vez que possuem propriedades antifúngicas, antibacterianas, inseticidas e nematicidas, apresentando compostos que podem substituir os agroquímicos (MONTEIRO *et al.*, 2014; TOMAZONI *et al.*, 2016; TORRENEGRA-ALARCON *et al.*, 2016; URIAS-ORONA *et al.*, 2016).

Plantas que possuem efeitos antagônicos a nematoides são promissoras para o controle alternativo desse grupo de patógenos, podendo ser utilizadas em rotação de culturas, plantio intercalar ou aplicadas como tortas ou extratos vegetais (OLIVEIRA *et al.*, 2005). A utilização de extratos poderá ser uma ferramenta adicional para o uso integrado com outras práticas dentro do manejo de nematoides (FERRAZ *et al.*, 2010).

O controle de fitonematoides via extratos ou óleos de origem vegetal com propriedades nematicidas tem sido estudada por diversos pesquisadores em todo o mundo, onde são testados metabólitos e componentes químicos no controle do nematoide das galhas (FERRIS & ZENG, 1999; CHITWOOD, 2002; MOREIRA *et al.*, 2015).

O potencial nematicida das espécies vegetais se dá pelo fato de possuírem uma série de compostos, tais como proteínas, alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos e compostos fenólicos que são tóxicos aos nematoides (CHITWOOD, 2002; CUNHA *et al.*, 2003; DEMUNER *et al.*, 2003). Trabalhos realizados por Almeida *et al.* (2012), Baldin *et al.* (2012), Mateus *et al.* (2014), Faria *et al.* (2015) Roncato *et al.* (2018) têm avaliado e comprovado a eficácia de extratos vegetais sobre diferentes espécies de *Meloidogyne*.

Compostos químicos com ação nematicida foram isolados 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).

Os extratos e óleos essenciais de plantas medicinais também são utilizados como eliciadores na indução de resistência, onde a planta expressa um aumento na capacidade de defesa a um amplo espectro de organismos, incluindo pragas e patógenos. Neste caso, a planta ativa os seus mecanismos de defesa após a percepção de estímulos bióticos ou abióticos. A utilização de extratos vegetais no manejo de doenças como indutor de resistência apresenta eficácia comprovada em diferentes patossistemas (STANGARLIN *et al.*, 2011). Em ensaios realizados por Formentine (2012), observou-se um aumento da atividade da enzima quitinase em plantas de tomateiro pulverizadas com extratos aquosos de cúrcuma (*Curcuma longa*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e inoculadas com *M. incognita*, resultando na diminuição do número de galhas e número de ovos, indicando atividade indutora desses extratos.

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.

LOPES *et al.* (2005), analisando ação de compostos extraídos por meio do uso de extratos aquosos de folhas e de sementes de mucuna-preta, a 0,1 g.mL⁻¹, pulverizados em plantas de tomateiro, verificaram uma redução significativa do número de galhas e de ovos nas plantas inoculadas com *M. incognita* de 26,5% e 29,7%, respectivamente, em relação à testemunha em que foi aplicada água destilada. Ao realizar estudos *in vitro*, Bharadwaj e Sharma (2007) observaram a inibição da eclosão de J₂ de *M. incognita* em 100%, após 48 horas de exposição dos ovos, nas diferentes concentrações 6,6%, 10%, 13,3%, 16,6%, 20%, do extrato aquoso oriundo de folhas de *T. patula* (cravo-de-defunto).

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

Silva *et al.* (2011) afirma que a busca por nematicidas 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 dispõem de poucos recursos para a aquisição de nematicidas químicos no mercado.

Vários extratos vegetais têm sido relatados atuando no controle de nematoides (BALDIN *et al.*, 2012; BORGES *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2013; FRANZENER *et al.*, 2007; LOPES *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2011). No entanto, pouco se sabe sobre as moléculas atuantes, e o mecanismo de ação das mesmas, o que reforça a necessidade de estudos para identificação dessas moléculas oriundas dos vegetais (ROCHA *et al.*, 2006). Embora muitas plantas apresentem potencial para controle de nematoides, a integração com outros métodos é muitas vezes necessária para atingir níveis desejados de controle (OKA, 2010). Diversos constituintes com efeito nematicida foram isolados de espécies vegetais, porém, a purificação de moléculas a partir de extratos vegetais para controle de nematoides, pode não ter a ação nematicida e ou nematostática requerida para o controle, comparado aos extratos vegetais (JAVED *et al.*, 2008).

Com isso, é necessário o desenvolvimento de alternativas não tóxicas ao meio ambiente e aos seres vivos, como o uso de extratos vegetais, porém, com identificação de possíveis moléculas envolvidas no controle de nematoides.

A espécie *Chenopodium ambrosioides*

Entre as espécies vegetais promissoras para utilização no controle de pragas e doenças, destaca-se a espécie *Chenopodium ambrosioides* L. (sin. *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants) (TAVARES & VENDRAMIM, 2005). Trata-se de uma espécie pertencente à família Chenopodiaceae e ao gênero *Chenopodium*, popularmente conhecida no Brasil como mastruz, erva de Santa Maria, erva de bicho, mastruço, menstruço, ambrosina, mentruz, erva-do-formigueiro, chá do México, lombrigueira, erva-mata-pulga, quenopódio, tendo o seu uso largamente difundido pelo país (CRUZ, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O *Chenopodium ambrosioides* é uma planta medicinal cosmopolita, nativa da América Central e do Sul, com provável origem no México (LORENZI, 2002). Apresenta crescimento espontâneo e se desenvolve bem em regiões de clima tropical, subtropical e temperado (KISMANN, 1991). No Brasil, sua distribuição é extensa, ocorrendo em quase todo o território nacional na forma de cultivos comerciais, em quintais ou jardins e crescendo espontaneamente em beiras de estradas ou em terrenos abandonados (ANDRADE, 2013).

É uma planta herbácea de pequeno porte, considerada uma erva perene ou anual e reproduz-se por meio de sementes. Tem caule piloso que atinge, em média, até 1 m de altura, com bastantes ramificações. As folhas possuem tamanhos variados e são de formato alongados, alternas e pecioladas e também são pilosas. As flores são pequenas, verdes, dispostas em espigas axilares. Produz numerosas sementes esféricas, de cor preta que são ricas em óleo (SOUSA *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2006).

Suas propriedades biológicas se encontram bem difundidas em relação ao tratamento de doenças para o homem, constituindo-se como um bom febrífugo, tônico, cicatrizante, antirreumático, antimicrobiano, fungicida e vermífugo (SÉRVIO *et al.*, 2011), sendo o ascaridol seu principal componente ativo.

O monoterpeno ascaridol foi inicialmente isolado de folhas por um farmacêutico alemão em 1895 (DEMBITSKYA *et al.*, 2008). Os pesquisadores Smillie e Pessoa, em 1924, foram os primeiros a comprovarem que as propriedades anti-helmínticas de *C. ambrosioides* atribuem-se ao ascaridol, constituindo teor acima de 50% do óleo essencial. Esse monoterpeno é também um potente inibidor *in vitro* do desenvolvimento de *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis* (MACDONALD *et al.*, 2004). Não são muitas as espécies vegetais que tem a capacidade de produzir o ascaridol. Além de *C. ambrosioides*, esse terpenoide é encontrado no óleo essencial de *Peumus boldus*, *Croton regelianus* e *Artemisia molinieri* (GUPTA *et al.*, 2002; SÁ *et al.*, 2015).

No início dos anos 1900, folhas de *C. ambrosioides* foram hidrodestiladas para produzir óleo essencial de quenopódio, também conhecido como óleo de Batimore. Foi um dos melhores anti-helmínticos utilizados para tratar ascarídeos e ancilostomídeos em humanos e animais. Após relatos de envenenamento e mortes em seres humanos, provavelmente decorrentes de overdoses, seu uso foi descontinuado e resultou em declínio comercial desse óleo (DEMBITSKYA *et al.*, 2008; MACDONALD *et al.*, 2004).

A espécie *C. ambrosioides* é considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das plantas mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro (LORENZI & MATOS, 2002). O uso medicinal desta espécie foi relatado pela primeira vez na literatura europeia no século XVIII, quando o botânico sueco Peter Kalm reporta o uso de *C. ambrosioides* no tratamento do verme intestinal *Ascaris* sp. pelos europeus em colônias americanas (KLIKS, 1985).

Diferentes classes de metabólitos secundários conhecidos por possuírem potentes atividades biológicas já foram relatadas em *C. ambrosioides*. Entre eles, fenóis e flavonoides (JORGE *et al.*, 1986; ALENCAR *et al.*, 2010), saponinas (GUPTA; BEHARI, 1972; OKHALE *et al.*, 2012), alcaloides (HASEEB *et al.*, 1978; HEGAZY; FARRAG, 2007; HALLALA *et al.*, 2010; OKHALE *et al.*, 2012), taninos (ALENCAR *et al.*, 2010; HALLALA *et al.*, 2010), terpenos e esteroides (HEGAZY; FARRAG, 2007; HALLALA *et al.*, 2010; OKHALE *et al.*, 2012).

O óleo essencial de *C. ambrosioides* é rico em ascaridol, p-cimeno (CAVALLI *et al.*, 2004; GBOLADE *et al.*, 2010; NENAAH & IBRAHIM, 2011; CHU *et al.*, 2011), α -terpineno (GBOLADE *et al.*, 2010; NENAAH & IBRAHIM, 2011; HARRAZ *et al.*, 2015), terpinoleno, (Borges *et al.*, 2012) carvacrol (MONZOTE *et al.*, 2006), trans-isoascaridol (CAVALLI *et al.*, 2004; CHU *et al.*, 2011), sendo o terpeno ascaridol o componente majoritário (GUPTA *et al.*, 2002). Em extrato aquoso, foi encontrado alto teor de terpenos esteroidais e galotaninos, além de alcaloides, que possuem elevada atividade nematocida em animais (HALLAL *et al.*, 2010).

A época de coleta da planta é um fator que pode alterar a composição e o rendimento do óleo essencial de *C. ambrosioides*. Torres *et al.* (2006) analisaram a composição do óleo essencial da espécie coletada na Argentina em três épocas do ano: verão, outono e primavera. No verão, o componente majoritário foi α -felandreno (40,0%), o qual é encontrado em traços no outono. Nesta época, são encontrados α -pineno (32,7%) e limoneno (32,5%) em maiores concentrações. Na primavera, essas proporções caem para 17,4% para α -pineno e 27,7% para limoneno. Com relação ao conteúdo de ascaridol, esse se mostrou sem

muitas variações durante as três estações, sendo encontrados 8,6% no verão, 9,2% no outono e 9,5% na primavera.

A forma tradicional de utilização de infusões de *C. ambrosioides* como vermífugo é mais segura do que o uso do óleo essencial da erva contra *Caenorhabditis elegans* (MACDONALD *et al.*, 2004). Carboni e Mazzonetto (2013), avaliaram o efeito da aplicação de 25 ml do extrato de aquoso de *C. ambrosioides* na concentração de 20% no solo no mesmo dia em que foi infestado com 5.000 ovos de *M. incognita* e verificaram redução no percentual do número de galhas e número de ovos em raízes de plantas de tomateiro.

Segundo Mello *et al.* (2006), *C. ambrosioides* apresenta potencial para controle de *Pratylenchus brachyurus*, tanto para rotação de cultura quanto pela aplicação de extrato. Seu óleo essencial é um repelente contra insetos sendo mais eficaz contra os que habitam no substrato do que os que se alimentam da parte aérea da planta (CLOYD & CHIASSON, 2007).

Faria *et al.* (2015), relataram um percentual de 90% de inibição da eclosão de *M. chitwoodi*, quando os ovos deste nematoide foram submetidos à concentração de $2\mu\text{L mL}^{-1}$ dos componentes do óleo essencial de *C. ambrosioides*. Corbani *et al.* (2011) ao avaliar o efeito *in vitro* de diferentes concentrações do óleo essencial de *C. ambrosioides* sobre a eclosão de *M. javanica*, observaram que, quando aplicado na concentração de 40% proporcionou diminuição no percentual de eclosão de juvenis em relação ao controle.

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), observou-se que os extratos de lombrigueira, agrião-do-brejo e mastruz ocasionaram 100 % de mortalidade dos J₂ de *M. incognita* raça 2, após permanecerem por 48 h nos extratos.

Além da atividade nematicida, o extrato e o óleo essencial possuem atividade antiparasitária (BORGES *et al.*, 2012), antifúngica (JARAMILLO *et al.*, 2012), inseticida (JARAMILLO *et al.*, 2012) e acaricida (SOUZA *et al.*, 2015). Oliveira *et al.* (2015) verificaram aumento na quantidade de publicações científicas e depósitos de patentes das diversas atividades de produtos dessa erva ao longo dos anos. No entanto, de um modo geral, a produção tecnológica envolvendo a espécie *C. ambrosioides* é relativamente escassa e tem se desenvolvido de modo mais intenso apenas na China.

Por ser uma planta de grande interesse medicinal e, uma vez que as atividades biológicas estão relacionadas com a presença de metabólitos secundários, são necessários mais estudos sobre os fatores que afetam a composição do óleo essencial de *C. ambrosioides*. Os resultados são importantes para a obtenção de plantas com maior acúmulo dos compostos de interesse e também para a otimização de técnicas de colheita, pós-colheita e extração, tendo em vista a aplicação comercial da planta, já que a variabilidade no teor dos constituintes majoritários e/ou ativos é uma das principais dificuldades de desenvolver fitoterápicos com reprodutibilidade de ação (SÁ; SOARES; RANDAU, 2015).

Os dados da literatura revelam que o óleo essencial e o extrato aquoso de *C. ambrosioides* são bastantes promissores devido as suas diversas atividades biológicas. Contudo, ainda é necessário identificar se há interação entre os compostos químicos responsáveis por suas atividades biológicas e quais os mecanismos de ação no controle de fitonematoides.

REFERÊNCIAS

- ABAD, P., Castagnone-Sereno, P., Rosso, M.N., De Almeida Engler, J., Favery, B. **Invasion, feeding and development**. In: Perry, R.N., Moens, M., Starr, J.L. (Eds.), Root-knot Nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 163 e 181. 2009.
- AHMED, M.; VAN DE VOSSENBERG, B.T.L.H.; CORNELISSE, C; KARSSSEN, G. On the species status of the root-knot nematode *Meloidogyne ulmi* Palmisano & Ambrogioni, 2000 (Nematoda, Meloidogynidae). **Zoo Keys** 362: 1–27. 2013. doi:10.3897/zookeys.362.6352.
- ALMEIDA, E. J. de *et al.* Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 236-241, maio/jun. 2008.
- ALMEIDA, E.J. de *et al.* Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 112-113, jan./fev. 2006.
- 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. **Cultura do tomateiro**. Lavras: UFLA, 2009, 91p.
- 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.
- ALVARENGA, M. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Edit. UFLA, 400p. 2004.
- 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).
- ANDREUCCETTI, C.; FERREIRA, M.D.; TAVARES, M. Perfil dos compradores de tomate de mesa em supermercados da região de Campinas-SP. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.148-152, 2005.
- ARNASON, J.T., PHILOGENE, B.J.R., MORAND, P. Insecticide of plant origin. Washington, DC, American Chemical Society. v. 387. 214p. 1990.
- ARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; MARTINS, I.; SOUZA, J.F.; PIRES, A.Q.; TIGANO, M.S. 2008. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e fungos nematófagos em hortaliças no Distrito Federal, Brasil. **Nematologia Brasileira** 32(2): 135-141. 2008.
- 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.

- ASMUS, G. L.; VICENTINI, E. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 112-115. 2007.
- 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.
- BAKER, K. F. & COOK, R. J. **Biological Control of Plant Pathogens**. Freeman and Company. San Francisco, 433pp. 1974.
- 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.
- BELL, A.; FELLOWS, L.E.; SIMMONDS, M.S.J. Natural products from plants for the control of insect pests. In: Hodgson, E., Kuhr, R.J. Safer insecticide development and use. New York and Basel, Marcel Dekker, p.337-383. 1990.
- BENHAMOU, N. & BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in tomato. **Plant Physiology** 118:1203-1212. 1998.
- BLUM, L. E. B. Fitopatologia: O estudo das doenças de plantas. Brasília: Otimismo, p.258, 2006.
- BORGES, A. R.; AIRES, J. R.; HIGINO, T. M.; MEDEIROS, M. D. DE; CITÓ, A. M.; LOPES, J. A.; FIGUEIREDO, R. C. de Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil, **Exp. Parasitol.** 2012, 132, 123-128.
- BRITO JUNIOR, F. P. DE. PRODUÇÃO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) REUTILIZANDO SUBSTRATOS SOB CULTIVO PROTEGIDO NO MUNICÍPIO DE IRANDUBA-AM. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amazonas**, p. 61, 2012.
- CAMPOS, V. P. **Doenças causadas por nematoides em tomate**. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X. R.; COSTA, H. (Ed.) Controle de doenças de plantas – hortaliças. Viçosa: UFV, Cap. 23, p. 801-884. 2000.
- CANTU, R. R. *et al.* Reação de porta enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 35, n. 3, p. 216-218, 2009.
- CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Primeiro relato de fitonematóide *Meloidogyne mayaguensis* parasitando goiaba (*Psidium guajava* L.) cv. Paluma. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 55-57. 2001.
- 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.; 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.; 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.; 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. Uma visão mundial sobre a ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e outras culturas. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Petrolina, PE. Resumos, p. 22, 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G.; SANTOS, M.F.A.; ALMEIDA, M.R.A.; MOTA, F.C.; GOMES, A.C.M.M. & TIGANO, M.S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology** 10: 819-834. 2008.

CASTELLANOS, G.; RUBÉN, J. Epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 2008 (Acesso em: 20 Jan. de 2019) Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85670103>>

CASTRO, J.M.C.; CARNEIRO, R.M.D.C.; ALMEIDA, M.R.A.; ANTUNES, E.E. Detecção de hospedeiros alternativos de *Meloidogyne mayaguensis* em área de cultivo de goiabeira em Petrolina-PE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos... Nematologia Brasília**, v. 31, n. 2, p.152. 2007.

CAVALCANTI, L.S., BRUNELLI, K.R. & STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: Cavalcanti, L.S., Di Piero, R.M., Cia, P., Pascholati, S.F., Resende, 196 Fitopatol. Bras. 32(3), maio - jun 2007 R.F. Silva et al. M.L.V. & Romeiro, R.S. (Eds.) Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba SP. FEALQ. 2005. pp. 81-124.

CAVALLI, J. F.; TOMI, F.; BERNARDINI, A. F.; J. CASANOVA. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GCMS and ¹³C NMR spectroscopy: Quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound', **Phytochem. Anal.** 2004, 15,275-279.

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.

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

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

CHU, S. S.; HUB, J. F.; LIU, Z. L. Composition of essential oil of Chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Pest Manag. Sci.** **2011**, *67*, 714-718.

COFCEWICZ, E.T.; CARNEIRO, R.M.D.G.; RANDIG, O.; CHAMBRIER, C. & QUÉNÉHERVÉ, P. 2005. Diversity of *Meloidogyne* spp. on *Musa* in Martinique, Guadeloupe and French Guiana. **Journal of Nematology** 37:313-322. 2005.

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.

COSTA, D. C.; FERRAZ, S. Avaliação do efeito antagônico de algumas espécies de plantas, principalmente de inverno, a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.15 p. 61-69. 1990.

COSTA, N. de J. F. Efeito de *Calotropis procera* no controle de *Meloidogyne incognita* e aspectos biológicos do nematoide em tomateiro. 2017. 85 f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

CRUZ, G.L. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil. 5 ed. Rio de Janeiro: Ed. Bertrand Brasil, 599p. 1995.

CRUZ, P.M.F.; BRAGA, G.C.; GRANDI, A.M. Composição química, cor e qualidade sensorial do tomate seco a diferentes temperaturas. **Semina: Ciências Agrárias** 33(4):1475-1486. 2012.

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.

DEMBITSKY V, SHKROB I, HANUS LO. Ascaridole and related peroxides from the genus *Chenopodium*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2008;152(2):209-15.

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.; MIZOBUTS, H. Penetração e desenvolvimento de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Heterodera glycines* em quatro gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.1, p.35-41, 2002.

DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W.; NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi: physiological aspects and structure-function relationships. **Advances Microbiology and Physiology**, 36: 111-143, 1994.

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.

DROPKIN, V. H. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 59, n. 11, p. 1632-1637, 1967.

EHLERT, P.A.D.; MING, L C; MARQUES, M.O.M, FERNANDES, D.M.; ROCHA, W.A; LUZ, J.M.Q; SILVA, R.F. Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s. UNESP, v. 15, n. 1, p. 72-77, 2013.

EISENBACK, J. D.; BERNARD, E. C.; SCHMITT, D. P. Description of the Kona Coffee Root-knot Nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. **Journal of nematology**, v. 26, n. 4, p. 363-74, 1994.

EISENBACK, J.D. & TRIANTAPHYLLOU, H.H. **Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races**. In: Nickle, W.R. (ed.). *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker, New York, p. 191-274. 1991.

EISENBACK, J.D. & TRIANTAPHYLLOU, H.H. **Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races**. In: Nickle, W.R. (ed.). *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker, New York, p. 191-274. 1991.

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. and Carter, C.C. (eds). *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. v. 1: Biology and Control. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development, North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina, p. 95-112. 1985.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistemas de produção: doenças causadas por nematoides**, 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/doencas_nema.htm>. Acesso em: 21 out. 2018

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

FANCELLI, M. Doenças das Cenouras, In: KIMATI, H. (Eds.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.p. 232-237.

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 08 Nov. 2018.

FERNANDES; A. A; M ARTINEZ. H. E. P; SILVA. D. J. H. BARBOSA. J. G; PEDROSA, A. W. Cultivo sucessivo de plantas de tomate oriundas de sementes e propagação vegetativa em sistema hidropônico. **Pesq. Agropec. bras. Brasília**, v. 42, n. 7. p. 1013- 1019, jul. 2007.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. 40 V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja/Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001. p. 15-38.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: NORMA EDITORA, 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, 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, L.C.C.B. & MONTEIRO, A.R. **Nematóides**. In: Bergamim Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. **Manual de Fitopatologia**, v.1. 3º ed. Princípios e conceitos. Cap. 8. p. 168-201. 1995

FERRAZ, S. et al. Extratos e óleos essenciais de plantas. In: _____. **Manejo sustentável de fitonematóides**. Viçosa: UFV, 2010. p.170-186

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 Fitonematóides**. Viçosa: Editora UFV, 2012. 304 p.

FERRAZ, S.; VALLE, L.A.C. **Controle de fitonematóides por plantas antagonicas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 73p.

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, 2013.

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, 2013.

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

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

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.

FORMENTINI, H.M. Avaliação de indutores de resistência biótico, abiótico e extratos vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro Tese (Doutorado em Agronomia) – 90p. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2012.

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.

FREIRE, M. D. S.; SANTOS, C. D. G. Reação de espécies vegetais a *Meloidogyne enterolobii* e eficiência de seus extratos aquosos no controle do patógeno. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 6, p. 2385, 2018.

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, 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, 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.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. 3ª ed. Viçosa: Editora, UFV. 83p. 2006.

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.

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

GBOLADE AA, TIRA-PICOS V, NOGUERIA JMF. Chemical constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. var *anthelminticum* herb essential oil from Nigeria. **Chem Nat Compd.** 2010; 46 (4) 654-5.

GBOLADE, A. A.; TIRA-PICOS, V.; NOGUEIRA, J. M. Chemical constituents of *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminticum* herb essential oil from Nigeria. **Chem. Nat. Prod.** 2010, 46, 654-655.

GILBERT, J.C.; McGUIRRE, D.C. Inheritance of resistance to severe root-knot from *Meloidogyne incognita* in commercial-type tomatoes. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, Geneva, v. 68, p. 437-442, Dec. 1956.

GOBBO-NETO L, LOPES NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim Nova.** 2007;30(2):374-81.

GOMES, V. M. *et al.* Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 154-160, 2008.

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.

GUPTA D, CHARLES R, MEHTA VK, GARG SN, KUMAR S. Chemical composition of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from the southern hills of India. **J Essent Oil Res.** 2002; 14: 93-4.

GUPTA GS, BEHARI M. Chemical investigation of *Chenopodium ambrosioides*. **J Indian Chem Soc.** 1972; 49 (3): 317-9.

HAJDU Z, HOHMANN J. An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. **J Ethnopharmacol.** 2012;139:838-57.

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

HALLALA A, BENALIA S, MARKOUK M, BEKKOUCHEA K, LARHSINIA M, CHAITB A, ROMANEC A, ABBADA A, ABDOUNID MKE. Evaluation of the analgesic and antipyretic activities of *Chenopodium ambrosioides* *Asian J Exp Biol Sci.* 2010;1(4):894-7.

HARRAZ, F. M.; H. HAMMODA, M.; EL GHAZOULY, M. G.; FARAG, M. A.; EL-ASWAD, A. F.; BASSAM, S. M. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the essential oils of *Conyza linifolia* and *Chenopodium ambrosioides*, **Nat. Prod. Res.** 2015, 29, 879-882.

HARTMAN, K.M. & SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: Barker, K.R.; Carter, C.C. & Sasser, J.N. (eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. v.1.: Methodology. Raleigh, NC, USA, North Carolina State University Graphics, p. 69–77. 1985.

HOCHULI, D.F. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behavior, morphology and host use. *Austral Ecology*, 26: 563-570, 2001.
 HUNT, D.J. & HANDOO, Z.A. Taxonomy, identification and principal species. *In*: Perry, R.N.; Moens, N. & Starr, J.L. (eds). *Root-knot Nematodes*. Cambridge, MA, USA, CABI North America Office, p. 55-97. 2009.

IBGE. 2017. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 07 Jan. 2019.

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.

JONES, J. B. **Tomato plant culture: in field, greenhouse, and home garden** / J. Benton Jones, Jr. 2nd ed., 2008. 399 p.

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.

KARSSSEN, G. & MOENS, M. **Root-knot nematodes**. *In*: Perry, R.L. & Moens, M. (eds). *Plant Nematology*, Cambridge, MA, CABI North America Office, p. 59-90. 2006.

KARSSSEN, G. & MOENS, M. **Root-knot nematodes**. *In*: Perry, R.L. & Moens, M. (eds). *Plant Nematology*, Cambridge, MA, CABI North America Office, p. 59-90. 2006.

KEIKO M. **O tomateiro**. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill, 365p. 1980

KETZIS, J. K.; TAYLOR, A.; BOWMAN, D. D.; BROWN, D. L.; WARNICK, L. D.; ERB, H. N. ‘*Chenopodium ambrosioides* and its essential oil as treatments for *Haemonchus contortus* and mixed adult-nematode infections in goats’, *Small Ruminant Res.* 2002, 44, 193-200.

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.

LIMA, I.M., DOLINSKI, C.M.; SOUZA, R.M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos 38 hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**. v. 27, p. 257-258. 2003.

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

LOPES, M.C.; STRIPARI, P.C. A cultura do tomateiro. *In*: GOTO, R.; TIVELLI, S.W. **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora UNESP, 1998. p.257-304.

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

LORDELLO, L.G.E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8ª ed. São Paulo: Editora Nobel.314 p. 1992.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; ROBERTO LUIS PORTZ, R.L. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.1, p. 45-50, 2018

LUC, M.; R.A. SIKORA; J. BRIDGE. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. **CAB International Wallingford, UK**, p. 629.1990.

MACDONALD D, VANCREY K, HARRISON P, RANGACHARI PK, ROSENFELD J, WARREN C, SORGER G. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide that is not toxic to mammalian smooth muscle. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 92, p. 215–221, 2004.

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

MAGGENTI, A. R. **General nematology**. New York, NY; Springer, pp. 1–372. 1981.
Mann, J. Secondary metabolism. Oxford, Clarendon, 374p. 1995.

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.

MARANHÃO, S.R.V.L.; MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R. Reação de indivíduos segregantes de goiabeira a *Meloidogyne incognita* 1 e *M. mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 25, p.191-195, 2001.

MARINS, A.K.; VIEIRA, D.F.; QUADROS, I.P.S.; PINHEIRO, P.F.; QUEIROZ, V.T.; COSTA, A.V. Prospecção fitoquímica das Partes Aéreas da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.) 15º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 6º Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 5º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Jr. São José dos Campos. 2011.

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.

MATTEI, D.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; BIELA, F.; ROLDI, M.; SILVA, T.R.B.; RAMPIM, L.; DADAZIO, T.S.; TAVARES-SILVA, C.A. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* in the control of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.2, p.469-476, 2014.

MELO, T.A.; ARAÚJO, M.U.P.; SERRA, I.M.R.S.; PASCHOLATI, S.F. Produtos naturais disponíveis comercialmente induzem o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.3, p.205-211, 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.

MONTEIRO, J. DA M. DOS S. Caracterização morfológica, enzimática e molecular de populações brasileiras de *Meloidogyne* spp.: identificação e sinonimização de espécies /Jessica da Mata dos Santos Monteiro. **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília - DF, 2016.

MONTEIRO, J. M. S. CARES, J. E.; GOMES, A. C. M. M.; CORREA, V. R.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMEZ, G.; SANTOS, C. D. G.; CASTAGNONE-SERENO P.; CARNEIRO, R. M. D. G. First report of, and additional information on, *Meloidogyne konaensis* (Nematoda: Meloidogyninae) parasitising various crops in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 7, p. 831–844, 2016.

MONTEIRO, T. S. A. et al. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. *Ciência Rural*, Santa Maria , v. 44, n. 7, p. 1149-1154, 2014.

MONZOTE L.; MONTALVO, A. M.; ALMANONNI, S.; SCULL, R.; MIRANDA, M.; ABREU, J. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*, **Chemotherapy** 2006, 52, 130-136.

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.

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.

MORILLO, S. R. C.; SILVA, G. S. Efeito antagonico 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.

MOURA, R. M. Relatório sobre a Moléstia do Cafeeiro na Província do Rio de Janeiro (reedição do original por E. A. Göldi, 1887). Fadurpe/UFRPE, Recife, PE, 1998.

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. In: **Revisão Anual de Patologia de Plantas** 4: 209-245. 1996.

MÜLLER, M.A.; MIORANZA, T.M.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; BATTISTUS, A.G.; ISTCHUK, A.N.; FUCHS, F. In vitro toxicity and control of *Meloidogyne incognita* in soybean by rosemary extract. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.37, p.103-110, 2016.

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).

NELSON, S.; SCHMITT, D. A.; SMITH, V. E. Managing coffee nematode decline. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii. Publication PD-23. 2002.

NENAAH, G. E.; IBRAHIM, S. I. A. Chemical composition and the insecticidal activity of certain plants applied as powders and essential oils against two stored-products coleopteran beetles. **J. Pest Sci.** 2011, 84, 393-402.

NEVES, W.S.; MONTEIRO, T.S.A.; OLIVEIRA, R.D.; CASTRO, D.B. Primeiro relato de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira na região de Jaíba, norte de Minas Gerais. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas** 4:8-11.2010.

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

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., KNOX, D. & BEANE, J. Enzymes released during hatching of *Globodera rostochiensis* and *Meloidogyne incognita*. **Fundamental and Applied Nematology** 15, 283-288. 1992).

PRANCE, G.; NESBITT, M. (Ed.). The Cultural history of plants. London/New York: Routledge, 2005.

RIBEIRO, M., CASTRO, J. M. C. Pesquisadores debatem produção de mudas de goiabeiras livres de nematoides. 2007. Disponível

em:<www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2007/outubro/2a-semanna/pesquisadores-debatem-a-producao-de-mudas-de-goiaberas-livres-de-nematoides>. Acesso em 18 fev 2019.

RICH, J.R.; BRITO, J.A.; KAUR, R.; FERRELL, J.A. Weed species as hosts of *Meloidogyne*: a review. **Nematropica**, v. 39, n.2, p.157-185, 2009.

ROBERTS, P.A. Plant resistance in nematode pest management. **Journal of Nematology**, v.14, p. 24-33. 1982.

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).

RODRÍGUEZ, M.G., L. GÓMEZ & B. PETEIRA. *Meloidogyne enterolobii* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. *Revista de Protección Vegetal* 22: 183-198. 2007.

ROMEIRO, R.S. PGPR e indução de resistência sistêmica em plantas a patógenos. **Summa Phytopathol** 26:177–184. 2000.

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.

SÁ, R.D.; SOARES, L.A.L.; RANDAU, K.P. Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estados da arte. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, 2015; 36(2):267-276. ISSN 1808-4532.

SANTOS, M.F.A.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, M.D.G.; MOTA, F.C.; SILVEIRA, N.O.R.; SILVA, J.G.P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; TIGANO, M.S. & CARNEIRO, R.M.D.G. Biometrical, biological and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. **European Journal of Plant Pathology**. 134:671-684. 2012.

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

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 Reporter**: 64:36-41. 1980

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.

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.

SELLEGUINI A. **Híbridos de tomate industrial cultivados em ambiente protegido e campo, visando a produção de frutos para a mesa**. Ilha Solteira: UNESP. 71p (Dissertação de mestrado). 2005.

SÉRVIO, E. M. L.; ARAÚJO, K. S.; NASCIMENTO, L. R. S.; COSTA, C. L. S.; MENDES, L. M. S.; FILHO, A. L. M. M.; SANTOS, Í. M. S. P. Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos. **ConScientiae Saúde**, 10(3): 441-448. 2011.

SHIRAHIGE FH; MELO AMT; PURQUERIO LFV; CARVALHO CRL; MELO PCT. Produtividade e qualidade de tomates Santa Cruz e Italiano em função do raleio de frutos. **Horticultura Brasileira** 28: 292-298. 2010.

SIKORA, R. A.; FERNÁNDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKSON, D. W. (Ed.). **Nematology – Advances and Perspectives**. Volume II: Nematode Management and Utilization. Beijing & Wallingford, Tsinghua University Press & CABI Publishing, p. 319-392, 2004.

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

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, L. H. C. P.; RESENDE, M. L. V. de. Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: SILVA, L. H. C. P. da; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças. Lavras: UFLA, 2001. p. 221-234.

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, 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, M.C.L. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em áreas agrícolas e dispersão de *M. enterolobii* em pomares de goiabeiras no estado do Ceará. 2014. 108p, Tese de Doutorado – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P.; XU, K. & SERRACIN, M. Esterase polymorphism in *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology** 37(4):438–443. 2005.

SOUZA, R.M.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C.M. Management of the guava root-knot nematode in São João da Barra, Brazil, and report of new hosts. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 165-169, 2006.

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.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A. Defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p.18-46. 2011.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.). Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Badajoz: Formatex, 2011. p.1033-1042.

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

STARR, J.L.; KOENNING, S.R.; KIRKPATRICK, T.L.; ROBINSON, A.F.; ROBERTS, P.A.; NICHOLS, R.L. The future of nematode management in cotton. **Journal of Nematology**, v.39, n.4, p.283-294, 2007.

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

TAYLOR B. Biosystematics of the tomato. In: ATHERTON JG; RUDICH J. The tomato crop: a scientific basis for improvement. New York: Chapman and Hall, p.1-30. 1986.

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

TAYLOR, D.T. & SASSER, J.N. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (*Meloidogyne* species). A Coop. Public. Dept. Pl Pathology, North Carolina State University and USAID, p. 111. 1983.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2000.

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

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 999-1010, June 2016.

TORRENEGRA-ALARCÓN, M. et al. The chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Minthostachys mollis*. *Orinoquia, Meta*, v. 20, n. 1, p. 69- 74, 2016.

TRIANANTAPHYLLOU, A.C. Cytogenetics, taxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: Carter, C.C. & Sasser, J.N. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*, v. 1., **Biology and control**. Raleigh, North Carolina State University Graphics, p. 113-126.1985.

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

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

URIAS-ORONA, V. et al. Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. *Ecosistemas y recur. agropecuarios, Villa hermosa* , v. 3, n. 7, p. 43-50, abr. 2016 .

VALE, F. X. R.; LOPES, C. A.; ALVARENGA, M. A. R. Doenças fúngicas, bacterianas e causadas por nematoides. In: ALVARENGA, M. A. R. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2013. 445p.

XU, J.H., LIU, P.L., MENG, Q.P.; LONG, H. Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p.309-315, 2004.

YANG, B.; EISENBACK, J.D. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae) a Root-knot Nematode Parasitizing Pacara Earpod Tree in China. **Journal of Nematology**, v. 15, p. 381-391, 1983.

ZHANG, F.; SCHMITT, D. P. Host Status of 32 Plant Species to *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 4S, p. 744–748, 1994.

ZHANG, F.; SCHMITT, D.P. Embryogenesis and postinfection development of *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology** 27, 103–8. 1995.

ZHAO, X., SCHMITT, M. & HAWES, M.C. Species dependent effects of border cells and root tip exudates on nematode behavior. **Phytopathology** 90, 1239-1245. 2000.

CAPÍTULO 1 - ATIVIDADE NEMATICIDA E DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DO EXTRATO AQUOSO DE *Chenopodium ambrosioides* L. NO CONTROLE DE *Meloidogyne* spp.

Introdução

Os nematoides parasitas de plantas estão entre os grupos de fitopatógenos mais destrutivos, sendo responsáveis por causarem elevadas perdas para a agricultura em todo o mundo (TRUDGILL & BLOCK, 2001; BABAALI *et al.*, 2017). O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887 é tido como o mais importante em razão de sua ampla distribuição geográfica, por boa adaptabilidade em regiões tropicais e subtropicais, pela numerosa gama de hospedeiros, constituída de mais de 2.000 espécies vegetais, e pelo difícil controle (SASSER *et al.*, 1983; FREITAS *et al.*, 2008; PERRY *et al.*, 2009; KARSSSEN *et al.*, 2013).

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças de maior importância econômica no mundo. Grande parte das áreas de cultivo desta hortaliça são afetadas pelo nematoide das galhas, diminuindo o rendimento da cultura (KUROZAWA & PAVAN, 2005). Plantas de tomateiros quando atacadas por *Meloidogyne* spp. apresentam o sistema radicular completamente desorganizado, com poucas raízes funcionais, podendo levar à morte de mudas no campo, quando no início de cultura. E nas plantas remanescentes a produção é fortemente afetada em quantidade e qualidade dos frutos. Além disso, o ataque desses nematoides torna as plantas mais suscetíveis ao ataque de outros fitopatógenos, como fungos e bactérias (ALVARENGA, 2004; GRECO & DI VITO, 2009). Em condições favoráveis, os danos causados por este patógeno na cultura podem variar entre 30 e 40% (YANG *et al.*, 2011; ANWAR & MCKENRY, 2012).

As principais medidas de controle recomendadas para o manejo do nematoide das galhas são a rotação de cultura, o cultivo de espécies antagônicas em plantio intercalado (consorciado ou em rotação), a incorporação de matéria orgânica, a solarização, o uso de variedades resistentes, o controle biológico e o controle químico (FERRAZ *et al.*, 2012). Contudo, após a introdução e estabelecimento destes nematoides em uma área, seja por mudas infectadas ou equipamentos contaminados, a execução destas práticas de manejo visando sua erradicação são consideradas muito complexas (FERRAZ & FREITAS, 2004).

Em geral, o uso de nematicidas químicos no manejo dos fitonematoides ainda é bastante utilizado. Entretanto, seu uso vem sendo limitado devido ao alto risco de contaminação ambiental, alto custo, alta toxicidade ao ser humano e animais e redução de sua eficácia no controle depois de repetidas aplicações (DONG & ZHANG, 2006). Portanto, a

constante busca de novas práticas de controle, em substituição aos nematicidas químicos constitui-se uma demanda mundial.

O uso de extratos vegetais e óleos essenciais de diferentes espécies vegetais (FERRAZ *et al.*, 2012; MOREIRA *et al.*, 2015) vêm sendo pesquisado como uma alternativa para o controle de diversos patógenos, visto que as plantas sintetizam diversos tipos de metabólitos secundários que podem exercer atividades de defesa à microrganismos, dentre estes, os fitonematoides (TAIZ & ZEIGHER, 2004).

Dentre as espécies botânicas que sintetizam compostos eficientes no controle de fitonematoides destaca-se a *Chenopodium ambrosioides* L., popularmente conhecida como mastruz ou erva Santa Maria. Trata-se de uma espécie nativa do México, estando distribuída em todas as regiões tropicais, subtropicais e temperadas. O óleo essencial de *C. ambrosioides* contém compostos químicos como monoterpenos (KOKANOVA-NEDIALKOVA *et al.*, 2009; CHEKEM *et al.*, 2010; EL-SEEDI *et al.*, 2012), que atuam como fungicida, acaricida, bactericida, nematicida, inseticidas (LORENZI & MATOS, 2002; TAVARES & VENDRAMIM, 2005; JARDIM *et al.*, 2008; PANDEY *et al.* 2012; CARBONI & MAZZONETTO, 2013; PAES *et al.*, 2015).

Aplicações foliares com extratos vegetais como também tratamento de raízes com extratos de diferentes espécies têm mostrado resultados promissores como indutores de resistência (MOLINARI & LOFFREDO, 2006; MELO *et al.*, 2012). Aplicações de extrato via solo é uma outra forma de uso que têm apresentado ação nematicida e/ou indutora de resistência (OKA & COHEN, 2001; SILVA *et al.*, 2011). O fenômeno de indução de resistência em plantas representa um método alternativo no controle de doenças, a qual ativa mecanismos de defesa latentes na planta. Esta resposta de defesa pode ser ativada por uma série de moléculas denominadas de eliciadores, que evitam ou atrasam a entrada e/ou a subsequente atividade nos patógenos nos tecidos vegetais (PASCHOLATI; LEITE, 1995; NOJOSA *et al.*, 2005).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas secas de *C. ambrosioides* sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de espécies do gênero *Meloidogyne* e *in vivo* avaliando o efeito deste extrato em três formas de aplicação do mesmo no controle de *M. incognita* em tomateiro cv. Santa Clara.

Material e métodos

Com intuito de investigar o efeito de *C. ambrosioides* no controle de *Meloidogyne* spp. em tomateiro, foram realizados sete experimentos em condições de casa de vegetação e

no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará em Fortaleza/CE.

Obtenção do extrato aquoso de *C. ambrosioides*

As plantas de *C. ambrosioides* foram coletadas nos municípios cearenses de Guaramiranga, Aquiraz e Fortaleza, no estágio de crescimento ou de florescimento. As folhas foram destacadas e submetidas ao processo de secagem em sacos de papel em estufa de circulação forçada de ar na temperatura de 40 °C durante 72 horas, seguida de pesagens até obtenção do peso constante. Em seguida, as folhas secas foram imersas em água destilada por 24 horas. Decorrido este tempo, as folhas foram trituradas em liquidificador e os extratos filtrados em gaze e centrifugados durante 10 minutos a 2.000 rpm. A proporção utilizada foi de 1 g de folha seca para 10 mL de água. Desta forma, o extrato foi obtido na diluição de 10% (p/v).

Obtenção do inóculo das espécies de *Meloidogyne* spp.

As populações das espécies de *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. enterolobii* e *M. konaensis* foram obtidas a partir de plantas de tomateiro cv. Santa Clara infectadas e mantidas em casa de vegetação (29 ± 4 °C). O método empregado para obtenção dos ovos dos nematoides para os experimentos foi o proposto por Bonetti e Ferraz (1981) que consistiu em triturar as raízes de plantas infectadas utilizando liquidificador com água contendo hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos. Em seguida, a suspensão obtida foi vertida em peneira de 20 mesh (0,840 mm), acoplada à peneira de 100 mesh (0,149 mm) sobre outra de 400 mesh (0,037 mm). A suspensão de ovos obtida foi empregada tanto para os ensaios *in vitro* como para as inoculações. Neste último caso, a suspensão era calibrada, com a contagem de ovos em câmara de Peters utilizando o microscópio estereoscópio, de forma a inocular 5.000 ovos.planta de tomate⁻¹.

Ensaio 1 - Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne* spp.

Nos testes *in vitro*, duas diluições do extrato aquoso de folhas de mastruz foram avaliadas, 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 mastruz 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 em que foram distribuídos 3 mL de cada concentração do

extrato a ser testada, por placa, contendo 50 ovos de cada uma das espécies de *Meloidogyne*, separadamente.

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 ± 2 °C. Decorrido 15 dias, contou-se o número de J₂ eclodidos, através de microscópio estereoscópio.

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (extratos a 5, 10% e água destilada), com 10 repetições em cada tratamento em que a parcela experimental consistiu em uma placa de Petri contendo 50 ovos. Os ensaios foram conduzidos com cada uma das quatro espécies de *Meloidogyne* separadamente, totalizando 120 placas e 6.000 ovos. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico Sisvar.

Ensaio 2 - Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio J₂ de *Meloidogyne* spp.

A avaliação do efeito nematicida do extrato de *C. ambrosioides* sobre os juvenis de *Meloidogyne* spp. foi realizada mediante duas avaliações considerando o tempo de permanência (24 e 48 h) dos juvenis no extrato.

Inicialmente, massas de ovos foram retiradas de raízes de tomateiros infectadas com cada uma das quatro espécies de *Meloidogyne* e transferidas para placas de Petri, separadamente, contendo água destilada. Após 24 horas, 50 juvenis eclodidos foram transferidos para placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro, contendo 3 mL dos extratos de folhas de *C. ambrosioides* (5 e 10%). A testemunha consistiu da suspensão de juvenis em água destilada.

O efeito dos extratos a 5 e 10% sobre a mortalidade de juvenis, foi avaliado 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 uma 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 com seis tratamentos e 10 repetições. A parcela experimental consistiu em uma placa de Petri com 50 juvenis. Os ensaios foram conduzidos em esquema fatorial 2 x 3, 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 cada uma das quatro espécies de *Meloidogyne* separadamente, totalizando 240 placas e 12.000 juvenis. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias, utilizando o *software* estatístico Sisvar.

Ensaio 3 - Avaliação do tempo de armazenamento de folhas secas e da concentração do extrato aquoso de *C. ambrosioides* na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*

Com o intuito de avaliar a atividade nematicida, presente em folhas secas de *C. ambrosioides* com o tempo de armazenamento (0, 30, 60, 90 e 120 dias) realizou-se este ensaio. Inicialmente, folhas de *C. ambrosioides* foram submetidas ao processo de secagem em estufa, a 50 °C por um período de 72 horas. Após secas, as folhas foram trituradas utilizando almofariz e pilão até a obtenção de um material uniforme constituído de pó e de folhas finamente trituradas. Em seguida, cinco tubos falcons foram totalmente preenchidos com o material triturado e dispostos em bandejas plásticas, sendo mantidos em temperatura ambiente de laboratório (25 ± 2 °C). Foram testados os extratos preparados com as folhas trituradas ao final de cada um dos cinco tempos. Cada extrato foi preparado seguindo a proporção de 1g de folhas finamente trituradas postas em Becker de 20 mL com adição de 10 mL de água destilada, procedendo a uma agitação com bastão de vidro por 1 minuto para incorporação da água. Essa mistura permaneceu por 24 horas em Becker coberto com papel alumínio para a obtenção do extrato a 10%, o qual foi filtrado em gaze dupla para eliminar resíduos foliares e facilitar a observação dos juvenis em placas. A diluição a 5% foi obtida empregando uma parte do extrato a 10% e uma parte igual de água destilada (1:1).

Para testar a ação dos extratos sobre a mortalidade de J₂ de *M. incognita*, massas de ovos do nematoide foram retiradas de raízes de tomateiros infectadas e transferidas para placas de Petri, contendo água destilada. Após 24 horas, 50 juvenis eclodidos foram transferidos para placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro, contendo 3 mL dos extratos dos cinco tempos nas concentrações de 5 e 10%. A testemunha consistiu da suspensão de juvenis em água destilada. As placas de Petri foram postas em bandejas de polietileno forradas com papel de filtro umedecido e mantidas a uma temperatura de 25 ± 2 °C.

O efeito dos extratos a 5 e 10% sobre a mortalidade de juvenis, foi avaliado considerando os indivíduos imóveis e os ativos após 24 horas de permanência no extrato. Realizada a contagem após 24 horas nos extratos, os juvenis imóveis foram transferidos para placa de Petri contendo água destilada para observar a possível recuperação da mobilidade.

Decorridas 24 horas em água, foi procedida uma 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 em esquema fatorial (5 tempos de armazenamento x 3 concentrações) com cinco repetições para cada tratamento. A parcela experimental consistiu em uma placa de Petri contendo 50 juvenis, totalizando 150 placas e 7.500 juvenis. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico Sisvar.

Ensaio 4 - Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* em solo infestado com *M. incognita*

Para avaliação do efeito da aplicação do extrato de *C. ambrosioides* em solo infestado com *M. incognita*, alíquotas contendo 5.000 ovos.J₂⁻¹ do nematoide foram distribuídas em três orifícios com 3 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 2 L. Após a distribuição do inóculo os orifícios foram fechados. No dia seguinte à infestação do solo, realizou-se a aplicação de 30 mL do extrato aquoso de mastruz nas concentrações de 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 becker e o extrato e a água foram depositados sobre a superfície do solo. O horário de aplicação foi ao final da tarde, para evitar a evaporação do extrato.

No dia seguinte à aplicação do extrato, uma muda de tomate cv. Santa Clara com duas a três folhas verdadeiras foi transplantada para cada vaso com o solo infestado e tratado com o extrato. Aos sete e 14 dias após o transplântio das mudas, repetiu-se a aplicação do extrato no solo.

Quarenta e cinco dias após o transplântio, as plantas de tomateiro foram retiradas para a avaliação da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP) e massa fresca da raiz (MFR). As raízes foram imersas em água para remoção do solo aderido e, com isso, possibilitar melhor observação para contagem do número de galhas (NG), número de massas ovos (NMO) e número de ovos (NO) de cada planta em cada tratamento.

Para contagem do NO foi aplicada a metodologia de extração de ovos de nematoides proposta por Bonetti e Ferraz (1981). Em seguida, procedeu-se a contagem presentes em três alíquotas da suspensão, obtendo-se a média de ovos. A contagem foi realizada em câmara de Peters sob microscópio estereoscópio, e posteriormente, calculado o fator de reprodução ($FR = \text{população final} / \text{população inicial}$).

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 foram tratados somente com água destilada). Foram utilizadas 6 repetições em cada tratamento. A parcela experimental foi constituída de um vaso contendo uma planta de tomateiro. Os dados obtidos foram transformados para \sqrt{x} e em seguida foram submetidos a análise de variância e teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico sisvar. Contudo, os dados apresentados nas tabelas são os dados reais.

Ensaio 5 - Efeito da imersão de raízes de tomate ‘Santa Clara’ em extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* no controle de *M. incognita* e *M. enterolobii*

Utilizou-se mudas de tomateiro ‘Santa Clara’ com 30 dias de idade que foram transplantadas para copos descartáveis com capacidade de 50 mL, os quais foram preenchidos com mistura autoclavada de solo e esterco caprino na proporção 2:1. Dois dias após o transplante, as mudas de tomateiro foram inoculadas com 5.000 ovos.J₂⁻¹ de *M. incognita* e *M. enterolobii* obtidos pela metodologia de extração de ovos proposta por Bonetti e Ferraz (1981), que foram distribuídas em três orifícios próximos ao colo da planta, com 3 cm profundidade.

Dez dias após a inoculação, as mudas de tomateiro foram retiradas dos copos descartáveis e foram lavadas em água corrente para retirada do solo. Em seguida, tiveram seus sistemas radiculares imersos em extrato aquoso de *C. ambrosioides* nas concentrações de 5 e 10%, onde permaneceram pelo tempo de 1 hora e 1 hora e 30 minutos. Decorrido este tempo, as mudas de tomateiro foram transplantadas para vasos com capacidade de 2 L de solo, contendo o mesmo substrato autoclavado da sementeira. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 29 ± 4 °C, onde permaneceram durante 60 dias.

Aos 60 dias após a inoculação, as plantas de tomateiro foram retiradas para a avaliação da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), altura da planta (AP), massa fresca da raiz (MFR). Para contagem do NO foi aplicada a metodologia de extração de ovos de nematoides proposta por Bonetti e Ferraz (1981). Em seguida,

procedeu-se a contagem presentes em três alíquotas da suspensão, obtendo-se a média de ovos. A contagem foi realizada em câmara de Peters sob microscópio estereoscópio, e posteriormente, calculado o fator de reprodução (FR).

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, dispostos da seguinte maneira: Tratamento 1 - testemunha negativa (raízes imersas em água destilada e sem inoculação); Tratamento 2 – testemunha positiva (raízes imersas em água destilada e inoculadas com o nematoide); Tratamento 3 – Imersão das raízes em extrato aquoso de mastruz 5% pelo tempo de 1 hora; Tratamento 4 – Imersão das raízes em extrato aquoso de mastruz 5% pelo tempo de 1:30 hora; Tratamento 5 – Imersão das raízes em extrato aquoso de mastruz 10% pelo tempo de 1 hora e Tratamento 6 - Imersão das raízes em extrato aquoso de mastruz 10% pelo tempo de 1:30 hora. Foram utilizadas cinco repetições para cada tratamento e a parcela experimental foi constituída de um vaso com uma planta de tomateiro. Os dados obtidos foram transformados para \sqrt{x} e em seguida foram submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico Sisvar. Contudo, os dados apresentados nas tabelas são os dados reais.

Ensaio 6 - Avaliação do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* como indutor de resistência em tomateiro no controle de *M. incognita*

Mudas de tomateiro ‘Santa Clara’ com 25 dias de idade foram transplantadas para copos descartáveis com capacidade para 300 mL, os quais foram preenchidos com mistura autoclavada de solo e esterco caprino na proporção 2:1.

Três dias após o transplântio, utilizando-se um pulverizador manual, os extratos aquosos de *C. ambrosioides*, nas concentrações de 2,5; 5 e 10%, foram aplicados nas superfícies abaxial e adaxial das folhas das mudas de tomateiro, até o ponto de escorrimento. Os copos foram protegidos com sacos plásticos para evitar o contato dos extratos com o solo. Para efeito de comparação, utilizou-se o indutor de resistência Acibenzolar-S-metil (ASM) - Bion[®] (500 WG) na concentração recomendada pelo fabricante para o tomateiro de 5g/100L.

Para confirmar a ausência de efeito direto do ASM sobre juvenis de *Meloidogyne*, realizaram-se testes preliminares *in vitro* conduzidos com o indutor na mesma concentração, distribuindo-se 3 ml em 10 placas de Petri (3,5 cm de diâmetro) com 50 indivíduos/placa. Após 24 horas de permanência no produto diluído, não se observou nenhum efeito nematocida ou nematostático sobre os juvenis de *M. incognita*, os quais mantiveram-se totalmente ativos.

Após a pulverização das mudas de tomateiro com os extratos e com o ASM, aguardou-se os períodos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas, e então procedeu-se a inoculação com

5.000 ovos. J_2^{-1} de *M. incognita* obtidos pela metodologia de extração de ovos proposta por Bonetti e Ferraz (1981), que foram distribuídos em três orifícios próximos ao colo da planta, com 3 cm profundidade. Considerou-se como controle positivo, plantas pulverizadas com água e inoculadas. O controle negativo consistiu em plantas saudáveis, sem tratamento e sem inoculação.

Aos 30 dias após a inoculação, as plantas de tomateiro foram retiradas dos copos descartáveis 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), número de massas ovos (NMO) e número de ovos (NO) de cada planta em cada tratamento.

Para contagem do NO foi aplicada a metodologia de extração de ovos de nematoides proposta por Bonetti e Ferraz (1981). Em seguida, procedeu-se a contagem presentes em três alíquotas da suspensão, obtendo-se a média de ovos. A contagem foi realizada em câmara de Peters sob microscópio estereoscópio, e posteriormente, calculado o fator de reprodução (FR).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 4 x 5, avaliando três concentrações do extrato de *C. ambrosioides* e 1 do ASM em seis tempos diferentes. Para cada tratamento utilizou-se um total de sete repetições e a parcela experimental foi constituída de um vaso com uma planta de tomateiro. Os dados obtidos foram transformados para \sqrt{x} e em seguida submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico Sisvar. Contudo, os dados apresentados nas tabelas são os dados reais.

Resultados e discussão

Ensaio 1 - Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne* spp.

Verificou-se que o extrato aquoso de mastruz, nas concentrações 5 e 10%, apresentou um efeito nocivo sobre a eclosão de juvenis de todas as espécies de *Meloidogyne* avaliadas, não havendo diferença estatística entre as concentrações 5 e 10% para todas as espécies, contudo, ambas diferiram do controle. A média de J_2 eclodidos para cada espécie de *Meloidogyne* variou de 0,3 a 1,0 na concentração de 5% e foi um pouco menor na concentração de 10%, cuja média variou de 0,3 a 0,6 (Tabela 1). As concentrações testadas

apresentaram elevado percentual de inibição de eclosão de J₂ para todas as espécies de *Meloidogyne*, variando de 97,9 a 99,4 na concentração de 5% e de 98,8 a 99,4 na concentração de 10% (Gráfico 1). Estes dados mostram que o extrato de mastruz afeta o indivíduo ainda dentro do ovo, impedindo a eclosão.

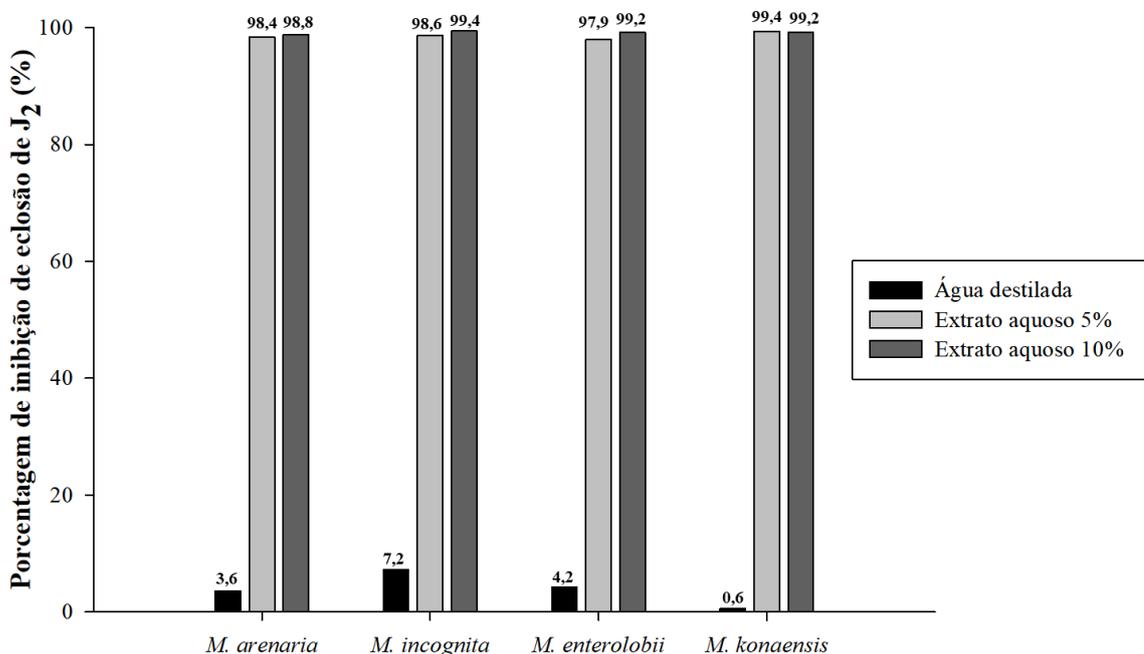
Tabela 1 – Média de eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp. submetidos ao extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10% durante 15 dias.

Concentrações	J ₂ eclodidos			
	<i>M. arenaria</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. enterolobii</i>	<i>M. konaensis</i>
Extrato a 5 %	0,8 a	0,7 a	1,0 a	0,3 a
Extrato a 10 %	0,6 a	0,3 a	0,4a	0,4 a
Água destilada (controle)	48,2 b	46,4 b	47,9 b	49,7 b
CV (%)	6,33	10,38	9,02	3,73

Média de dez repetições com 50 ovos/placa.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey (p<0,05).

Gráfico 1 – Percentual de inibição de eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp. submetidos ao extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10% durante 15 dias.



Diversas espécies vegetais têm apresentado efeito tóxico na eclosão de juvenis de *Meloidogyne* spp., pelo fato de apresentarem em sua composição substâncias tóxicas para estes patógenos. Morillo e Silva (2015) verificaram que o extrato aquoso de sementes de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) 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. Em estudos realizados por Müller *et al.* (2016) utilizando extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em diferentes concentrações, verificaram-se que na concentração de 10% a taxa de eclosão de J₂ de *M. incognita* foi de apenas 14,8%. 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. Costa (2017), observou efeito nocivo do extrato aquoso de *C. procera*, a 5 e 10 %, sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*, que reduziu o percentual de eclosão de J₂, ocorrendo somente 13,2% e 30,2% de eclosão, respectivamente.

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.) 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, próximos aos obtidos neste ensaio que foram superiores a 97%. Ferreira *et al.* (2013) examinaram o efeito de extratos vegetais de diferentes espécies na eclosão de juvenis de *M. incognita*, incluindo *Tridax procumbens*, *Tagetes patula*, *Tithonia diversifolia*, *Sphagneticola trilobata*, *Unxia suffruticosa* e *Zinnia peruviana*, e verificaram que os extratos nas concentração de 10% reduziram a eclosão de juvenis em 89,96%, 91,13; 92,48; 92,72; 93,2 e 97,48%, respectivamente, em relação aos ovos que foram expostos somente a água. Roncato (2015), ao avaliar o efeito de extratos obtidos a partir de folhas crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) na forma de pó, na eclosão de juvenis de *M. incognita* e *M. javanica*. O autor constatou que o extrato hidroalcoólico de crambe inibiu em até 76% a eclosão de juvenis.

Além do extrato aquoso de *C. ambrosioides* ter apresentado efeito sobre a eclosão de J₂ das quatro espécies de *Meloidogyne*, há relatos na literatura de que o óleo essencial obtido desta planta também apresenta atividade nematicida sobre este patógeno. Faria *et al.*, (2015), relataram um percentual de 90% de inibição da eclosão de juvenis de *M. chitwoodi*, quando os ovos deste nematoide foram submetidos a concentração de 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ dos componentes de óleo essencial de *C. ambrosioides*. Os mesmos autores verificaram que tanto há atividade isolada como ocorre atividade sinérgica dos componentes do óleo essencial desta espécie, o que pode explicar a sua elevada atividade nematicida.

Por outro lado, Corbani *et al.* (2011) ao avaliarem o efeito *in vitro* de diferentes concentrações (10 a 50%) do óleo essencial de *C. ambrosioides* sobre a eclosão de J₂ de *M.*

javanica observaram que, quando o óleo foi aplicado na concentração máxima de 50% houve uma diminuição de 60,9% no percentual de eclosão de juvenis em relação ao controle (água). O maior percentual de eclosão de juvenis obtido com o óleo essencial nesse ensaio pode ser explicado pela diferença na composição química e teor dos constituintes do óleo essencial *C. ambrosioides*, que variam de acordo com a idade, órgão vegetal utilizado e a região em que a planta é coletada (ALMANÇA *et al.*, 2011).

De acordo com Dias-Arieira *et al.* (2008), alguns compostos naturais podem estimular a eclosão de nematoides, por promoverem alteração na permeabilidade ou degradação da parede do ovo. Tais compostos poderiam estar sendo absorvidos pelos ovos, provocando algum efeito direto, degradando a casca do ovo, inativando o nematoide ou causando alguma deformação no juvenil, impedindo o seu desenvolvimento e posterior eclosão do ovo.

Segundo Curtis *et al.* (2009) os compostos tóxicos presentes em extratos de plantas, atuam como agente de controle quando os ovos de *Meloidogyne* estão permeáveis, já que nesta fase os ovos estão vulneráveis, estando suscetíveis aos tratamentos. Esta fragilidade é devido a mudanças que ocorrem na estrutura do ovo, principalmente nos momentos que antecedem a eclosão do J₂. Nesta fase, o nematoide está injetando suas enzimas para romper a casca e eclodir do ovo.

Além de eficiente contra fitonematoides, o extrato aquoso de *C. ambrosioides* quando empregado em ensaio *in vitro* inibiu em 100% a eclosão de larvas de *Ascaridia* sp., um nematoide que afeta aves, evidenciando um alto percentual de eficácia em todas as concentrações de 0,060ml:0,940ml; 0,120ml:0,880ml e 200ml:0,800ml (extrato de *C. ambrosioides* e água) (VITA *et al.*, 2014; VITA *et al.*, 2015).

Em muitas espécies de Chenopodiaceae, os metabólitos secundários que compõem os óleos essenciais são sintetizados em estruturas secretoras especializadas, como os tricomas glandulares (METCALFE & CHALK, 1950). A biossíntese desses metabólitos pode ser influenciada por fatores externos, como condições ambientais, estação do ano e com a composição do solo em que a planta foi cultivada (MARTINS *et al.*, 2006; DEMUNER *et al.*, 2011). Em muitos casos, a variabilidade genética das espécies pertencentes a família Chenopodiaceae também pode resultar em diferentes quimiotipos (CASTRO *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2007).

Ensaio 2 - Efeito *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio J₂ de *Meloidogyne* spp.

O extrato aquoso de *C. ambrosioides* também apresentou efeito nocivo sobre J₂, provocando a morte desses indivíduos nas quatro espécies de *Meloidogyne* avaliadas. Verificou-se que não houve interação significativa entre os fatores testados indicando que a diluição do extrato aquoso de *C. ambrosioides* e o tempo de permanência dos juvenis nos extratos, em todas as espécies avaliadas, não exerceram influência entre si (Tabela 2). No entanto, os J₂, após permanecerem 24 e 48 horas nos extratos aquosos de *C. ambrosioides*, na diluição de 10% apresentaram as menores médias de indivíduos vivos/placa. Não houve diferença estatística entre as duas concentrações avaliadas, mas ambas diferiram do controle.

Tabela 2 - Número de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp. vivos após permanecerem 24 e 48 horas no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

Concentrações	Tempo de permanência de J ₂ no extrato de mastruz							
	J ₂ vivos - 24 horas				J ₂ vivos - 48 horas			
	Ma	Mi	Me	Mk	Ma	Mi	Me	Mk
Extrato a 5%	0,2 a	0,4 a	0,5 a	0,6 a	0,3 a	0,2 a	0,2 a	0,4 a
Extrato a 10%	0,33 a	0,2 a	0,4 a	0,44 a	0,09 a	0,09 a	0,18 a	0,27 a
Água destilada	49,7 b	49,6 b	49,5 b	49,1 b	49,6 b	49,4 b	49,7 b	49,3 a
CV (%)	2,95	3,19	2,88	3,48	2,95	3,19	2,88	3,48

Ma – *M. arenaria*; Mi – *M. incognita*; Me – *M. enterolobii*; Mk – *M. konaensis*

Média de dez repetições com 50 juvenis/placa.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre pelo Teste de Tukey (p<0,05).

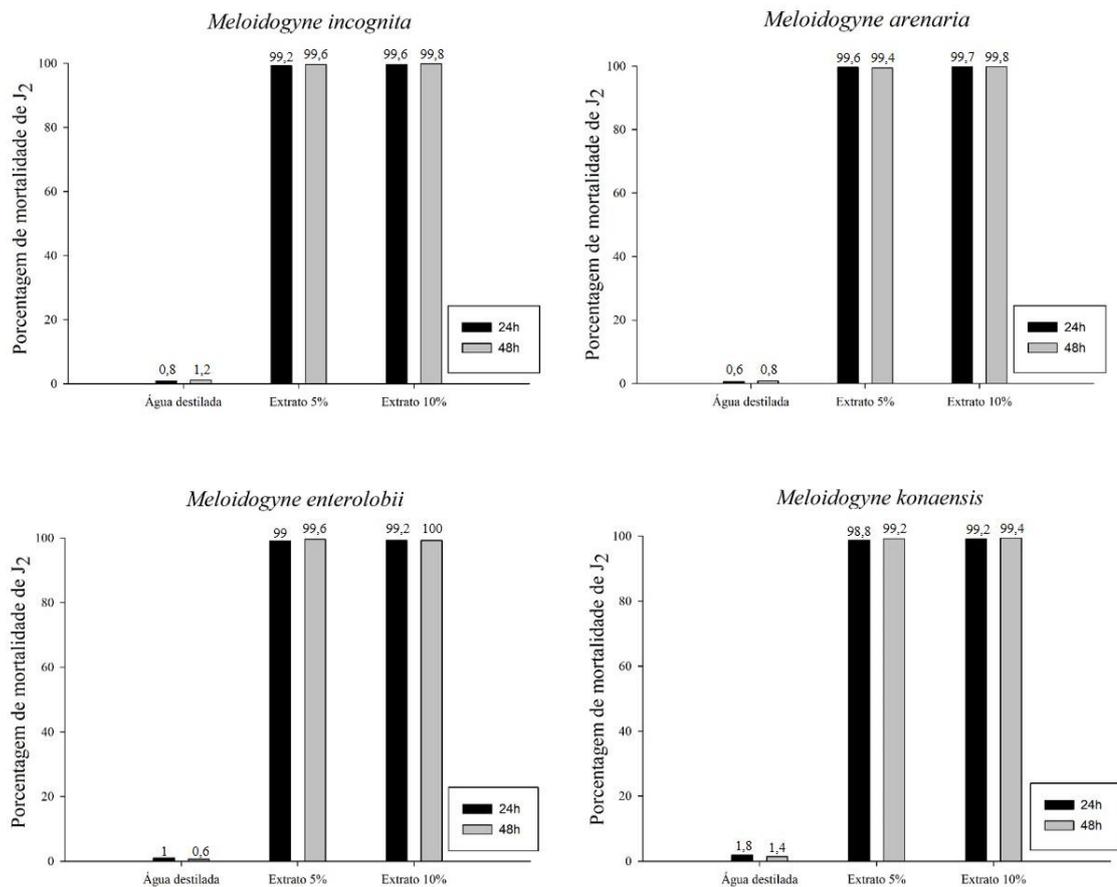
O percentual de mortalidade de J₂ se aproximou de 100% nas duas concentrações avaliadas em todas as espécies de *Meloidogyne* testadas (Gráfico 2). Estes resultados indicam que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* apresenta elevada atividade nematicida, ao invés de atividade nematostática, pois os juvenis não retornaram à atividade após o tempo de permanência de 24 horas em água.

Caboni *et al.* (2013) observaram elevada atividade nematicida sobre juvenis de segundo estágio de *M. incognita* do extrato aquoso de *Mentha piperita*, *M. pulegium* e *M. spicata* quando submetidos as concentrações de 1005, 745 e 300 mg.L⁻¹ por um período de 72 horas. Os autores verificaram que os extratos aquosos obtiveram melhores resultados que os extratos etanólico e o óleo essencial.

Em estudos realizados por Martins e Santos (2016), testando o efeito dos extratos de *C. ambrosioides*, de lombrigueira (*Spigelia anthelmia* L.) e de agrião-do-brejo (*Eclipta alba* L.) obtidos por maceração, constatou-se que os extratos ocasionaram 100% de mortalidade dos J₂ de *M. incognita* raça 2, após passagem por 48 h nos extratos. Freire &

Santos (2018) obtiveram resultados semelhantes ao deste ensaio em relação ao percentual de mortalidade de juvenis de *M. enterolobii*, ao avaliar a eficácia dos extratos aquosos foliares na concentração de 10 % de zabumba (*Datura stramonium* L.), louco (*Plumbago scandens* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.), nos quais os juvenis, após 48 horas imersos nos extratos, apresentaram um percentual de mortalidade de 86,0, 84,6 e 86,4 %, respectivamente.

Gráfico 2 - Percentual de juvenis de segundo estágio (J_2) de *Meloidogyne* spp. mortos após 24 e 48 horas de permanência no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10%.



Babaali *et al.* (2017), ao testarem a atividade do extrato aquoso e etanólico de diferentes partes vegetais de espécies pertencentes ao gênero *Datura* nas concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100%, observaram que o extrato aquoso foi significativo após o tempo de exposição de pelo menos 2 horas nas concentrações acima de 25%. Os extratos etanólicos, foram significativamente diferentes do controle em todas as concentrações avaliadas, apresentando taxa de 100% mortalidade de J_2 de *M. incognita* em todas as concentrações após o tempo de 1 hora de exposição dos indivíduos. Estes autores afirmam que no extrato etanólico das espécies de *Datura* possuem maior quantidade de componentes químicos que no extrato aquoso, principalmente compostos com ação nematicida como flavonoides.

A caracterização química do óleo essencial de *C. ambrosioides* realizada por Almança (2013), revelou a presença de compostos como carvacrol, p-cimeno, α -terpineno, ascaridol, flavonoides e saponinas. No extrato aquoso, foi encontrado alto teor de terpenos esteroidais e galotaninos, além de alcaloides, que também apresentam elevada atividade nematicida (HALLAL *et al.*, 2010). Ao estudarem a atividade nematicida contra *M. incognita* e *Aphelenchoides besseyi* de compostos derivados do ascaridol, Yen *et al.*, (2007), verificaram 100% de mortalidade dos juvenis de segundo estágio das duas espécies de nematoides, quando foram submetidos a concentração de 100 μ g/ml. Os mesmos autores afirmaram que o ascaridol e seus derivados possuem elevada atividade biológica, assemelhando-se a nematicidas químicos, com a vantagem de se tratar de um produto natural e apresentar menor toxicidade.

O conhecimento da composição química de extratos e óleos essenciais pode levar à síntese de moléculas que podem originar nematicidas, em substituição aos nematicidas convencionais (SILVA, 2011). Neste sentido, o efeito comprovado *in vitro* sobre a mortalidade dos juvenis das espécies do gênero *Meloidogyne*, teve uma continuidade a fim de se testar seus efeitos tóxicos ao patógeno *in vivo*.

Ensaio 3 - Avaliação do tempo de armazenamento de folhas secas e da concentração do extrato aquoso de *C. ambrosioides* na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*

Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que houve interação significativa entre os fatores, indicando que o tempo de armazenamento das folhas secas e a concentração do extrato aquoso de *C. ambrosioides* exercem influência entre si.

As concentrações de 5 e 10% diferiram estatisticamente do controle em todos os tempos de armazenamento testados. Os J₂, após permanecerem por 24 horas nas diluições de 5 e 10 % dos extratos aquosos de *C. ambrosioides* preparados com o material vegetal finamente triturado e armazenado nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias, não diferiram entre si, apresentando média de 50 indivíduos mortos (100%) nos tempos 30 a 60 dias do armazenamento, havendo uma pequena redução com o material armazenado por 90 dias (Tabela 3).

Aos 120 dias de armazenamento, o extrato a 5% obteve média de 42,4 e na concentração de 10% apresentou média de 47,4 juvenis mortos após permanência de 24 horas no extrato. Com estes resultados, foi possível observar diferença estatística entre as duas concentrações (Tabela 3). O percentual de J₂ mortos em todos os tratamentos está ilustrado no gráfico 3.

Estes resultados indicam que as folhas secas de *C. ambrosioides* armazenadas pelo período de 120 dias ainda apresentam efeito na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, indicando que o composto químico com ação nematicida persiste nas folhas secas mesmo após armazenamento de quatro meses, característica desejável para um produto natural.

Tabela 3 – Número médio de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne incognita* mortos após permanecerem 24 horas no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

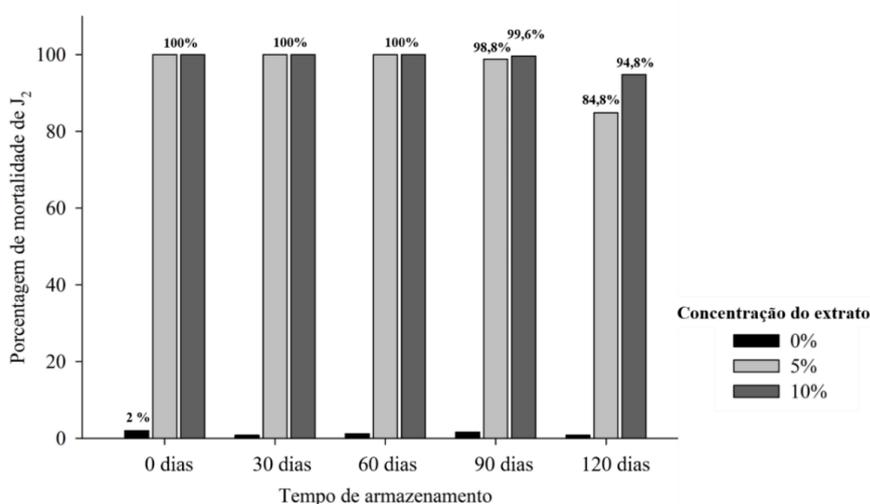
Tempo de armazenamento das folhas	Concentrações do extrato		
	0 % (água destilada)	5 %	10 %
0 dias	1,0 c B	50 a A	50 a A
30 dias	0,4 c B	50 a A	50 a A
60 dias	0,6 c B	50 a A	50 a A
90 dias	0,8 c B	49,4 a A	49,8 a A
120 dias	0,4 c C	42,4 b B	47,4 b A
CV (%)		2,32	

- Média de cinco repetições com 50 juvenis/placa.

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

Em estudos realizados por Torres *et al.* (2001), foi observado que os extratos aquosos provenientes de pós de diferentes partes e espécies vegetais tais como amêndoas de *Azadirachta indica*, casca de *Aspidosperma pyrifolium*, raiz de *Cissampelos aff. glaberrima* e folha de *Laurus nobillis* armazenados por períodos superiores a 30 dias apresentaram resultados promissores no controle de *Plutella xylostella*, traça-das-crucíferas, afetando o desenvolvimento de fases larvais e adultos que se alimentaram de plantas de couve tratadas com os extratos.

Gráfico 3 - Percentual de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne incognita* mortos após 24 horas no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* a 5 e 10% armazenados nos períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 dias.



Mello *et al.* (2006), ao compararem o efeito *in vitro* do extrato aquoso de *C. ambrosioides* fresco e armazenado por 24 horas sobre *P. brachyurus*, verificaram que o extrato foliar fresco nas concentrações de 2 e 20 % não possuía ação nematicida, porém, quando estocado por 24 h afetava os nematoides, demonstrando que a incubação de 24 horas é essencial para liberação de substâncias letais a *P. brachyurus*. Os autores verificaram ainda que o extrato de *C. ambrosioides* é mais eficiente no controle de *P. brachyurus* quando incorporado ao solo do que quando se utiliza a planta em rotação de cultura (MELLO *et al.*, 2006).

Leme *et al.* (2007) verificaram que a forma de esterilização e o tempo de armazenamento do extrato foliar de capim-limão interferiram na atividade do mesmo em relação ao desenvolvimento micelial de *Colletotrichum acutatum*.

Tapondjou *et al.* (2002) e Silva *et al.* (2003) observaram uma alta mortalidade de adultos de *Sitophilus zeamais*, o gorgulho do milho, com pós de folhas de *C. ambrosioides*. Entretanto, em estudos realizados por Tavares & Vendramim (2006), o efeito inseticida de *C. ambrosioides* não foi constatado com a utilização de pós obtidos de ramos e folhas, observando-se valor máximo de mortalidade de 1,7% de *S. zeamais*. A idade e o desenvolvimento da planta, bem como os diferentes órgãos vegetais, são de considerável importância e podem influenciar a quantidade total de metabólitos produzidos no extrato vegetal e de sua atividade biológica (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Tavares & Vendramim (2006) afirmaram que a coleta do material vegetal feita a partir de plantas em fase de frutificação (final do ciclo) pode provocar a perda da eficácia do extrato de folhas, pelo fato de ocorrer a translocação de compostos responsáveis pela atividade inseticida para os frutos.

Moosavi (2012) avaliou o efeito do extrato preparado a partir do pó obtido de sementes e de folhas de *A. indica*, *Datura metel*, *Olea europaea*, *Carthamus glaucus*, *Nerium oleander*, *Chrysanthemum coronarium* sobre a eclosão e a mortalidade de J₂ de *M. javanica* e verificaram elevada taxa de mortalidade (60%) quando submetidos aos extratos pelo período de 24 e 48 horas e elevado percentual de inibição da eclosão de J₂ (75%), após o tempo de permanência de 72 horas no extrato.

O tempo de armazenamento das folhas utilizadas no preparo de extratos aquosos também pode provocar a perda na eficiência dos mesmos. Costa (2017), observou que folhas secas de *Calotropis procera* armazenadas por 1 dia apresentaram percentagem de mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita* de 92,7% após permanência de 24 h no extrato.

Entretanto, quando o extrato foi obtido de folhas secas armazenadas a 62 dias, observou-se que o percentual de mortalidade de J₂ foi de apenas 11%.

Dias *et al.* (2000) avaliaram o efeito dos extratos aquosos de 15 espécies de plantas medicinais sobre a mortalidade de J₂ de *M. incognita* após o tempo de permanência de 24 h. Os autores realizaram dois ensaios em períodos diferentes e com o material vegetal coletado em duas estações distintas. Verificou-se que houve diferença entre o percentual de juvenis inativos e mortos nos dois ensaios realizados. O extrato de melão São Caetano (*Momordica charantia* L.), uma das 15 espécies, foi o que apresentou maior diferença entre os resultados nos dois ensaios, provocando 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 com o mesmo patógeno dependendo da época de coleta de material vegetal a ser usado na produção de extratos.

Ensaio 4 - Efeito da aplicação do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* em solo infestado com *M. incognita*

Em geral, o desenvolvimento das plantas não foi afetado pelos extratos vegetais de *C. ambrosioides*. As médias da massa fresca da parte aérea (MFPA) dos tomateiros cv. Santa Clara nos tratamentos em que foram aplicados os extratos de *C. ambrosioides* (5 e 10%), não diferiram entre si, apresentando valores de 20,70g e 19,62g, respectivamente. O mesmo foi verificado para a massa seca da parte aérea (MSPA) com valores que ficaram de 2,75 g e 2,74 g. Essas duas variáveis analisadas não diferiram do controle negativo (planta não inoculada e sem extrato) que foram de 21,25g e 3,02g para MFPA e MSPA, respectivamente, porém diferiram do controle positivo (planta inoculada sem extrato) o qual apresentou as menores médias para massa fresca (14,52g) e seca (1,66g) da parte aérea (Tabela 4).

Para a variável massa fresca da raiz (MFR), os tratamentos com aplicação de extrato de *C. ambrosioides* a 5 e 10% e o controle negativo não diferiram entre si, entretanto estes diferiram do controle positivo, cujas plantas apresentaram a menor média de MFR (3,84g) (Tabela 4).

Para altura da planta (AP), em todos os tratamentos que foram aplicados os extratos de *C. ambrosioides* (5 e 10%) e o controle negativo, as plantas apresentaram médias de altura (50,02 a 48,41 cm) significativamente superior à das plantas do controle positivo (5,92 cm) (Tabela 4; Figura 1). Ressalta-se que os extratos de *C. ambrosioides* a 5 e a 1% não

provocaram fitotoxidez nos tomateiros cv. Santa Clara, uma vez que nem o crescimento das plantas e nem a coloração das folhas foram afetados.

Tabela 4 – Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e altura da planta (AP), e de plantas de tomateiro cv. Santa Clara cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e tratado com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

Tratamentos	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	AP (cm)
Controle negativo (sadia)	21,25 a	3,02 a	7,02 a	56,4 a
Controle positivo	14,52 b	1,66 b	3,84 b	35,04 b
Planta inoculada + extrato a 5 %	20,70 a	2,75 a	5,15 a	50,02 a
Planta inoculada + extrato a 10 %	19,62 a	2,74 a	5,71 a	48,41 a
CV (%)	7,28	5,12	15,34	5,12

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

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 das testemunhas (planta inoculada sem aplicação do extrato), discordando dos resultados observados neste ensaio.

Figura 1 – Plantas de tomateiro cv. Santa Clara 45 dias após o transplântio, avaliadas quanto à eficiência da aplicação do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. O Controle negativo – plantas não inoculadas/sem extrato, Controle positivo – plantas inoculadas/sem extrato – Extrato 5% - plantas com extrato/inoculadas e Extrato 10% - plantas com extrato/inoculadas.



Fonte: elaborado pelo autor

Em estudos realizados por Mateus *et al.* (2014), constatou-se uma 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.

Nos resultados obtidos por Gardiano *et al.* (2009), em experimento avaliando o efeito da adição ao solo dos extratos aquosos de 20 espécies de plantas sobre a população de *M. javanica* em plantas de tomateiro, os autores observaram que as aplicações de todos os extratos incrementaram a massa de parte aérea do tomateiro em relação à testemunha. Costa *et al.* (2000), ao avaliar o efeito da aplicação de 10 mL do extrato metanólico de *C. ambrosioides* no solo, na concentração de 60%, observou que o extrato provocou fitotoxidez em plantas de tomateiro cv. Santa Clara e não reduziu o parasitismo de *M. incognita*.

A aplicação do extrato aquoso de *C. ambrosioides* 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 5). As médias do NG, para ambas as diluições testadas do extrato (5 e 10%) e no controle positivo, diferiram entre si, mas diferiram significativamente do controle positivo. As médias do NG dos tratamentos com os extratos a 5 e 10% foram 48,2 e 12,5 galhas/raiz, respectivamente. O controle positivo apresentou uma média de NG de 398,0 galhas/raiz (Tabela 5 e Figura 2). Esse resultado indica que a aplicação do extrato ao solo foi eficiente no controle do patógeno.

Tabela 5 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne incognita* e tratado com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

Tratamentos	NG		NMO		NO		FR	
	Média	PR	Média	PR	Média	PR	Média	PR
T1	398,0 a		104,2 b		20,371c		4,04 c	
T2	48,2 b	87,66	1,8 a	97,77	466,6 b	97,62	0,09 b	97,62
T3	12,5 a	99,29	0,5 a	99,20	130,9 a	99,30	0,03 a	99,21
CV (%)	12,11		15,37		10,65		10,65	

T1 – Controle positivo – Solo infestado sem aplicação do extrato; T2 – Solo infestado + extrato a 5 % e T3 – solo infestado + extrato a 10 %

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

PR – Percentual de redução

As galhas nas raízes de tomateiro do controle positivo além de presentes em maior número, apresentaram tamanho variando de 3 a 7 mm, enquanto que as galhas presentes em menor número nas raízes de tomateiro tratado, variavam de 2 a 4 mm.

Em relação ao NMO, constatou-se que os tratamentos com aplicação dos extratos de *C. ambrosioides* a 5 e 10% não diferiram estatisticamente entre si, apresentando médias de NMO de 1,80 e 0,50 massas de ovos/raiz, respectivamente. A média de NMO do controle positivo foi de 104,2 massas de ovos/raiz, diferindo significativamente dos tratamentos com extratos (Tabela 3).

Para a variável NO, observou-se que houve diferença entre os tratamentos com aplicação dos extratos a 5 e 10% com médias de NO 466,6 e 130,9 ovos/raiz, respectivamente. A concentração de 10% reduziu o número de ovos em relação a concentração de 5%. Já o controle positivo diferiu significativamente dos tratamentos, apresentando uma média de NO de 20.371,9 ovos/raiz (Tabela 3).

Observou-se um percentual acima de 85% de redução de NG na concentração de 5% e de 99,29% na concentração de 10%. Para as variáveis NMO, NO e FR verificou-se percentuais de redução acima de 97% nas duas concentrações avaliadas, mostrando que a aplicação do extrato foi eficiente nas duas concentrações aplicadas (Tabela 3).

Considerando o FR, os tratamentos com os extratos promoveram a redução desta variável, quando comparados ao controle positivo (Tabela 3). Houve diferença significativa no FR entre os extratos de *C. ambrosioides* a 5 e a 10%, sendo ambos menores que 1, o FR obtido no tratamento com extrato a 5% foi de 0,09, e no extrato a 10 % foi de 0,03. O FR da testemunha foi de 4,04, o qual diferiu significativamente dos dois tratamentos.

Mateus *et al.* (2014) ao aplicar extratos de gervão (*Verbena officinalis* L.), mulungu (*Erythrina mulungu* Mart.), 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.

Carboni e Mazzonetto (2013), avaliaram o efeito da aplicação de 25 ml do extrato de *C. ambrosioides* na concentração de 20% no solo no mesmo dia em que foi infestado com 5.000 ovos de *M. incognita* e verificaram redução no percentual do número de galhas e no número de ovos em plantas de tomateiro cv Santa Clara.

Ao avaliar a aplicação de 20 mL ao solo de extratos aquosos de 20 espécies de plantas sobre a população de *M. javanica* em plantas de tomateiro em casa de vegetação,

Gardiano *et al.* (2009) observaram que os extratos de hortelã (*M. spicata*), bardana (*Arctium lappa* L.) e mamona (*Ricinus communis*) reduziram o número de galhas em 75,6, 65,7 e 54,4, e o número de ovos em 81,7, 75,9 e 56,6%, respectivamente.

Figura 2 – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Santa Clara após aplicação de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) controle positivo (água), (B) extrato a 5%, e (C) extrato a 10%.



Fonte: elaborado pelo autor

Em estudos realizados por Silva *et al.* (2011), foi avaliado o efeito de 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.) 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).

Os resultados obtidos neste ensaio indicam que o uso de extrato aquoso de *C. ambrosioides* aplicado no solo reduz a infecção na planta, sendo viável no controle de *M. incognita*. O uso deste extrato pode ser considerado promissor devido ao fato de apresentar baixo custo e pela facilidade do preparo. A reaplicação do extrato no solo garantiu a presença constante dos compostos nematicidas e/ou nematostático durante os primeiros 15 dias após a inoculação, fazendo com que o extrato de *C. ambrosioides* estivesse em contato do

nematoide, atuando diretamente sobre os ovos e sobre os J₂. Entretanto, mais pesquisas serão necessárias a fim de investigar os compostos ativos presentes nas folhas de *C. ambrosioides* com efeito nematicida, que poderão gerar produtos eficientes no controle de nematoide das galhas.

Ensaio 5 - Efeito da imersão de raízes de tomate ‘Santa Clara’ em extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* no controle de *M. incognita* e *M. enterolobii*

Os resultados obtidos mostraram que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* (5 e 10%) não provocaram efeito tóxico nas plantas de tomateiro. Nas plantas inoculadas com *M. incognita*, as médias da massa fresca da parte aérea (MFPA) das plantas de tomateiro que foram imersas nos extratos nas concentrações 5 e 10% nos dois tempos avaliados (1h e 1:30h) não diferiram entre si e também não diferiram do controle negativo, contudo todos os tratamentos diferiram do controle positivo. Para a espécie *M. enterolobii*, a MFPA das plantas submetidas aos tratamentos com extrato aquoso de *C. ambrosioides* não diferiram entre si, mas diferiram tanto do controle positivo como do controle negativo (Tabela 6).

Em todos os tratamentos para ambos os nematoides e extratos, a MSPA, a MFR e a AP foram estatisticamente diferentes do controle positivo, mas somente para a variável MFR todas as plantas também diferiram do controle negativo. Na MSPA e AP, houve pequena oscilação nos valores encontrados (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e altura da planta (AP) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara inoculadas com *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* e submetidas a imersão do sistema radicular em extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

Tratamentos	<i>M. incognita</i>				<i>M. enterolobii</i>			
	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	AP (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	AP (cm)
Controle negativo	30,58 a	7,12 a	20,97 a	78,2 a	32,03 a	7,78 a	20,34a	79,03 a
Controle positivo	19,18 b	5,15 c	12,04 c	53,4 c	21,43 c	4,16 c	10,30 c	49,28 d
C 5% - T 1 h	29,81 a	6,86 a	16,97 b	67,1 b	29,26 b	7,56 ab	16,89 b	67,56 b
C 5% - T 1:30 h	31,13 a	6,45 b	17,30 b	76,6 a	28,40 b	7,34 b	17,38 b	66,25 bc
C 10% - T 1h	31,92 a	6,41 b	17,64 b	70,1 b	28,29 b	7,29 b	17,47 b	65,61 bc
C 10% - T 1:30 h	32,49 a	6,76 a	17,47 b	70,2 b	29,16 b	7,23 b	17,64 b	64,32 c
CV (%)	2,80	4,05	1,96	2,22	1,73	1,44	5,47	1,22

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

PR – Percentual de redução

Costa *et al.* (2000) observaram que extratos metanólicos de *C. ambrosioides* e *Ricinus communis* causaram efeito tóxico em tomateiros ‘Santa Clara’ reduzindo em 10% a altura das plantas quando aplicados na concentração de 60%. Carvalho e Carnelossi (2005),

relatarem um efeito alelopático de *C. ambrosioides* na germinação de sementes de tomate. Os resultados negativos obtidos nesses ensaios podem estar associados ao método de extração, ao solvente utilizado e às técnicas de coleta e secagem e vários outros fatores que podem interferir na liberação do princípio ativo da planta (FERREIRA *et al.*, 2013). Lopes *et al.* (2005) verificaram que a aplicação de extratos aquosos de mucuna preta (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) sobre a parte aérea de tomateiro não afetaram nem a altura, nem o peso da parte aérea dos tomateiros. Ao avaliar o efeito da imersão de raízes de tomateiro em diferentes extratos aquosos de espécies vegetais da família Asteraceae durante 15 minutos, Ferreira *et al.* (2013) verificaram, igualmente, que os extratos não influenciaram no peso fresco da parte aérea das plantas.

A imersão das raízes de tomateiro em extrato aquoso de *C. ambrosioides* reduziu o NG, NMO e o NO de *M. incognita* e de *M. enterolobii* em todos os tratamentos. Nas três variáveis analisadas os tratamentos diferiram significativamente do controle positivo, mostrando que houve redução da infecção após os tratamentos (Tabelas 7 e 8).

Embora não tenha diferido estatisticamente dos demais tratamentos, a concentração do extrato a 10% no tempo de imersão de 1 hora e 30 minutos apresentou os menores resultados para NG, NMO e NO para as duas espécies de *Meloidogyne*. Com esse extrato e tempo, a redução na infecção foi semelhante para *M. incognita* e *M. enterolobii*, com valores reduzidos no NG em 86 e 64%, NMO 93,5 e 83,7% e de NO em 97 e 88%, respectivamente. Isto pode ser atribuído a uma maior concentração de substâncias tóxicas aos fitonematoides que poderiam ter sido absorvidas pelas raízes, uma vez que as plantas, após os tratamentos, foram transferidas para solo autoclavado (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara inoculadas com *Meloidogyne incognita* e submetidas a imersão do sistema radicular em extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

Tratamentos	NG		NMO		NO		FR	
	Média	PR	Média	PR	Média	PR	Média	PR
Controle positivo	341,88 c		139,24 b		23.950 b		4,75 b	
C 5% - T 1 h	31,16 b	67,93	5,52 a	80,08	281,90 a	89,15	0,05 a	89,45
C 5% - T 1:30 h	18,06 a	77,01	3,09 a	85,08	52,56 a	95,32	0,01 a	95,41
C 10% - T 1h	10,11 a	82,80	1,34 a	90,17	27,66 a	96,60	0,005 a	96,79
C 10% - T 1:30 h	5,06 a	86,37	0,57 a	93,56	12,11 a	97,75	0,002 a	98,17
CV (%)	14,46		46,27		37,56		37,56	

PR – Percentual de redução (%)

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

Tabela 8 – Médias do número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) de plantas de tomateiro cv. Santa Clara inoculadas com *Meloidogyne enterolobii* e submetidas a imersão do sistema radicular em extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides*.

Tratamentos	NG		NMO		NO		FR	
	Média	PR	Média	PR	Média	PR	Média	PR
Controle positivo	357,96 d		208,5 d		56.653 c		11,28 c	
C 5% - T 1 h	90,25 c	49,79	12,11 b	75,90	1.392 ab	84,32	0,27 ab	84,52
C 5% - T 1:30 h	95,25 c	48,41	18,49 c	70,22	2.246 b	80,09	0,44 b	80,06
C 10% - T 1h	66,25 b	56,98	7,34 a	81,23	918,69 a	87,27	0,17 a	87,50
C 10% - T 1:30 h	45,96 a	64,16	5,52 a	83,73	709,7 a	88,81	0,14 a	88,99
CV (%)	5,70		7,15		9,92		9,92	

PR – Percentual de redução (%)

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

Rao *et al.* (2000) e Khan *et al.* (2005) sugerem que o efeito de tratamentos sobre a produção de ovos por fêmea, tem sido correlacionado com a fecundidade e a capacidade de limitar o desenvolvimento epidêmico do parasita. Entretanto, a capacidade de redução do número de fêmeas tem efeito proporcional sobre a produção de ovos. No presente trabalho, o efeito dos tratamentos com o extrato sobre o número de ovos e o fator de reprodução, foi observado, indicando que houve influência do extrato na reprodução das fêmeas quando comparados com a testemunha (Tabelas 7 e 8). Este fato foi observado em todos tratamentos nas variáveis NMO e NO, em que ocorreu em *M. incognita* uma redução de pelo menos 80% e em *M. enterolobii* de no mínimo 70%.

Segundo Roncato (2015), aplicações semanais e simultâneas via raiz, solo e foliar de extrato hidroalcoólico de *Crambe abyssinica* (Hochst) reduziram massa de ovos, número de galhas, J₂ e ovos por grama de raiz e por 100 cm³ de solo, e com menor viabilidade de ovos de *M. incognita* em tomateiro.

No tratamento com a imersão de radículas das plantas pré-germinadas de soja (*Glycine max* L.) em óleo de nim a 8%, Santos (2010) observou redução da densidade populacional de *H. glycines*. John & Hebsy (2000) observaram que as raízes de berinjela imersas em extrato de folhas de nim na concentração de 25% por o período de uma hora apresentaram um melhor crescimento e houve reduções significativas no número de galhas e o número de massas de ovos de *M. incognita* quando comparadas ao controle. Saravanapriya & Sivakumar (2005) verificaram que raízes de plantas de tomateiro imersas por um período de uma hora em extrato aquoso obtidos de folhas de *Calotropis gigantea*, *A. indica*, *T. erecta* e em extrato aquoso obtidos a partir do pó de sementes de melancia (*Citrullus lanatus* Thumb.)

na concentração de 5% reduziram a população de *M. incognita* no solo em 87,3%, 84,7%, 72,6% e 49,1%, respectivamente, quando comparadas com o controle.

Figura 3 – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Santa Clara após aplicação de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* em solo infestado com *Meloidogyne incognita*. (A) controle positivo; (B) planta sadia; (C) imersão em extrato 5 % por 1 hora; (D) imersão em extrato 5 % por 1:30 hora; (E) imersão em extrato 10 % por 1 hora e (F) imersão em extrato 10 % por 1:30 hora.



Fonte: elaborado pelo autor

Com a imersão de raízes de tomateiro por 30 minutos em extrato aquoso (25 mL.100 mL⁻¹ de água destilada) de folhas, de torta e de óleo de nim, Akhtar & Mahmood (1993), observaram a inibição do desenvolvimento de *M. incognita*, independente do patógeno ser inoculado antes ou depois do tratamento.

Após a imersão das raízes de tomateiro no extrato aquoso de *C. ambrosioides* o efeito nocivo do extrato teria ocorrido aos juvenis presentes na raiz, podendo esta ação ter

sido somente durante o tempo da imersão ou por um período mais prolongado, atuando nos nematoides com um efeito residual, ocasionando assim a redução da infecção nas raízes.

Figura 4 – Sistemas radiculares de tomateiros cv. Santa Clara após aplicação de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* em solo infestado com *Meloidogyne enterolobii*. (A) controle positivo; (B) planta sadia; (C) imersão em extrato 5 % por 1 hora; (D) imersão em extrato 5 % por 1:30 hora; (E) imersão em extrato 10 % por 1 hora e (F) imersão em extrato 10 % por 1:30 hora.



Fonte: elaborado pelo autor

Uma análise fitoquímica revelou que *C. ambrosioides* possui vários tipos de fitoquímicos puros, como limoneno, d-cânfora, ascaridol, α -pineno, p-cimeno, iso-ascaridol, α -terpineno, artiasona, ácido butírico, ácido ferúlico, geraniol, saponinas e estigmasterol. Dentre os compostos relatados, o ascaridol tem sido considerado o mais ativo e eficaz e com atividade nematicida (LOHDIP, 2013). É possível que as raízes de tomateiro tenham absorvido alguns desses compostos presentes nos extratos de *C. ambrosioides*, ou outros ainda não identificados, em concentrações variáveis, e os mesmos tenham interferido no desenvolvimento e/ou na reprodução dos nematoides. As raízes não tratadas com extrato apresentaram galhas bem desenvolvidas com tamanho de 3-6 mm (Figura 4), enquanto que as

galhas observadas nas demais raízes tratadas com extrato a 5% variavam de 2- 3 mm e com extrato a 10% de 1-2 mm.

A imersão de raízes em extrato aquoso de *C. ambrosioides*, após um período de dez dias do início da infecção, demonstrou ser eficiente para reduzir o parasitismo de *M. incognita* e *M. enterolobii* das mudas de tomateiro.

Ensaio 6 - Avaliação do extrato aquoso de folhas de *C. ambrosioides* como indutor de resistência em tomateiro no controle de *M. incognita*

O extrato aquoso de *C. ambrosioides* e o ASM não provocaram fitotoxidez e não interferiram nos parâmetros vegetativos de massa fresca e massa seca de parte aérea, massa fresca de raiz e altura, independentemente da concentração do extrato e do intervalo de tempo entre a aplicação dos indutores e a inoculação com o nematoide (Tabela 9). Não foi também constatado interação entre os fatores. Entretanto, todos os tratamentos diferiram estatisticamente do controle positivo, que apresentou médias inferiores em todos os parâmetros vegetativos avaliados (Tabela 9).

Em ensaios realizados por Puerari *et al.* (2013), verificou-se que o ASM pode incrementar o desenvolvimento vegetativo da planta tratada. Em contraponto, Chinnasri *et al.* (2006), afirmaram que pode ocorrer a diminuição dos parâmetros vegetativos das plantas tratadas, devendo-se levar em consideração as concentrações utilizadas, o tempo de avaliação após a aplicação e a resposta direta das plantas e/ou cultivares. Tais fatores podem contribuir para essas diferenças observadas nos parâmetros de desenvolvimento vegetal.

Tabela 9 – Médias Médias da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e altura da planta (AP) das plantas de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e ASM e inoculadas com *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	MFPA	MSPA	MFR	AP
Controle negativo	35,64 a	5,29 a	23,23 a	73,96 a
Controle positivo	24,01 b	3,42 b	18,92 b	62,09 b
ASM	34,81 a	5,10 a	22,84 a	69,72 a
Extrato 2,5%	35,05 a	5,19 a	23,23 a	70,05 a
Extrato 5%	35,40 a	5,24 a	21,99 a	72,08 a
Extrato 10%	35,16 a	5,3 a	22,56 a	72,25 a
Cv (%)	2,67	2,68	1,28	1,28

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na avaliação do parasitismo do nematoide das galhas em tomateiro ‘Santa Clara’, realizada aos 30 dias após a inoculação de *M. incognita*, os resultados obtidos indicam que houve interação significativa entre os fatores, indicando que a aplicação foliar de diferentes concentrações do extrato aquoso de *C. ambrosioides* e do ASM e os intervalos de inoculação exercem influência entre si.

Ao analisar o NG, observou-se que houve diferença estatística somente a partir do tempo de inoculação de 6h após a aplicação tanto do ASM como dos extratos. Entretanto, as menores médias do NG foram observadas a partir do intervalo de 9h entre a pulverização e a inoculação do patógeno (Tabela 10).

As maiores reduções do NG foram observadas no intervalo de 24 horas após o tratamento. O ASM exibiu a menor média de número de galhas (124,8), seguido pelo extrato aquoso de *C. ambrosioides* na concentração de 10% (206,9) e 5% (227,1) (Tabela 10). Nesse tempo, o ASM apresentou o maior percentual de redução de número de galhas (50,88%) em relação ao controle positivo (Gráfico 4).

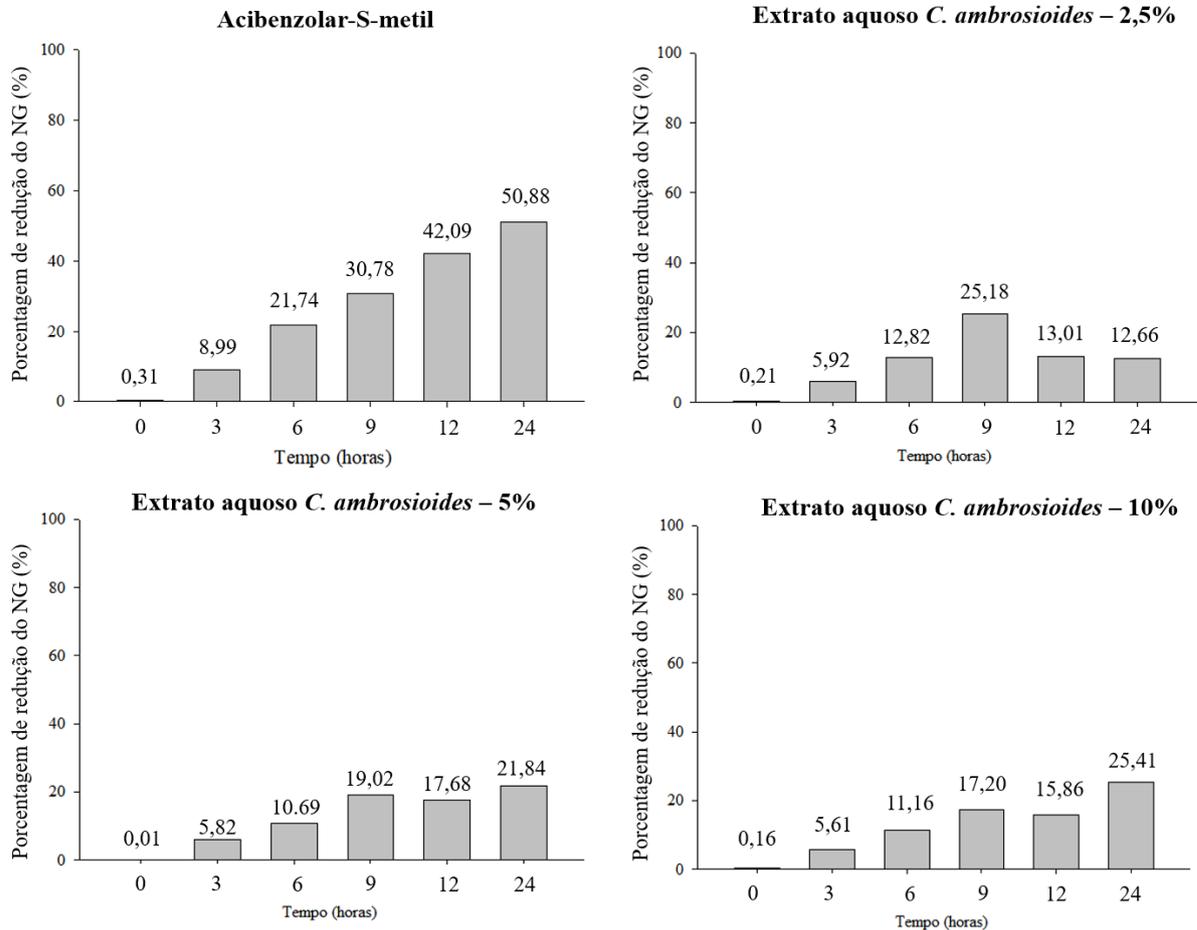
Tabela 10 – Médias do número de galhas (NG) em plantas de tomateiro cv. Santa Clara previamente pulverizadas com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e ASM e inoculadas com *M. incognita*.

Número de galhas (NG)	Tempo (horas)					
	0	3	6	9	12	24
Tratamentos						
Controle positivo	372,1 a A	370,5 a A	371,3 a A	372,5 a A	372,1 a A	371,7 a A
ASM (0,5g/100L)	369,8 a A	306,9 a B	227,4 c B	178,5 c C	283,6 c D	124,8 c D
Extrato 2,5%	370,6 a A	327,9 a A	282,2 bc B	208,5 bc C	281,6 b B	284,8 b B
Extrato 5%	371,3 a A	328,7 a A	296,2 b A	15,63 b BC	252,2 b BC	227,1 b C
Extrato 10%	370,9 a A	330,1 a AB	293,1 b B	244,3 b C	263,4 b B	206,9 b C
Cv (%)	9,95					

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

Silva *et al.* (2004) relataram que a aplicação de ASM via foliar ou solo, três dias antes do transplante/inoculação e sete dias após o transplante/inoculação de tomates 'Santa Clara', independente da época ou modo de aplicação, provocou 54,6% de redução de galhas em relação à testemunha. Visto que o ASM não é tóxico ao J_2 , então a essa redução pode-se inferir o efeito indutor de resistência, que afetou a nutrição do J_2 e reduzindo assim, a reprodução. A redução do número de galhas em tomateiro com emprego do ASM foi também observada por Brito *et al.* (2016) no patossistema envolvendo *M. javanica* em soja, onde verificou-se a redução de 45% do número de galhas em plantas pulverizadas com o indutor na concentração de 0,1%.

Gráfico 4 – Percentual de redução do número de galhas em raízes de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas em intervalos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas com *Meloidogyne incognita* após o tratamento.



Estudos revelaram a hipótese de que o ASM interfere na formação das células gigantes, por meio de alguma proteína essencial à mesma (OWEN *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2002, 2004). Por outro lado, vários estudos relataram que o ASM não reduziu o número de galhas e sim a reprodução do nematoide e, conseqüentemente, a reinfestação, fato este explicado devido ao produto não afetar diretamente a eclosão, sobrevivência ou penetração dos nematoides nas raízes dos hospedeiros (CHINNASRI *et al.*, 2003; SALGADO *et al.*, 2007; MOLINARI & BASER, 2010; PUERARI *et al.*, 2013). E, como constatado nos testes preliminares realizados com *M. incognita*, não há efeito nematicida ou nematostático do ASM sobre os juvenis.

O extrato aquoso de *C. ambrosioides* também reduziu o número de galhas em relação ao controle positivo, no entanto, não se igualou ao ASM, apresentando médias inferiores a este. No entanto, nos tempos de 6h e 9h após pulverização e com a concentração de

extrato a 2,5%, a redução do NG não diferiu dos valor observado para o ASM. Nas concentrações de 5 e 10%, as maiores reduções do NG , acima de 20%, foram obtidas após 24 horas da aplicação dos extratos (Gráfico 4), sugerindo um reduzido efeito indutor.

As plantas tratadas com o ASM apresentaram as menores médias de massas de ovos, contudo, não diferiu dos demais tratamentos. Apenas a partir do tempo de 6 horas após a inoculação observou-se diferença entre o controle positivo, extrato 2,5% e extrato 5%. Entretanto não difereu do extrato a 10% (Tabela 11). Os tratamentos em que foram aplicados o ASM e o extrato aquoso na concentração de 10% e que depois de 24 horas foram inoculadas com o patógeno, reduziram o NMO quando comparados ao controle, apresentando médias de 5,5 e 11,1, respectivamente, contra 24,8 do controle positivo (Tabela 11). Desta forma, considera-se que o NMO foi reduzido em 52,8% com o ASM e em 33,13% com o extrato aquoso a 10% (Gráfico 5), confirmando o potencial do ASM como indutor de resistência já relatado para o manejo do nematoides das galhas (OWEN *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2002, 2004; SALGADO *et al.*, 2007; MOLINARI & BASER, 2010; PUERARI *et al.*, 2013).

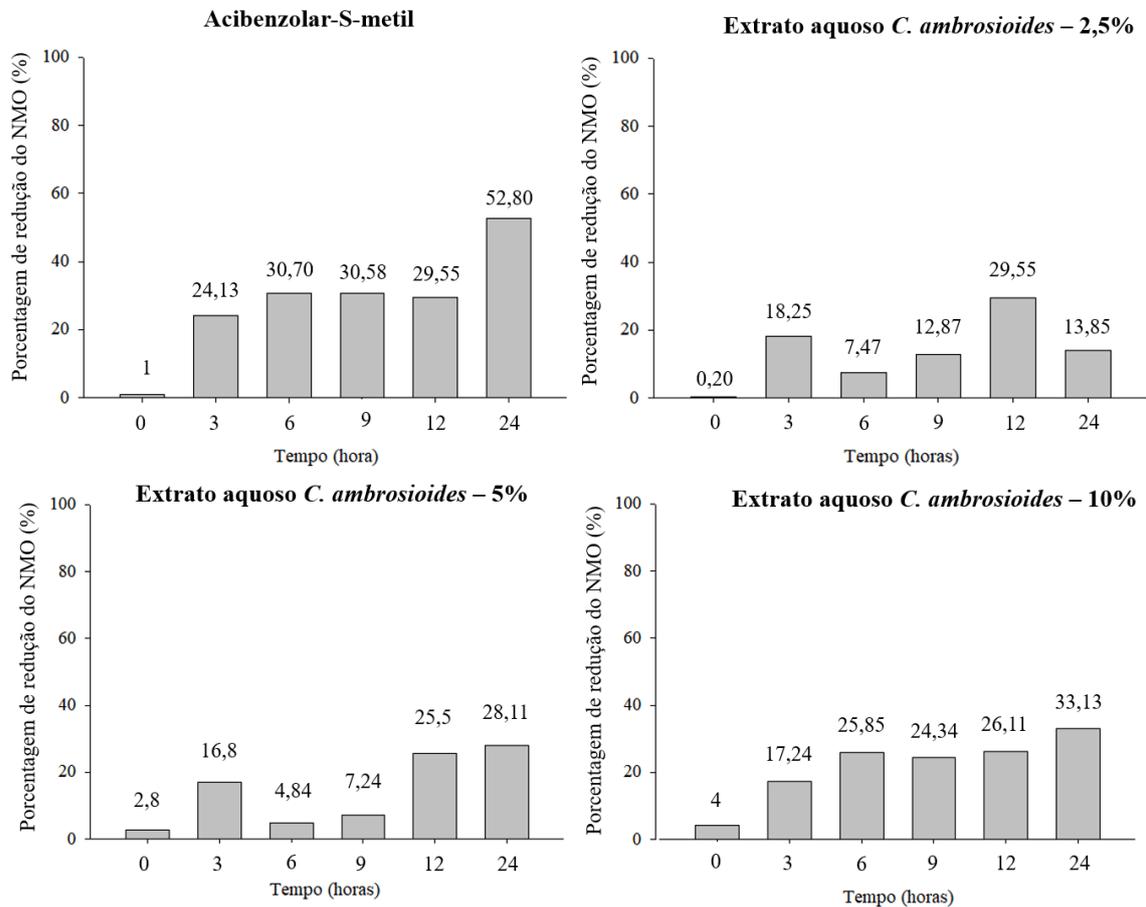
Tabela 11 – Médias do número de massas de ovos (NMO) em raízes de tomateiro cv. Santa Clara pulverizadas com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e ASM e inoculadas com *Meloidogyne incognita*.

Número de massas de ovos (NMO)	Tempo (horas)					
	0	3	6	9	12	24
Controle positivo	24,9 a A	24,3 a A	24,5 a A	24,7 a A	24,4 a A	24,8 a A
ASM (0,5g/100L)	24,4 a A	14,8 b B	11,8 c B	11,9 c B	12,11 b B	5,5 c C
Extrato 2,5%	24,8 a A	16,3 b AB	20,9 b A	18,7 b AB	12,3 b AB	18,4 b AB
Extrato 5%	24,1 a A	16,8 b A	22,18 b A	21,15 b A	13,5 b B	12,8 b B
Extrato 10%	24,5 a A	16,6 b B	13,5 c B	14,1 b B	13,3 b B	11,1 bc B
Cv (%)	21,19					

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

A melhoria dos resultados de uma investigação da ação indutora de extratos poderia ser obtida com a uniformidade do inóculo, tendo em vista que a utilização de inóculo (ovos) em diferentes estágios de embriogênese conduz a eclosão de juvenis em intervalos de tempos diferentes. Salgado *et al.* (2007), sugerem a padronização do inóculo com a utilização de J₂, uma vez que a fase de penetração e formação do sítio de alimentação das raízes, mais uniforme, poderia coincidir com a fase de efeito máximo do indutor, resultando numa redução mais expressiva.

Gráfico 5 – Percentual de redução do número de massas de ovos em raízes de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas em intervalos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas com *Meloidogyne incognita* após o tratamento.



Com relação ao NO, constatou-se que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* reduziu esta variável em plantas de tomateiros nas três concentrações avaliadas apenas nos intervalos de tempo de inoculação de 6, 9 e 12 horas após os tratamentos, não diferindo entre si. No tempo de 24 horas, a concentração 10% apresentou média de 2.652 ovos, diferindo das demais concentrações. O ASM diferiu dos demais tratamentos a partir do tempo de 6h e a menor média de ovos foi observada no tempo de 24 horas, sendo esta de 1.609. Contudo, esta não diferiu estatisticamente do tempo de 12 horas cuja média foi de 2.378 ovos (Tabela 12).

Dentre as concentrações do extrato aquoso de *C. ambrosioides* utilizadas, as plantas que foram pulverizadas com a maior concentração do extrato apresentaram o maior percentual de redução do NO, sendo este de 43,76%, contudo, inferior ao ASM que apresentou o percentual de redução do NO de 56,20% (Gráfico 6).

A aplicação foliar do extrato a 10% 24 horas antes da inoculação com *M. incognita* possibilitou os melhores resultados, tendo havido uma redução no NG (25,41%),

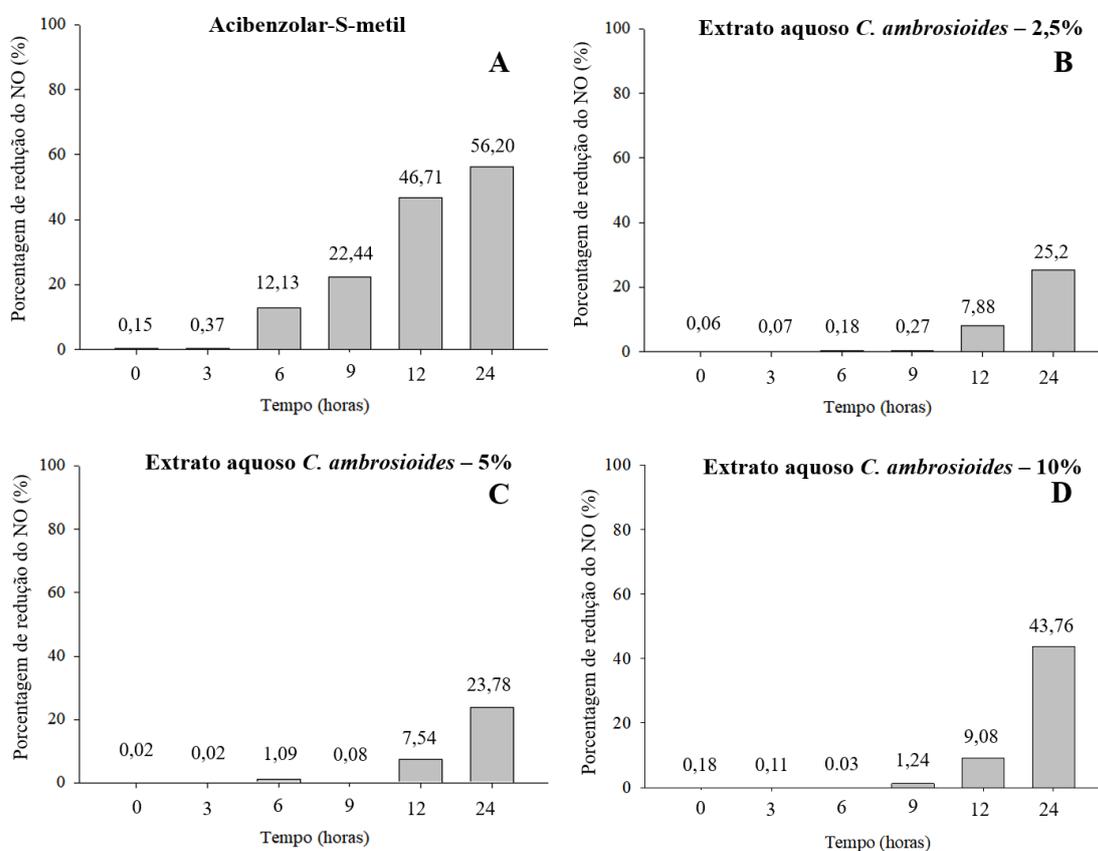
NMO (33,13%) e NO (43,76%), sugerindo um possível efeito indutor de resistência nas mudas de tomateiros ao nematoide.

Tabela 12 – Médias do número de ovos (NO) em raízes de tomateiro cv. Santa Clara pulverizadas com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas com *Meloidogyne incognita*.

Número de ovos (NO)	Tempo (horas)					
	0	3	6	9	12	24
Controle positivo	8,374 a A	8.372 a A	8.375 a A	8.372 a A	8.377 a A	8.386 a A
ASM (0,5g/100L)	8.348 a A	8.308 a A	6.379 c A	5.035 c B	2.378 c C	1.609 d C
Extrato 2,5%	8.363 a A	8.357 a A	8.344 b A	8.326 b A	7.108 b A	4.692 b B
Extrato 5%	8.370 a A	8.366 a A	8.193 b A	8.357 b A	7.160 b A	4.872 b B
Extrato 10%	8.359 a A	8.352 a A	8.372 b A	8.164 b A	6.923 b B	2.652 c C
Cv (%)	14,71					

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

Gráfico 6 – Percentual de redução do número ovos em raízes de tomateiro cv. Santa Clara 30 dias após a pulverização com extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e Acibenzolar-S-Metil e inoculadas em intervalos de 0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas com *Meloidogyne incognita* após o tratamento.



Neste ensaio, os resultados obtidos na formação de galhas e na produção de ovos pelo nematoide, foram possivelmente em razão de outros mecanismos de defesa das plantas

de tomateiro em relação à aplicação foliar do extrato aquoso de *C. ambrosioides*, uma vez que não ocorreu contato do extrato com o solo, ou seja, não houve ação direta do extrato sobre o patógeno. Os compostos com ação nematicida presentes no extrato aquoso de *C. ambrosioides* são solúveis em água e podem ser absorvidos pelas folhas e raízes, sendo translocados dentro da planta.

A raiz é o local principal para abrigo e sustento de fitonematoides, local este protegido muitas vezes do contato ou do sítio de aplicação de produtos nematicidas. Assim sendo, indutores de resistência podem favorecer o manejo destes organismos, por permitirem que as respostas de defesa da planta se manifestem exatamente no local da infecção (FRAZENER *et al.*, 2007). Em algumas plantas, a eficiência do ASM está relacionada ao aumento de β 1-3 glucanases nas raízes das plantas tratadas (OWEN *et al.*, 2002), sendo o produto considerado um indutor de resistência por ativar a resistência sistêmica adquirida (THAKUR & SOHAL, 2013).

A investigação de um produto a ser testado quanto à seu efeito indutor de resistência deve considerar a concentração, forma, intervalo e época de aplicação na planta. Brito *et al.* (2016) verificaram que a eficiência do ASM é proporcional ao aumento da concentração do mesmo na solução. O modo de aplicação também pode interferir nos resultados, pois o ASM quando aplicado no solo em tomateiro para o manejo de *M. incognita*, nas concentrações de 180 e 360 ppm, proporcionaram redução na reprodução do nematoide, contudo, a aplicação na parte aérea, só foi eficiente quando aplicada na concentração de 5.200 ppm do produto (MOLINARI & BASER, 2010). Um maior intervalo entre a aplicação do indutor e a inoculação com o patógeno também ser mais eficiente. Puerari *et al.* (2013) e Brito *et al.* (2016) observaram que em soja, a aplicação foliar do ASM com sete dias de antecedência à inoculação foi eficaz em reduzir a reprodução de *M. javanica*. Resultados semelhantes foram encontrados por Owen *et al.* (1998) com o mesmo intervalo e via de aplicação em videiras para controle de *M. javanica* e *M. arenaria*, em que o ASM promoveu reduções de 40 a 80% no número de galhas e de ovos em relação às plantas não tratadas.

Para considerar que determinado produto agiu como indutor Steiner e Schönbeck (1995) afirmam que deve ocorrer a ausência de efeitos tóxicos do agente indutor sobre o patógeno desafiante; supressão da resistência induzida pela exposição prévia da planta a substâncias químicas que inibem a expressão de genes do hospedeiro; necessidade de um intervalo de tempo entre a exposição da planta ao indutor e a expressão da resistência; ausência da relação entre magnitude da resistência expressa e quantidades crescentes do indutor aplicado; inespecificidade de proteção; a resistência deve ser local e sistêmica; a

resistência deve ser dependente do genótipo da planta. Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos comprovando o efeito de extratos vegetais ou de óleos essenciais, obtido a partir de plantas medicinais, apresentam em sua constituição metabólitos secundários responsáveis que podem atuar como indutores de resistência. Tais compostos pertencem a diversas classes de compostos químicas, como alcaloides, terpenos, ligninas, flavonoides, cumarinas, benzenoides, quinonas, xantonas, lactonas e esteroides entre outros, que também apresentam atividade direta sobre nematoides (DI STASI, 1996).

Franzener et al. (2007) verificou o efeito como indutor de resistência de *Tagetes patula* utilizando extratos aquosos obtidos a partir de flores, folhas e raízes obtidos no controle de *M. incognita* por meio da aplicação dos extratos aquosos na parte aérea e em raízes de plantas de tomateiro cv. Santa Cruz Kada inoculadas. O extrato aquoso da flor, sem diluição, inibiu em até 62,2% a formação de galhas e 61,5 e 52,8% o número de J2 no solo e de ovos nas raízes, respectivamente, comprovando o efeito nematicida e possivelmente o aumento da resistência das plantas.

Formentini (2012) avaliou o efeito indutor de resistência da aplicação foliar do extrato aquoso obtido a partir de raiz de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e de folhas de alecrim (*R. officinalis*) na concentração de 10% no controle de *M. incognita* em plantas de tomateiro. O autor verificou que os extratos aquosos de cúrcuma e alecrim promoveram uma redução significativa no NG e NO, além de estarem associados ao aumento da atividade da quitinase, reduzindo o parasitismo do nematoide no tomateiro. Cetintas & Yarba (2010), observaram reduções de 50% no NG em plantas de tomateiro após pulverizações na parte aérea de óleo essencial de alecrim. Müller (2012) utilizou o extrato de alecrim aplicado na parte aérea de plantas de soja cv. CD 206, visando o controle de *M. incognita* e obteve como resultado uma redução significativa de 51,38% no número de galhas com a dose mínima do extrato de 6,68%. Em 2016, Müller et al. (2016) ao avaliarem o efeito de pulverizações semanais do extrato aquoso de alecrim nas concentrações de 1, 5 e 10% em plantas de soja inoculadas com *M. incognita*, observaram que o extrato aquoso de alecrim promoveu a redução do número de galhas, por meio da resistência induzida em 46,5%, que, conforme os autores, pode ser a responsável pela liberação prejudicada do estímulo químico necessário para a eclosão juvenil e quimiotaxia na raiz das plantas tratadas poderia ser prejudicada .

Lopes et al. (2005) sugerem que a aplicação de extratos vegetais podem induzir ação nematicida sistêmica, por meio da liberação de substâncias tóxicas nas raízes. Além disso, plantas tratadas com extratos também poderiam liberar compostos químicas que afetam a penetração e alimentação de nematoides, prejudicando seu desenvolvimento e a reprodução

(ALBUQUERQUE *et al.*, 2010). Hadian *et al.* (2011) observaram que a aplicação foliar do extrato de nim reduziu o FR de *M. incognita* em plantas de tomate quando comparados ao tratamento controle. O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e *Lavandula angustifolia*, quando aplicados via pulverização na parte aérea de plantas de arroz reduziu o FR de *M. graminicola* (STEFFEN *et al.*, 2008).

De acordo com Pascholati (2011), o efeito protetor em plantas depende do indutor e da planta utilizada, e seu efeito pode durar poucos dias, semanas ou até mesmo durante todo o período de vida da planta. Alguns fatores devem ser considerados para a indução de resistência contra fitonematóides, como genética da planta hospedeira, patossistema envolvido e a necessidade de reativar os mecanismos de defesa, tendo em mente o efeito temporário do indutor (DIAS-ARIEIRA *et al.*, 2013).

Pode-se afirmar que alguma ação fisiológica ocorreu nas plantas de tomateiro, diminuindo o parasitismo do nematoide, podendo ser devido à eliminação de exsudatos radiculares pelas raízes dos tomateiros que tivessem características indesejáveis aos nematoides, com alguma substância tóxica aos J₂ e ovos. O extrato aquoso de *C. ambrosioides* pode ter ativado algum mecanismo de defesa, aumentando a resistência das plantas, favorecendo a produção de compostos específicos, com características desagradáveis e nocivas ao nematoide, conseqüentemente impedindo e/ou dificultando o processo de infecção ou colonização e interferindo na reprodução do nematoide, este fato pode explicar a redução da infecção do patógeno. Contudo, para confirmar o efeito indutor do extrato aquoso de *C. ambrosioides* outros estudos são necessários, como por exemplo, avaliar se há a presença de proteínas relacionadas após a aplicação do extrato.

Pode-se constatar com este estudo que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* pode ser empregado em tomateiros de diferentes formas, visando o controle de *Meloidogyne* spp. O seu cultivo como planta medicinal e a facilidade de obtenção de mudas em razão de sua ocorrência relativamente comum no campo, viabiliza ao pequeno produtor empregá-la para o controle eficiente desse fitopatógeno, utilizando recursos presentes em sua propriedade, e conseqüentemente, reduzindo os custos de produção.

CONCLUSÕES

1. O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* apresentou elevada ação nociva sobre os juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp., inibindo a sua eclosão e provocando sua mortalidade *in vitro*.
2. As folhas secas de *C. ambrosioides* podem ser armazenadas por 90 dias sem comprometer a atividade nematicida.
3. O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* aplicado ao solo infestado reduz a infecção por *M. incognita* em tomateiros cv. Santa Clara.
4. O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* reduz o parasitismo de *M. incognita* em plantas de tomateiro cv. Santa Clara por meio da imersão de raízes infectadas.
5. O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* a 10% no intervalo de 24 horas induz a resistência de tomateiro cv. Santa Clara reduzindo a infecção por *M. incognita*.

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.
- ALMANÇA, C.C.J.; POZZATTI, P.N.; CASAGRANDE, F.P.; SILVA FILHO J.P.; BISSI, B.; BARBOSA, B.C.; PORFÍRIO, L.C. Eficácia *in vitro* de extratos de *Chenopodium ambrosioides* sobre teleóginas de *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v.80, n.1, p.43-49, 2013.
- 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.
- CARBONI, R. Z.; MAZZONETTO, F. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 5, n. 2, caderno II, p.61-66, ago. 2013.
- CORBANI, R.Z.; ATLOÉ, J.; MAZZONETTO, F., ALEXANDRE BARCELLOS DALRI, A.B.; SOSSAI, V.L.M.; PIZETTA, L.C. Efeito de óleos essenciais sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica in vitro*. **Revista Agrarian**, Dourados, v.3, n.10, p.194-199, 2011.
- 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.
- 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.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2017. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: dez. 2018.
- FARIA, J.M.S.; SENA, I. RIBEIRO, B.; RODRIGUES, A.M.; MALEITA, C.M.N.; ABRANTES, I.; BENNETT, R.; MOTA, M. FIGUEIREDO, A.C.S. First report on *Meloidogyne chitwoodi* hatching inhibition activity of essential oils and essential oils fractions. **Journal of Pest. Science**. 89:207–217, 2016.
- FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. 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.
- FREIRE, M.S.; SANTOS, C.D.G. Reaction of plant species to *Meloidogyne enterolobii* and the efficiency of their aqueous extracts in controlling the pathogen. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 6, p. 2385-2398, 2018.
- FREITAS, L. G.; LIMA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: Editora UFV, 2008. 84 p.

HALLAL, A.; BENALI, S.; MARKOUK, M.; BEKKOUCEA, K.; LARHSINI, M.; CHAIT, A.; ROMANE, A.; ABBAD, A.; EL ABDOUNI, M.K. Evaluation of the Analgesic and Antipyretic Activities of *Chenopodium ambrosioides* L. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences**, v.1 n.1, p.189-192, 2010.

JORGE, L.I.F.; FERRO, V.O.; KOSCHTSCHAK, M.R.W. Diagnose comparativa das espécies *Chenopodium ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria) e *Coronopus didymus* (L.) Sm (mastruço): principais características morfo-histológicas e químicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, n.2, p.143-153, 1986.

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.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exóticas**. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 512 p. 2002.

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.

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.

MELLO, A.F.S.; MACHADO, A.C.Z.; INOMOTO, M.M. Potencial de Controle da Erva-de-Santa-Maria sobre *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatol. Bras.** 31(5), set - out 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.

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.

PINHEIRO, J.B.; BOITEUX, L.S.; PEREIRA, R.B.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.M.D.G. Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil. Embrapa, Brasília, 16p., 2014. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

QUARLES, W. **Botanical pesticides from Chenopodium**. IPM Practitioner, [S.l.], v.14, n.2, p.1-11, 1992.

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, 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.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: TAIZ, I.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artimed, p. 309-334. 2004.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: Funep, 1993. 372p.
- VITA, G.F., FERREIRA, I.; PEREIRA, M.A.V.C.; SANAVRIA, A.; AURNHEIMER, R.C.M.; BARBOSA, C.G.; S.M. GALLO, S.S.M.; V.G. VASCONCELLOS, H.V.G. Eficácia de *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) no controle de endoparasitos de *Coturnix japonica* (codorna japonesa). **Pesq. Vet. Bras.** 35(5):424-430, 2015.
- YEN, Y.P., YEH, M.J., & HSIAO, W.F. Synthesis and nematocidal activity of ascaridole derivatives against *Meloidogyne incognita* and *Aphelenchoides besseyi*. **Journal of Pesticide Science**, 32(1), 2007.
- COSTA, M. J. N. et al. Patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) com aplicação de filtrados fúngicos ou extratos de plantas e de esterco animal. **Nematologia Brasileira**, 2000.
- BABAALI, D. et al. Nematicidal potential of aqueous and ethanol extracts gained from *Datura stramonium*, *D. innoxia* and *D. tatula* on *Meloidogyne incognita*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 124, n. 4, p. 339–348, 2017.
- BRITO JUNIOR, F. P. DE. PRODUÇÃO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) REUTILIZANDO SUBSTRATOS SOB CULTIVO PROTEGIDO NO MUNICÍPIO DE IRANDUBA-AM. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amazonas**, p. 61, 2012.
- CABONI, P. et al. Nematicidal activity of mint aqueous extracts against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 41, p. 9784–9788, 2013.
- FARIA, C. M. D. R. et al. Diferentes extratos aquosos de plantas no tratamento de solo para o controle de *Meloidogyne javanica*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 3, p. 264–266, 2015.
- FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S. DA; NASCIMENTO, F. S. Efeito de extratos aquosos de espécies de Asteraceae sobre *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 1, p. 40–44, 2013.
- MÜLLER, M. A. et al. In vitro toxicity and control of *Meloidogyne incognita* in soybean by rosemary extract. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 103–110, 2016.
- RONCATO, S. C. et al. Controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro pelo extrato de crambe em diferentes formas de aplicação. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 3, p. 261–266, 2018.

SILVA, G. S. DA. **Métodos alternativos para o controle de fitonematoides** Revisão Anual de Patologia de Plantas, 2011.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 319–323, 2006.

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. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.30, v.3, p.551-556, 2009.

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

LOHDIP AM, AGUIYI JC. Some pharmacological activities of hexadec-12- enoic acid isolated from *Chenopodium ambrosioides* Linn. *Glob J Pure Appl Chem Res* 2013; 1(2): 12-21.

NASSAR, A. M. K. Pesticide Alternatives Use in Egypt: The Concept and Potential. **The Handbook of Environmental Chemistry**. 2018

JOHN, A.; B. HEBSY. Bare root dip treatment of brinjal seedlings in phytochemicals for the management of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). **Journal of Tropical Agriculture** 38:69-72, 2000.

SARAVANAPRIYA, B.; SIVAKUMAR, M. Management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with botanicals. **Natural Product Radiance**, v. 4, n. 3, p. 158–161, 2005.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 365-392.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 1, p. 139-153.

CAPÍTULO 2 - FRACIONAMENTO BIOGUIADO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Chenopodium ambrosioides* PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEMATICIDA

Introdução

Os nematoides formadores de galhas radiculares são endoparasitas sedentários e pertencem ao gênero *Meloidogyne* Goeldi 1887. Esses organismos constituem um dos grupos de fitopatógenos de maior importância mundial, com mais de 100 espécies descritas afetando mais de 2.000 plantas hospedeiras de diferentes famílias botânicas, representando uma grande ameaça para a produção agrícola em todo o mundo (MOURA, 1996; KARSSSEN *et al.*, 2006; PERRY *et al.*, 2009).

A espécie *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, destaca-se como uma das mais importantes dentro do gênero *Meloidogyne*, pois trata-se de uma espécie polífaga, podendo parasitar um elevado número de espécies de vegetais, ocasionando grandes danos às culturas de interesse econômico, e por possuir ampla distribuição geográfica, sendo comumente encontrada em regiões de clima tropical, subtropical e temperado (MOURA, 1996; TRUDGILL & BLOK, 2001; KARSSSEN & MOENS, 2006).

O manejo do nematoide das galhas é bastante difícil devido à sua extensa gama de espécies hospedeiras, a sua alta capacidade reprodutiva e sua boa adaptação a diferentes condições ambientais. São vários os métodos de controle de nematoides utilizados na tentativa de diminuir as populações deste patógeno e mantê-los abaixo do nível de dano econômico. Os métodos de controle mais recomendados para os fitonematoides, em geral, são o uso de cultivares resistentes, controle biológico, incorporação de matéria orgânica, emprego de plantas antagonicas, rotação de cultura com plantas não hospedeiras. A aplicação de nematicidas sistêmicos (BARROS *et al.*, 2000) tem sido considerado eficiente para o controle do patógeno em áreas de grandes extensões, no entanto, os impactos negativos e os problemas causados pelos produtos químicos ao meio ambiente e ao homem, além da ineficácia após o seu uso prolongado, tornam crescente a busca pela adoção de práticas alternativas de controle mais seguras no manejo desses patógenos (COIMBRA & CAMPOS, 2005; LOPES *et al.*, 2008).

O controle alternativo, no qual se incluem a uso de espécies vegetais, como por exemplo as plantas medicinais que, por possuírem uma diversidade de compostos químicos apresentam propriedades nematicidas, tem sido utilizado no controle desses patógenos por meio da incorporação de partes vegetais ou com a utilização de extratos vegetais ou de óleos

essenciais, exibindo resultados promissores no manejo desses patógenos (MORILLO & SILVA, 2015; MARTINS & SANTOS, 2016; FERREIRA *et al.*, 2013b; FARIA *et al.*, 2015; MOREIRA *et al.*, 2015, LIMA *et al.*, 2017).

Dentre as diversas espécies de plantas medicinais estudadas, destaca-se a *Chenopodium ambrosioides* L., conhecida no Brasil como mastruz ou erva de santa maria, que pertence à família Chenopodiaceae. Esta espécie é uma planta medicinal aromática com odor forte e desagradável característico (KISMAN, 1991; PEREIRA *et al.*, 2010). Tem como origem as Américas Central e do Sul e é amplamente distribuída em regiões de clima tropical, subtropical e temperado (KISMAN, 1991; DUKE *et al.*, 2002). Trata-se de uma planta herbácea, anual ou perene que cresce de forma espontânea em todas as regiões do Brasil. (COSTA, 1987).

A principal utilização do *C. ambrosioides* é como anti-helmíntica, a qual é atribuída ao monoterpeno ascaridol, constituinte majoritário do óleo essencial. (LORENZI *et al.*, 2008; MACDONALD *et al.*, 2004). Além disso, outros estudos demonstraram que esta espécie também apresenta em sua composição, compostos com propriedades acaricida (CHIASSEON *et al.* 2004a) e inseticida (CHIASSEON *et al.* 2004b; RAJKUMAR & JEBANESAN, 2008; PAUL *et al.*, 2009).

Diferentes classes de metabólitos secundários conhecidos por possuírem potentes atividades biológicas já foram relatadas no óleo essencial ou extrato metanólico de *C. ambrosioides*. Entre eles, estão os fenóis e flavonoides (JORGE *et al.*, 1986; ALENCAR *et al.*, 2010), saponinas (GUPTA; BEHARI, 1972; OKHALE *et al.*, 2012), alcaloides (HASEEB *et al.*, 1978; HEGAZY; FARRAG, 2007; HALLALA *et al.*, 2010; OKHALE *et al.*, 2012), taninos (ALENCAR *et al.*, 2010; HALLALA *et al.*, 2010), terpenos e esteroides (HEGAZY; FARRAG, 2007; HALLALA *et al.*, 2010; OKHALE *et al.*, 2012). Em extrato aquoso, foi encontrado alto teor de terpenos esteroidais e galotaninos, além de alcaloides, que possuem elevada atividade nematicida em nematoides parasitas de animais (HALLAL *et al.*, 2010). Porém, pouco se sabe sobre os compostos presentes no extrato aquoso desta espécie que atuam sobre fitonematoides.

Com isso, o objetivo deste trabalho foi realizar o fracionamento bio guiado do extrato aquoso de *C. ambrosioides* para determinar em qual fração do extrato estão presentes os compostos com atividade nematicida sobre *Meloidogyne* spp., além de determinar a concentração letal mínima do extrato aquoso e das frações obtidas para a mortalidade de indivíduos de segundo estágio (J₂) do nematoide das galhas *M. incognita*.

Materiais e métodos

O preparo do extrato e o fracionamento foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica e as análises de atividade nematicida foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia ambos da Universidade Federal do Ceará (UFC). A cromatografia líquida em espectro de massa da fração aquosa do extrato promissor de *C. ambrosioides* será no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG).

As plantas de *C. ambrosioides* foram coletadas nos municípios cearenses de Guaramiranga, Aquiraz e Fortaleza, no estágio de crescimento ou de florescimento. As folhas foram destacadas e submetidas ao processo de secagem em sacos de papel em estufa de circulação forçada de ar na temperatura de 40 °C durante 72 horas, seguida de pesagens até obtenção da massa constante.

O extrato aquoso de *C. ambrosioides* foi preparado na proporção de 1:10 (p/v) utilizando 20g de folhas secas de *C. ambrosioides*, trituradas finamente em almofariz com pistilo, e 200 mL de água destilada. Esse preparo foi repetido por três vezes, obtendo-se três recipientes (Erlenmeyers), os quais foram levados ao *shaker* rotativo a 200 rpm na temperatura de 37 °C, durante 24 horas. Decorrido este tempo, o extrato obtido foi filtrado em gaze dobrada para retirar as partes de maior tamanho, e em seguida foi filtrado em funil de Buchner com papel filtro tipo 10. Após a filtração, o extrato de cada repetição foi liofilizado e posteriormente pesado em balança de precisão. As três repetições foram empregadas para o cálculo do rendimento médio das extrações, o qual foi de 23,1%, ou seja, naquele volume de extrato havia 4,62 g de matéria seca.

O extrato aquoso de *C. ambrosioides* foi submetido a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), onde os espectros de ^1H e ^{13}C foram obtidos no Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN/UFC), utilizando-se Espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 e Avance DRX-500, que opera na frequência de 300 MHz para hidrogênio e 75 MHz para carbono. Foram utilizadas 30 mg do extrato liofilizado de *C. ambrosioides*, que foram solubilizados em 1 mL de água destilada e então submetidos a análise no equipamento.

1 Determinação da concentração letal mínima do extrato (CLM)

Definiu-se como Concentração Letal Mínima (CLM), a menor concentração do extrato aquoso de *C. ambrosioides* em ppm, capaz de causar a morte de todos os juvenis de segundo estágio (J_2) de *M. incognita*. Para isso, utilizou-se 240 mg do extrato liofilizado, o qual foi solubilizado em 24 mL de água destilada, originando o denominado extrato bruto.

Para confirmar que a atividade nematicida foi mantida após a liofilização, o extrato solubilizado (240 mg + 24 mL = 10.000 ppm) foi testado empregando-se 3 mL do mesmo em três placas de Petri de 3,5 cm de diâmetro, adicionando-se 50 juvenis em cada uma.

A partir deste extrato, realizaram-se diluições sucessivas com água destilada até obter as concentrações de 5.000 ppm, 4.500 ppm, 4.000 ppm, 3.500 ppm, 3.000 ppm, 2.500 ppm e 1.000 ppm. As concentrações de 1.000 e de 5.000 ppm correspondiam às diluições de 10 e 5% do extrato aquoso realizadas nos testes preliminares *in vitro* em que se observaram 100% de morte dos juvenis. Cada concentração foi disposta em três placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro contendo 3 mL de cada uma das concentrações avaliadas.

Para a obtenção dos juvenis que foram utilizados na determinação da CLM, massas de ovos foram retiradas de raízes de tomateiros ‘Santa Clara’ infectadas com *M. incognita* e, em seguida transferidas para três placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro contendo 3 mL de água destilada. Após 24 horas, os juvenis eclodidos foram utilizados nos testes *in vitro*.

Foram transferidos para as placas 50 juvenis de segundo estágio de *M. incognita* (150 juvenis/ tratamento), os quais permaneceram por um período de 24 horas. As placas foram mantidas em bandejas cobertas com papel alumínio dispostas em bancadas de laboratório à temperatura de 25 ± 2 °C. Como controle negativo, utilizou-se água destilada.

Os J₂ foram observados em microscópio óptico após 24 horas. Foram considerados mortos aqueles J₂ que apresentavam corpo reto e sem movimento. Estes indivíduos foram transferidos para placas de Petri com água destilada, permanecendo por mais 24 horas, para verificar se os J₂ retornavam à atividade. Decorrido este tempo, procedeu-se uma nova contagem e, então contabilizou-se os indivíduos vivos e mortos. A taxa de mortalidade foi calculada usando a fórmula proposta por Abbott (1925): Mortalidade relativa (%) = [(Percentual de mortalidade no tratamento - Percentual de mortalidade no controle negativo) / (100 - Percentual de mortalidade no controle negativo)] × 100.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, testando-se oito concentrações, com três repetições/tratamento, as quais foram comparadas com o controle negativo (água destilada), com um total de 1.350 juvenis observados no teste. Os resultados obtidos foram submetidos a análise variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o *software* estatístico sisvar.

2 Fracionamento do extrato aquoso de *C. ambrosioides* e avaliação da bioatividade das frações

Para realizar o fracionamento em fase sólida (SPE), utilizou-se 1g do extrato aquoso de *C. ambrosioides* liofilizado, o qual foi solubilizado em 5 mL de água destilada. Inicialmente, o cartucho C₁₈ foi ativado com 40 mL de água destilada, seguida de 40 mL metanol. Para extrair as substâncias polares e apolares, 5 mL do extrato foram adicionados à coluna sendo o mesmo eluído em diferentes concentrações de água (H₂O) e metanol (MeOH), como segue: 100% H₂O; 75% H₂O e 25% MeOH (v:v); 50% H₂O e 50% MeOH; 25% H₂O e 75% MeOH e 100% MeOH, resultando em 5 frações de 40 mL cada. As frações foram assim numeradas: fração 1 (100% H₂O – 68,9 mg); fração 2 (75% H₂O e 25% MeOH (v:v) – 54,3 mg); fração 3 (50% H₂O e 50% MeOH – 49,1mg); fração 4 (25% H₂O e 75% MeOH – 35,9 mg) e fração 5 (100% MeOH – 32,5 mg).

As frações obtidas foram concentradas em evaporador rotativo em baixa pressão (para evaporação total da água e metanol) e, em seguida, foram submetidas aos bioensaios para determinação da atividade nematicida.

Trinta mg de cada fração foram retirados e solubilizados em 3 mL de água destilada, obtendo-se a fração na concentração de 10.000 ppm. Em seguida, diluiu-se cada uma das frações na concentração de 4.500 ppm. O volume distribuído em cada um dos três poços foi de 200 µL em de placas de poliestireno do tipo ELISA com 96 cavidades. Considerando as cinco frações, foram ocupados 15 poços de uma mesma placa. Foram transferidos para cada poço, 50 juvenis de segundo estágio eclodidos, os quais permaneceram por um período de 24 horas imersos nas frações. As placas permaneceram em laboratório a 25 ± 2 °C. Como controle negativo, utilizou-se de água destilada que foi igualmente replicada três vezes. Um total de 600 juvenis foi empregado neste ensaio.

Decorridas as 24 horas, os J₂ de cada poço foram transferidos para uma placa de Petri de 3,5 cm contendo 3mL de água destilada para facilitar a observação em microscópio óptico. Foram então contabilizados os indivíduos vivos e mortos, considerando mortos aqueles que apresentavam corpo reto e sem movimento. Em seguida, os J₂ foram novamente transferidos para placas de Petri com água destilada por mais 24 horas, para verificar se retornavam à atividade. Após este tempo, procedeu-se uma nova contagem. A taxa de mortalidade foi calculada usando a fórmula proposta por Abbott (1925): Mortalidade relativa (%) = [(Percentual de mortalidade no tratamento - Percentual de mortalidade no controle negativo) / (100 - Percentual de mortalidade no controle negativo)] × 100.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, testando-se cinco frações as quais foram comparadas com controle negativo (água destilada). Os resultados obtidos foram submetidos a análise variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o *software* estatístico sisvar.

Para determinar a CLM das frações obtidas, cada uma das frações foi preparada na concentração de 5.000 ppm. A partir desta concentração realizaram-se diluições sucessivas com água destilada até obter as concentrações de 4.000 ppm, 3.500 ppm e 3.000 ppm. Cada uma das concentrações foi disposta três poços da placa de ELISA, cada poço foi preenchido com 200 µL/poço de cada uma das frações. Foram transferidos para cada poço, 50 juvenis de segundo estágio eclodidos, os quais permaneceram por um período de 24 horas imersos nas frações. As placas permaneceram em laboratório a 25 ± 2 °C. Como controle negativo, utilizou-se de água destilada que foi igualmente replicada três vezes. Um total de 600 juvenis foi empregado neste ensaio.

Decorridas as 24 horas, os J₂ de cada poço foram transferidos para uma placa de Petri de 3,5 cm contendo 3mL de água destilada para facilitar a observação em microscópio óptico. Foram então contabilizados os indivíduos vivos e mortos, considerando mortos aqueles que apresentavam corpo reto e sem movimento. Em seguida, os J₂ foram novamente transferidos para placas de Petri com água destilada por mais 24 horas, para verificar se retornavam à atividade. Após este tempo, procedeu-se uma nova contagem. A taxa de mortalidade foi calculada usando a fórmula proposta por Abbott (1925).

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, testando-se três concentrações, com três repetições/tratamento, as quais foram comparadas com o controle negativo (água destilada). Os resultados obtidos foram submetidos a análise variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o *software* estatístico sisvar.

Resultados e discussão

1 Determinação da concentração letal mínima do extrato (CLM)

Os resultados mostraram que o extrato aquoso de *C. ambrosioides* obtido pela solubilização do material liofilizado (240 mg + 24 mL) provocou a mortalidade de 100% dos juvenis de segundo estágio de *M. incognita* confirmando que a atividade nematicida foi mantida (Tabela 13).

Tabela 13 – Efeito do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	Mortalidade de J₂
Extrato aquosos de <i>C. ambrosioides</i>	50 a
Água destilada	00 b

Médias obtidas de três repetições

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

A determinação da concentração letal mínima do extrato aquoso de *C. ambrosioides* foi confirmada após a verificação da menor concentração que causou 100% mortalidade de juvenis de segundo estágio. As concentrações de 10.000 ppm, 5.000 ppm e 4.500 ppm diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, porém não diferiram entre si e apresentaram média de 50 juvenis mortos, resultando em 100% de mortalidade após 24 horas de exposição aos tratamentos. Todas as concentrações diferiram do controle, exceto a concentração de 1.000 ppm que apresentou média de 2,33 J₂ mortos. Considerou-se como a CLM do extrato aquoso de *C. ambrosioides* a concentração de 4.500 ppm (que corresponde 10,8 mg do material liofilizado/mL de extrato solubilizado que seria obtido de 46,75 mg de folhas secas), a qual ainda resultou em 100% de mortalidade dos J₂ (Tabela 14).

Tabela 14 – Número de juvenis mortos e porcentagem de mortalidade relativa de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* submetidos a diferentes concentrações do extrato aquoso e *Chenopodium ambrosioides*.

Concentrações do extrato (ppm)	Média de J₂ mortos (24 h)	Porcentagem de mortalidade relativa de J₂ (%)
0 – Controle	1,3 e	2,6
1.000	2,3 e	4,6
2.500	12,3 d	24,6
3.000	13,0 d	26,0
3.500	30,0 c	60,0
4.000	40,6 b	81,3
4.500	50,0 a	100,0
5.000	50,0 a	100,0
10.000 (Extrato bruto)	50,0 a	100,0
CV (%)		8,61

Médias obtida de três repetições com 50 ovos/placa.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

2 Fracionamento do extrato aquoso de *C. ambrosioides* e avaliação da bioatividade das frações

Com base nos resultados do ensaio anterior, a CLM do extrato aquoso de *C. ambrosioides* foi definida em 4.500 ppm. As frações preparadas nesta mesma concentração revelaram, após as 24 horas de exposição, que todas as cinco frações obtidas provocaram a morte dos J₂ de *M. incognita*, confirmando em todas as eluições a presença de componentes com ação nematicida.

As frações 1 e 2 preparadas na concentração 4.500 ppm provocaram a morte de 100% dos indivíduos, não diferindo estatisticamente do controle (extrato bruto), que apresentou média de 50 J₂ mortos/placa. A fração 3 apresentou a média de J₂ mortos de 47,6, contudo, também não diferiu das frações 1 e 2, mencionadas anteriormente. As frações 4 e 5 provocaram as menores médias de mortalidade de J₂, com valores de 36,3 e 21,66, respectivamente (Tabela 15 e Gráfico 7).

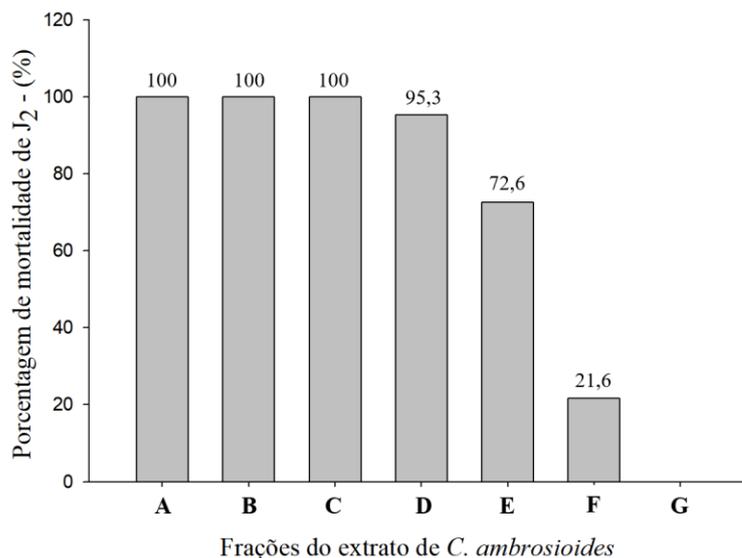
Tabela 15 – Número de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne incognita* mortos após serem submetidos ao tratamento com as frações obtidas do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* na concentração de 4.500 ppm.

Tratamentos	Número de J2 mortos após 24 horas de permanência nas frações
Extrato bruto (10.000 ppm)	50,0 a
Água	0,0 d
Fração 1-100% H ₂ O	50,0 a
Fração 2 -75% H ₂ O:25% MeOH	50,0 a
Fração 3 -50% H ₂ O:50% MeOH	47,6 a
Fração 4 - 25% H ₂ O:75% MeOH	36,3 b
Fração 5 -100% MeOH	21,6 c
Cv (%)	5,52

Médias obtidas de três repetições.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Gráfico 7 – Porcentagem de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J_2) de *Meloidogyne incognita* submetidos ao tratamento com as frações obtidas do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* na concentração de 4.500 ppm. A - Extrato bruto (Controle), B – Fração 1, C - Fração 2; D - Fração 3; E - Fração 4; F - Fração 5; G – Água (Controle).



Na determinação da CLM das frações, verificou-se que na concentração de 4.000 ppm, os compostos que apresentaram atividade nematicida estavam fortemente presentes na fração 1 do extrato aquoso de *C. ambrosioides*, sendo esta a que apresentou a maior média de mortalidade de J_2 (50). Embora não tenha diferido estatisticamente da fração 1, a fração 2 não provocou 100% de morte dos indivíduos. Foi possível observar que o composto de atividade nematicida ainda estava presente nas demais frações (2 a 5) da concentração de 4.000 ppm, apresentando média de 16,3 a 46,5 J_2 mortos, sendo que a menor taxa de mortalidade ocorreu com a fração da eluição metanólica (Tabela 16).

Tabela 16 – Concentração Letal Mínima de frações obtidas de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* sobre juvenis de segundo estágio (J_2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	Média de J_2 mortos após 24 horas de permanência nas frações obtidas do extrato aquoso de <i>C. ambrosioides</i>		
	Concentrações (ppm)		
	4.000	3.500	3.000
Extrato bruto	50,0 a	50,0 a	50,0 a
Água	0,0 e	0,0 d	0,0 c
Fração 1- 100% H_2O	50,0 a	31,6 a	12,3 b
Fração 2-75% H_2O :25% MeOH	46,5 a	28,6 b	4,3 c
Fração 3-50% H_2O :50% MeOH	35,2 b	2,6 c	1,3 c
Fração 4-25% H_2O :75% MeOH	23,4 c	1,6 cd	1,0 c
Fração 5-100% MeOH	16,3 d	0,0 d	0,0 c
Cv (%)	5,89	3,53	32,72

Médias obtidas de três repetições.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na concentração de 3.500 ppm, constatou-se a atividade nematicida somente nas frações 1 e 2, enquanto que na concentração de 3.000 ppm, ocorreu morte de juvenis somente na fração 1 do extrato aquoso (Tabela 4).

A espécie *C. ambrosioides* tem atividade nematicida em altas concentrações, quando usado como extrato aquoso (ALMEIDA *et al.*, 2007). A infusão a 10%, decocção a 10%, extrato aquoso e sumo puro demonstraram atividade anti-helmíntica *in vitro* sobre *Eudrilus eugeniae* (OLIVER *et al.*, 2006).

A forma tradicional de utilização de infusões de *C. ambrosioides* como vermífugo é mais segura do que o uso do óleo essencial da erva, contra *Caenorhabditis elegans* (MACDONALD *et al.*, 2004). O extrato aquoso de *C. ambrosioides* possui ação nematicida *in vitro* sobre *Pratylenchus brachyurus* nas concentrações de 2 e 20% e quando estocado por 24 horas, sendo uma opção para seu controle. Os resultados mostraram que o aplicado ao solo é mais útil no controle de *P. brachyurus* que quando a planta é utilizada em rotação de culturas (MELLO *et al.*, 2006).

Fitoquimicamente, a planta apresenta valores consideráveis de terpenos (JARDIM *et al.*, 2008; DEMBITSKY, 2008; MONZOTE *et al.*, 2009), sendo também constatado por meio de um *screening* fitoquímico a presença de flavonoides (livre e combinado) e alcaloides (HEGAZY & FARRAG, 2007).

Faria *et al.* (2015), relataram um percentual de 90% de inibição da eclosão de *M. chitwoodi*, quando os ovos deste nematoide foram submetidos à concentração de 2 μ L.mL⁻¹ dos componentes do óleo essencial de *C. ambrosioides*.

Jardim *et al.* (2008) estudaram a composição química e a atividade antifúngica do óleo essencial de *C. ambrosioides*. Através de análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) 13 compostos foram identificados, sendo os quatro mais importantes: (Z)-ascaridol (61,4%), (E)-ascaridol (18,6%), carvacrol (3,9%) e p-cimeno (2%). Os autores verificaram que os ascaridois são os principais compostos com propriedades antifúngicas. Nos estudos pelos autores foi verificado que o óleo essencial bruto inibiu completamente o crescimento micelial de todos os oito ensaios realizados com fungos fitopatogênicos a uma concentração de 0,3%, comprovando a sua elevada atividade antifúngica.

Além do ascaridol são encontrados na planta outros hidrocarbonetos terpênicos como: p-cimeno, α -terpineno, isoascaridol, piperitona, carvacrol, α -terpineol, 1,4-diidroxipment-2-eno e 1,2,3,4-tetrahidroxipmentano (CAVALLI *et al.*, 2004; JARDIM *et al.*, 2008).

Diversos autores afirmam que o ascaridol é o principal componente presente nas folhas de *C. ambrosioides* e que possui elevada atividade nematicida. Contudo, a análise do espectro de RMN de ^1H e ^{13}C da fração aquosa do extrato de *C. ambrosioides* revelaram a ausência do ascaridol nesta fração (Figuras 5 e 6). Ao comparar os resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que os picos de ^1H e ^{13}C diferem daqueles obtidos por Cavalli *et al.* (2004) e Emmanuel *et al.* (2017), onde os picos observados por estes autores estão ausente na fração aquosa de *C. ambrosioides*. Portanto, a ação nematicida nesta fração deve ser atribuída a outros compostos. Resultados semelhantes foram observados por MacDonald *et al.*, (2004), em que os autores observaram que quando infusões de *C. ambrosioides* passaram por um processo de extração utilizando como solvente o hexano para remover o ascaridol, verificou-se que a maior parte da atividade nematicida foi encontrada nas frações aquosas, as quais não continham ascaridol. Assim, MacDonald *et al.*, (2004) não atribuíram a atividade nematicida do extrato de *C. ambrosioides* unicamente ao ascaridol, porém os autores não elucidaram os compostos nematicidas presentes na fração aquosa dessa planta.

Figura 5 – Espectro de RMN ^1H do extrato aquoso de *C. ambrosioides* apresentando picos de hidrogênio (ppm), que difere da ressonância do ascaridol.

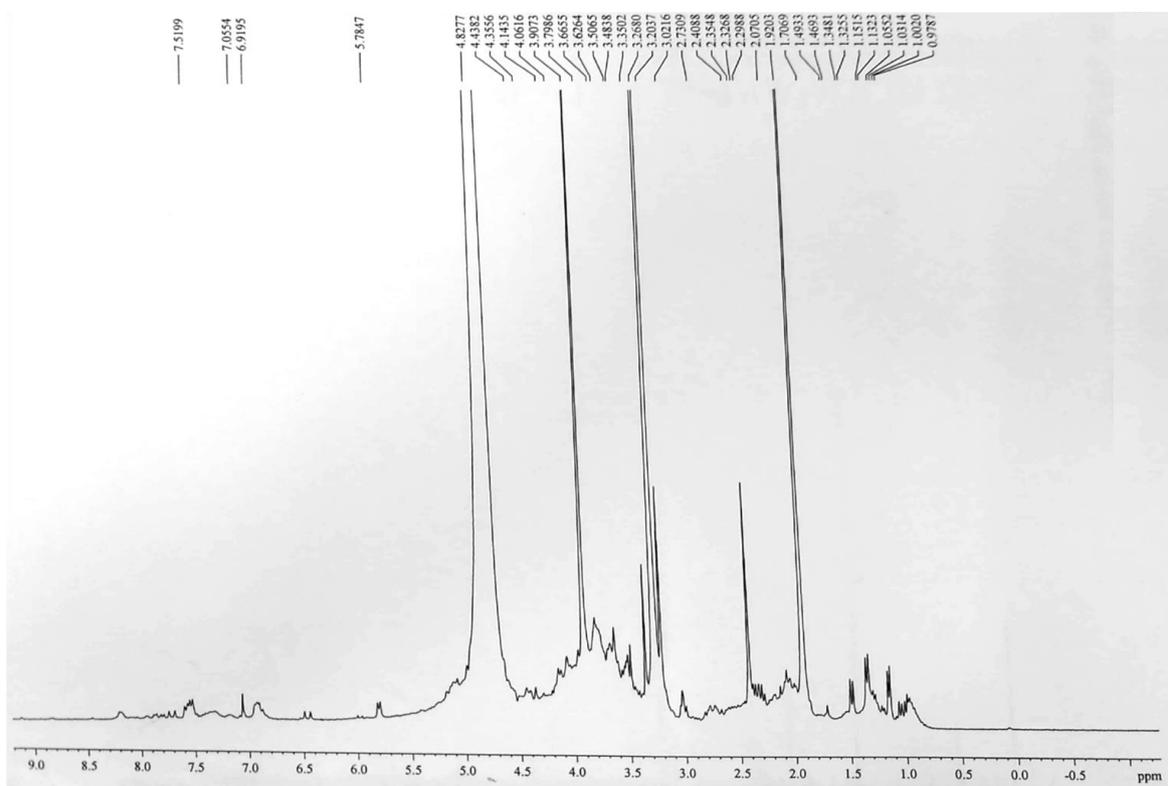
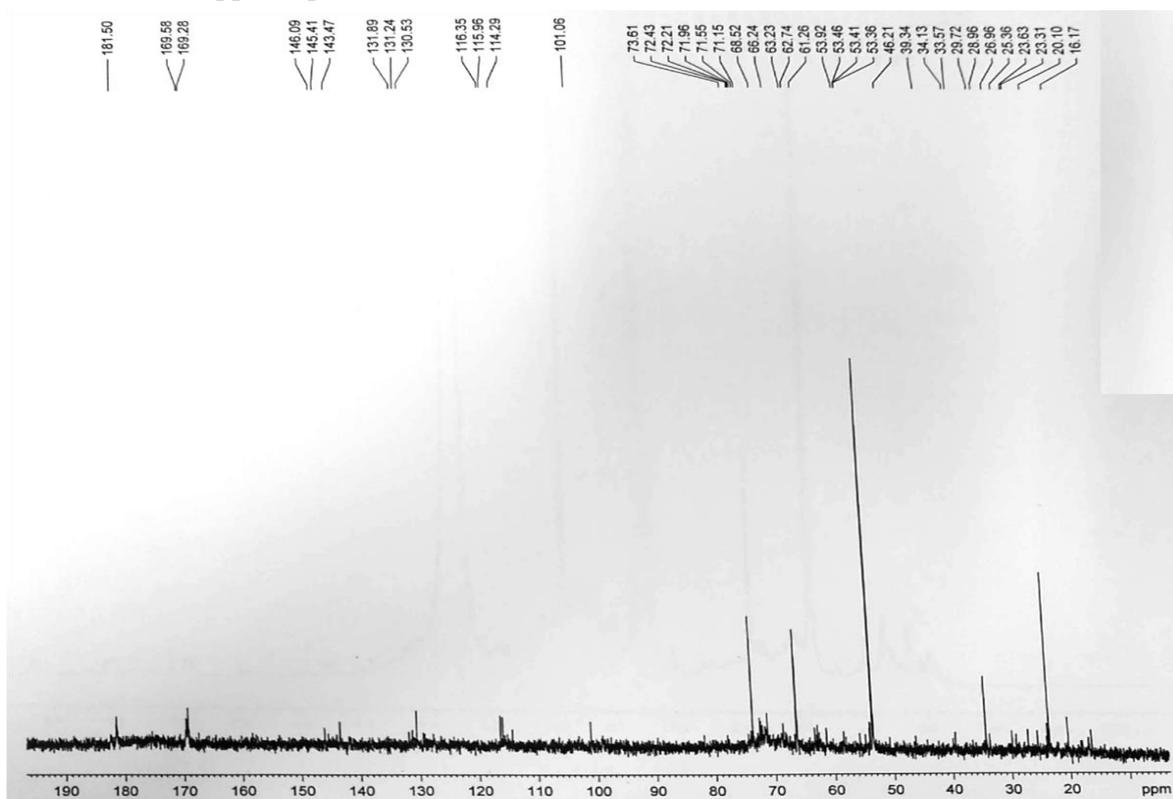


Figura 6 – Espectro de RMN ^{13}C do extrato aquoso de *C. ambrosioides* apresentando picos de carbono (em ppm), que difere da ressonância do ascaridol.



Torres *et al.* (2008), constataram a presença de ascaridol em óleos essenciais e produtos isolados de folhas de *Croton regelianus* cultivadas em duas diferentes regiões do Estado do Ceará. Os autores observaram atividade do ascaridol contra *Meloidogyne incognita*, *Aedes aegypti* e *Artemia* sp.

Um estudo mais aprofundo da fração aquosa de *C. ambrosioides*, utilizando da técnica de Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS) está sendo realizado no Instituto de Biotecnologia e Síntese Orgânica da Universidade Federal de Goiás em parceria com o Laboratório de Química da UFC. Relatórios prévios indicaram a presença de oligopeptídeos na fração aquosa.

Alguns autores descrevem os oligopeptídeos apresentando propriedades bactericidas e imunossupressoras, apresentando aplicações médicas e veterinárias. Estes compostos também desempenham papéis importante na agricultura na supressão de doenças em plantas por meio de suas atividades antimicrobianas e através da ativação de mecanismo de defesa de plantas (ONGENA *et al.*, 2007; ONGENA *et al.*, 2008; RAAIJMAKERS *et al.*, 2010 COCHRANE *et al.*, 2014; ALETI *et al.*, 2015).

Desta forma, considera-se que o extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides*, como já mencionado, possui vários compostos químicos, sendo o monoterpene ascaridol aquele a

que, até então, aquele que se atribui a ação nematicida (FARIA *et al.*, 2015). Verificou-se, porém, pelo presente estudo que não é somente esse monoterpene existente em *C. ambrosioides* que apresenta ação nematicida.

Análises mais detalhadas da LC-MS precisam ser realizadas para confirmação e elucidação do oligopeptídeo com ação nematicida presente na referida fração polar do extrato aquoso de *C. ambrosioides*. Os oligopeptídeos não têm sido mencionados como compostos químicos com efeitos nocivos a nematoides.

As informações obtidas nesta pesquisa poderão contribuir para a identificação de um novo composto natural que poderá ser melhor estudado com o propósito de emprego no controle do nematoide das galhas.

CONCLUSÕES

- 1- A concentração letal mínima do extrato aquoso foi de 4.500 ppm.
- 2- O composto com ação nematicida do extrato foliar de *C. ambrosioides* está presente na fração aquosa.
- 3- A ação nematicida presente no extrato aquoso de *C. ambrosioides* pode ser atribuído a um composto polar da classe dos oligopeptídeos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J Econ Entomol.** **15:438-444** (1925).
- 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.
- ALMANÇA, C.C.J.; POZZATTI, P.N.; CASAGRANDE, F.P.; SILVA FILHO J.P.; BISSI, B.; BARBOSA, B.C.; PORFÍRIO, L.C. Eficácia *in vitro* de extratos de *Chenopodium ambrosioides* sobre teleóginas de *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.80, n.1, p.43-49, 2013.
- biocontrol. **Trends Microbiol** 2008;16(3):115–25.
- 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.
- CARBONI, R. Z.; MAZZONETTO, F. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. **Revista Agroambiental**, Pouso Alegre, v. 5, n. 2, caderno II, p.61-66, ago. 2013.
- COCHRANE, S. A; VEDERAS, J. C. Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: a goldmine of antibiotic candidates. **Med Res Rev** 2014. <http://dx.doi.org/10.1002/med.21321>.
- CORBANI, R.Z.; ATLOÉ, J.; MAZZONETTO, F., ALEXANDRE BARCELLOS DALRI, A.B.; SOSSAI, V.L.M.; PIZETTA, L.C. Efeito de óleos essenciais sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* *in vitro*. **Revista Agrarian**, Dourados, v.3, n.10, p.194-199, 2011.
- 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.
- 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.
- EMMANUEL, N.; MENDOZA, C.; WINTER, M.; HORN, C. R.; VIZZA, A.; DREESEN, L.; HEINRICHS, B.; MONBALIU, J. C. M. **Scalable Photocatalytic Oxidation of Methionine under Continuous-Flow Conditions. Organic Process Research & Development.** 2017 21 (9), 1435-1438.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2017. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: dez. 2018.

FARIA, J.M.S.; SENA, I. RIBEIRO, B.; RODRIGUES, A.M.; MALEITA, C.M.N.; ABRANTES, I.; BENNETT, R.; MOTA, M. FIGUEIREDO, A.C.S. First report on *Meloidogyne chitwoodi* hatching inhibition activity of essential oils and essential oils fractions. **Journal of Pest. Science**. 89:207–217, 2016.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. 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.

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

FREIRE, M.S.; SANTOS, C.D.G. Reaction of plant species to *Meloidogyne enterolobii* and the efficiency of their aqueous extracts in controlling the pathogen. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 6, p. 2385-2398, 2018.

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

HALLAL, A.; BENALI, S.; MARKOUK, M.; BEKKOUCHEA, K.; LARHSINI, M.; CHAIT, A.; ROMANE, A.; ABBAD, A; EL ABDOUNI, M.K. Evaluation of the Analgesic and Antipyretic Activities of *Chenopodium ambrosioides* L. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences**, v.1 n.1, p.189-192, 2010.

JORGE, L.I.F.; FERRO, V.O.; KOSCHTSCHAK, M.R.W. Diagnose comparativa das espécies *Chenopodium ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria) e *Coronopus didymus* (L.)Sm (mastruço): principais características morfo-histológicas e químicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, n.2, p.143-153, 1986.

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.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exóticas**. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 512 p. 2002.

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.

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.

MELLO, A.F.S.; MACHADO, A.C.Z.; INOMOTO, M.M. Potencial de Controle da Erva-de-Santa-Maria sobre *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatol. Bras.** 31(5), set - out 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.

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.

MÜLLER, M. A. et al. In vitro toxicity and control of *Meloidogyne incognita* in soybean by rosemary extract. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 103–110, 2016.

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease **Microbiol Ver.** 2010;34(6):1037–62.

ONGENA, M.; JOURDAN, E.; ADAM, A.; PAQUOT, M.; BRANS, A. *et al.* Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. **Environ Microbiol.** 2007; 9 (4):1084–90.

PANDEY, A. K.; SINGH, P.; PALNI, U. T.; TRIPATHI, N. N. Application of *Chenopodium ambrosioides* Linn. essential oil as botanical fungicide for the management of fungal deterioration in pulses. **Biological Agriculture & Horticulture**, 29(3), 197–208. 2013.

PINHEIRO, J.B.; BOITEUX, L.S.; PEREIRA, R.B.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.M.D.G. Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil. Embrapa, Brasília, 16p., 2014. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

QUARLES, W. **Botanical pesticides from *Chenopodium***. IPM Practitioner, [S.l.], v.14, n.2, p.1-11, 1992.

RAAIJMAKERS J. M; DE BRUIJN, I.; NYBROE, O. ONGENA, M. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. **FEMS**

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, 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.

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

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

TORRES, M. C.; ASSUNÇÃO, J. C.; SANTIAGO, G. M. ANDRADE-NETO, M. SILVEIRA, E. R. COSTA-LOTUFO, L. V. et al. Larvicidal and nematocidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chem Biodivers** 2008; 5(12): 2724-8.

VITA, G.F., FERREIRA, I.; PEREIRA, M.A.V.C.; SANAVRIA, A.; AURNHEIMER, R.C.M.; BARBOSA, C.G.; S.M. GALLO, S.S.M.; V.G. VASCONCELLOS, H.V.G. Eficácia de *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) no controle de endoparasitos de *Coturnix japonica* (codorna japonesa). **Pesq. Vet. Bras.** 35(5):424-430, 2015.

YEN, Y.P., YEH, M.J., & HSIAO, W.F. Synthesis and nematocidal activity of ascaridole derivatives against *Meloidogyne incognita* and *Aphelenchoides besseyi*. **Journal of Pesticide Science**, 32(1), 2007.

ZOHRA, T.; OVAIS, M.; KHALIL, A. T.; QASIM, M.; AYAZ, M.; SHINWARI, Z. K. Extraction optimization, total phenolic, flavonoid contents, HPLC-DAD analysis and diverse pharmacological evaluations of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. **Natural Product Research**, 1–7. (2018).

CAPÍTULO 3 - ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Meloidogyne konaensis* EM TOMATEIRO E SUAS ESPÉCIES VEGETAIS HOSPEDEIRAS

Introdução

A espécie *Meloidogyne konaensis* Eisenback, Bernard, Schmitt (1991), foi descoberta em 1991 e descrita em 1994 a partir de populações isoladas de plantas de café (*Coffea arabica* L.) na ilha de Kona, Havaí – EUA (EISENBACK *et al.*, 1994). Os padrões perineais desta espécie podem variar entre as características dos padrões de espécies como *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. Em estudos realizados no Havaí, observou-se que *M. konaensis* apresenta três fenótipos diferentes de esterase, sendo estes Est F1 (=Est P1), Est II (= *M. incognita*), Est FII e Est K3 (= M3F1), variando de acordo com a espécie hospedeira, sendo apenas a primeira a única a parasitar o café (SIPES *et al.*, 2005; MONTEIRO, 2016).

Uma das principais doenças que limita a produção do cafeeiro no Havaí, conhecida como declínio do café é causada pela *M. konaensis*. Os sintomas causados por este patógeno se manifestam nas raízes, com a formação de galhas, ocasionando uma diminuição na absorção de água e nutrientes pela raiz, resultando no amarelecimento das folhas, murcha e possível morte da planta (EISENBACK *et al.*, 1994; NELSON *et al.*, 2002).

Na década de 1990, com a expansão da cultura do café no Havaí, ocorreu também a disseminação do *M. konaensis* na ilha, provavelmente, devido ao fato da utilização de mudas de café infectadas. Em 2001, 85% das áreas produtoras de café em Kona estavam infectadas com este patógeno, causando uma redução de cerca de 20-25% na produção (NELSON *et al.*, 2002).

No Brasil, o primeiro relato de *M. konaensis*, ocorreu no estado do Ceará, infectando plantas de repolho (*Brassica capitata* L.), mamão (*Carica papaya* L.), noni (*Morinda citrifolia* L.) e canapum (*Physalis angulata* L.) em diferentes localidades do Estado. Através do método de eletroforese de isoenzimas, verificou-se a presença de populações atípicas de *Meloidogyne*, as quais diferiam de todas as espécies de *Meloidogyne* já relatadas no Brasil (SILVA, 2014). Por meio de abordagens morfológicas, morfométricas, citológicas, bioquímicas, hospedeiras diferenciadoras e técnicas moleculares, foi possível a identificação da espécie como sendo a mesma do Havaí, *M. konaensis*. Contudo, os isolados encontrados no Brasil não causaram infecção no cafeeiro (MONTEIRO, *et al.*, 2016).

Diferentemente do Brasil, o *M. konaensis* no Havaí foi encontrado, ocorrendo naturalmente, apenas em café. Entretanto, verificou-se que, em condições de casa de

vegetação, este nematoide apresentou uma elevada taxa de reprodução em tomateiro, além da capacidade de se desenvolver em uma ampla faixa de temperatura (ZHANG e SCHMIITT, 1994).

A sobrevivência de fitonematóides em condições ambientais adversas pode variar entre as espécies e entre os seus estádios de desenvolvimento. A temperatura é um fator extremamente importante para o sucesso do desenvolvimento e a manutenção da população do nematoide dentro ou fora da planta (EVANS, 1987). O fator temperatura pode controlar o desenvolvimento embrionário dentro dos ovos e a habilidade do J₂ em romper e liberar a casca do ovo, e assim iniciar o processo de parasitismo (LEE & ATKINSON, 1977).

Algumas espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne* apresentam uma grande variedade de espécies hospedeiras. Dentre elas, destacam-se *M. incognita*, *M. hapla*, *M. javanica* e *M. arenaria*, que infectam numerosas espécies vegetais de diferentes famílias botânicas em todo o mundo. Conhecer a hospedabilidade de plantas de interesse agrícola aos nematoides é informação de extrema importância para implementação de um plano de manejo, principalmente, quando se usa como estratégia de controle a rotação de culturas (COSTA *et al.*, 2001). Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes temperaturas na eclosão e infectividade de juvenis de *M. konaensis*, bem como determinar a reação de hospedabilidade do *M. konaensis* em diferentes espécies vegetais e a duração do seu ciclo de vida em tomateiro.

Material e métodos

Ensaio 1 - Avaliação do efeito da temperatura na eclosão e infectividade de *M. konaensis*

Com o intuito de avaliar o efeito da temperatura na eclosão de indivíduos de segundo estágio (J₂) de *M. konaensis*, procedeu-se a metodologia de extração de ovos proposta por Bonetti e Ferraz (1981), onde raízes de tomateiro cv. Santa Clara infectadas com *M. konaensis*, foram trituradas utilizando um liquidificador com água contendo hipoclorito de sódio a 0,5 % por 30 segundos. Em seguida, a suspensão obtida foi vertida na peneira de 20 mesh (0,840 mm), acoplada as peneiras de 100 mesh (0,149 mm) sobre outra de 400 mesh (0,037 mm). Utilizando o microscópio estereoscópio, um total de 300 ovos de *M. konaensis* foram transferidos para câmaras de eclosão, que consistiram em placas de Petri de acrílico de 3,5 cm de diâmetro, contendo 3 mL de água destilada. Avaliou-se o número de J₂ eclodidos de *M. konaensis* nas temperaturas de 5, 15, 30 e 35 °C. A testemunha constou apenas da suspensão de ovos em água destilada mantidas em temperatura ambiente 25 ± 2 °C. As

câmaras de eclosão foram postas em bandejas de polietileno forradas com papel de filtro umedecido diariamente. Contabilizou-se o número de J₂ eclodidos em intervalos de cinco dias, finalizando a avaliação aos 15 dias. A contagem do número de indivíduos eclodidos foi feita sob microscópio estereoscópio e em microscópio de luz.

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e 6 repetições em cada tratamento em que a parcela experimental consistiu em uma placa de Petri contendo 300 ovos, totalizando 30 placas e 9.000 ovos. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico Sisvar.

Para avaliar a infectividade de juvenis de *M. konaensis*, utilizou-se os J₂ eclodidos do ensaio anterior, onde mudas de tomateiro cv. Santa Clara com 30 dias de idade, apresentando duas a três folhas verdadeiras foram transplantadas para copos descartáveis com capacidade 500 mL, contendo uma mistura autoclavada e úmida de solo e esterco caprino na proporção 2:1 (v:v). Os juvenis do ensaio anterior foram mantidos em placas nas cinco temperaturas no decorrer dos 15 dias da avaliação. Terminado esse tempo, foram levados para a temperatura ambiente e no dia seguinte inoculados em plantas de tomateiro 'Santa Clara'.

Um total de 500 J₂ eclodidos em placas mantidas em cada temperatura foram inoculados em plantas distribuindo o inóculo em um orifício próximo ao colo da planta (100 J₂/planta) com 3 cm profundidade fechando-se o orifício em seguida. Após a inoculação, as mudas de tomateiro foram mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 32 ± 2 °C.

Aos cinco dias após a inoculação, todas as plantas de tomateiro foram retiradas dos copos descartáveis para a avaliação, lavando-se as raízes em água corrente para a remoção do solo aderido. Para observação dos indivíduos que penetraram nas raízes de cada tratamento, procedeu-se o método de coloração de nematoides com fucsina ácida, seguindo a metodologia proposta por Byrd *et al.* (1983) com algumas adaptações, após a coloração foram preparadas lâminas com os fragmentos de raízes que foram levadas ao microscópio de luz para a quantificação e visualização dos indivíduos presentes nas raízes.

O ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco plantas de tomateiro para serem inoculadas com J₂ de cada temperatura (5, 15, 25, 30 e 35 °C). A parcela experimental foi constituída de uma planta de tomateiro, num total de 25 plantas avaliadas. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de comparação de médias utilizando o *software* estatístico sisvar.

Ensaio 2 - Estudo do ciclo de vida de *M. konaensis* em tomateiro ‘Santa Clara’

O inóculo de *M. konaensis* foi obtido a partir de plantas de tomateiro utilizando técnica de extração de ovos proposta por Bonetti e Ferraz (1981). Um total de 3.000 ovos de *M. konaensis* foram inoculados em plantas de tomateiro ‘Santa Clara’ com 30 dias de idade, quando apresentavam duas a três folhas verdadeiras. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação sob temperatura de 32 ± 2 °C. A avaliação da infecção iniciou-se três dias após a inoculação, em que foi retirado um total de três plantas de tomate em intervalo de três dias. O desenvolvimento de *M. konaensis* em raízes de tomateiro foi avaliado durante o período de 30 dias (ovo a ovo).

Para observação dos estádios de desenvolvimento do nematoide, as raízes foram coradas com fucsina ácida seguindo a metodologia proposta por Byrd *et al.* (1983) com algumas adaptações. As raízes infectadas foram lavadas para retirada de solo aderido e depois imersas em hipoclorito de sódio (30 mL do produto comercial e 50 mL de água destilada) por 6 minutos em agitação constante. Em seguida, as raízes foram imersas em água destilada por 15 minutos, seguindo-se um aquecimento em fucsina ácida (0,35g fucsina ácida, 25 mL ácido acético glacial, 75 mL água destilada) diluída (1mL do corante concentrado em 30 mL de água) até a fervura (2 minutos). Após retirar do corante e ficar a temperatura ambiente, as raízes foram imersas em glicerina (30 mL) acidificada com ácido clorídrico (200 µL) e aquecidas rapidamente (2-3 minutos) em aquecedor magnético. Fragmentos (2-3 cm) das raízes assim tratadas foram transferidas para lâminas e cobertas com lamínulas ou com outra lâmina fina. A visualização de todas as fases do nematoide foi feita utilizando um microscópio de luz nos aumentos de 2,5, 10 e 40X.

Ensaio 4 – Reação de suscetibilidade de espécies vegetais ao *M. konaensis*

A população pura de *M. konaensis*, foi mantida por meio de reinoculações periódicas em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. vc. Santa Clara) e em cóleus (*Solenestemon scutellarioides* L. (Codd)), que foram cultivados em mistura autoclavada de solo e esterco caprino na proporção 2:1, e mantidas em casa de vegetação, sob temperatura de 32 ± 2 °C.

Foram utilizadas 28 espécies vegetais de 12 famílias botânicas, sendo elas das famílias **Apiaceae**: *Coriandrum sativum* L., *Daucus carota* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym; **Asteraceae**: *Lactuca sativa* L.; **Brassicaceae**: *Brassica capitata* L., *Brassica oleraceae* L., *Eruca sativa* Mill; **Caricaceae**: *Carica papaya* L.; **Chenopodiaceae**: *Chenopodium ambrosioides* L.; **Cucurbitaceae**: *Citrullus lanatus* Thunb., *Cucumis melo* L., *Cucumis*

sativus L., *Curcubita pepo* L., *Cucurbita máxima* L.; **Fabaceae:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *Pisum sativum* L., *Arachis hypogaea* L.; **Lamiaceae:** *Solenostemon scutellarioides* L. (Codd); **Malvaceae:** *Gossypium hirsutum* L., *Abelmoschus esculentus* L. Moench; **Passifloraceae:** *Passiflora edulis* Sims; **Rubiaceae:** *Coffea arabica* L. e **Solanaceae:** *Solanum lycopersicum* L., *Solanum melongena* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Physalis angulata* L., *Solanum aethiopicum* L.

Para a produção de mudas de cada espécie avaliada, realizou-se a semeadura em bandejas de poliestireno expandido (isopor), com 128 células, contendo a mistura autoclavada de solo e esterco caprino na proporção 2:1. As mudas foram transplantadas no estádio de duas a três folhas definitivas para vasos de polietileno (1 L), contendo o mesmo substrato da semeadura. Aos três dias após o transplante, foi realizada a inoculação de 5.000 ovos/J₂ de *M. konaensis*, distribuído em três orifícios posicionados a 1 cm do colo da planta, a uma profundidade de aproximadamente 3 cm.

Para a extração de ovos adotou-se a metodologia proposta por Bonetti e Ferraz (1981), que consiste em triturar as raízes de plantas infectadas, utilizando um liquidificador com água contendo hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos. Em seguida, a suspensão obtida foi vertida na peneira de 20 mesh (0,840 mm), acoplada as peneiras de 100 mesh (0,149 mm) sobre outra de 400 mesh (0,037 mm). O número de ovos foi estimado pela contagem de três alíquotas de 50 µL em câmara de Peters sob microscópio estereoscópio.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada espécie vegetal testada e plantas de tomate cv. Santa Clara para confirmação da viabilidade do inóculo. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas diariamente, sob temperatura de 32 ± 2 °C.

As plantas foram avaliadas, individualmente, após 60 dias da inoculação com o nematoide, com exceção do cafeeiro, sendo avaliado cinco meses após a inoculação. As raízes foram lavadas em água corrente para a remoção do solo, em seguida, procedeu-se a contagem do número de galhas (NG) e do número de massas ovos (NMO). O número de ovos (NO) foi obtido a partir da extração seguindo a metodologia de Bonetti e Ferraz (1981) e estimado pela contagem de três alíquotas de 50 µL em câmara de Peters sob microscópio estereoscópio. O fator de reprodução (FR) foi calculado de acordo com equação abaixo, onde Pf é a população final e Pi é a população inicial.

$$FR = \frac{Pf}{Pi}$$

A suscetibilidade do hospedeiro foi avaliada baseada no fator de reprodução, sendo considerada suscetível (S), quando o $FR \geq 1,0$; resistente (R), quando o $FR < 1,0$ e não hospedeira (NH) quando o $FR = 0$ (OOSTENBRIK, 1966).

Resultados e discussão

Ensaio 1 - Avaliação do efeito da temperatura na eclosão e infectividade de *M. konaensis*

De maneira geral, a temperatura influenciou diretamente na taxa de eclosão dos juvenis de segundo estágio de *M. konaensis*. Foi possível observar que nas temperaturas de 30 e 35 °C e no tempo determinado de 15 dias ocorreu um maior número de J₂ eclodidos (296,66 e 294,67, respectivamente). Esses valores, porém, não diferiram da temperatura ambiente (25 ± 2 °C) demonstrando que a faixa de temperatura de 25 a 35 °C parece favorecer a embriogênese e a eclosão do nematoide. Verificou-se diferenças estatísticas entre as temperaturas de 5 e 15°C, as quais apresentaram, ao final do ensaio, as médias mais baixas de eclosão de 94,5 e 152 juvenis eclodidos, respectivamente. Ambas as temperaturas também diferiram do controle, que apresentou média de eclosão de J₂ de 297,67 (Tabela 17).

Tabela 17 – Média de J₂ de *Meloidogyne konaensis* eclodidos após 15 dias de permanência nas temperaturas de 5, 15, 25, 30 e 35 °C.

Temperaturas	N de J ₂ eclodidos
Temperatura 1 – 5 °C	94,5 c
Temperatura 2 – 15 °C	152 b
Temperatura 3 – 25 °C*	297,67 a
Temperatura 4 – 30 °C	296,66 a
Temperatura 5 – 35 °C	294,67 a
Cv (%)	4,72

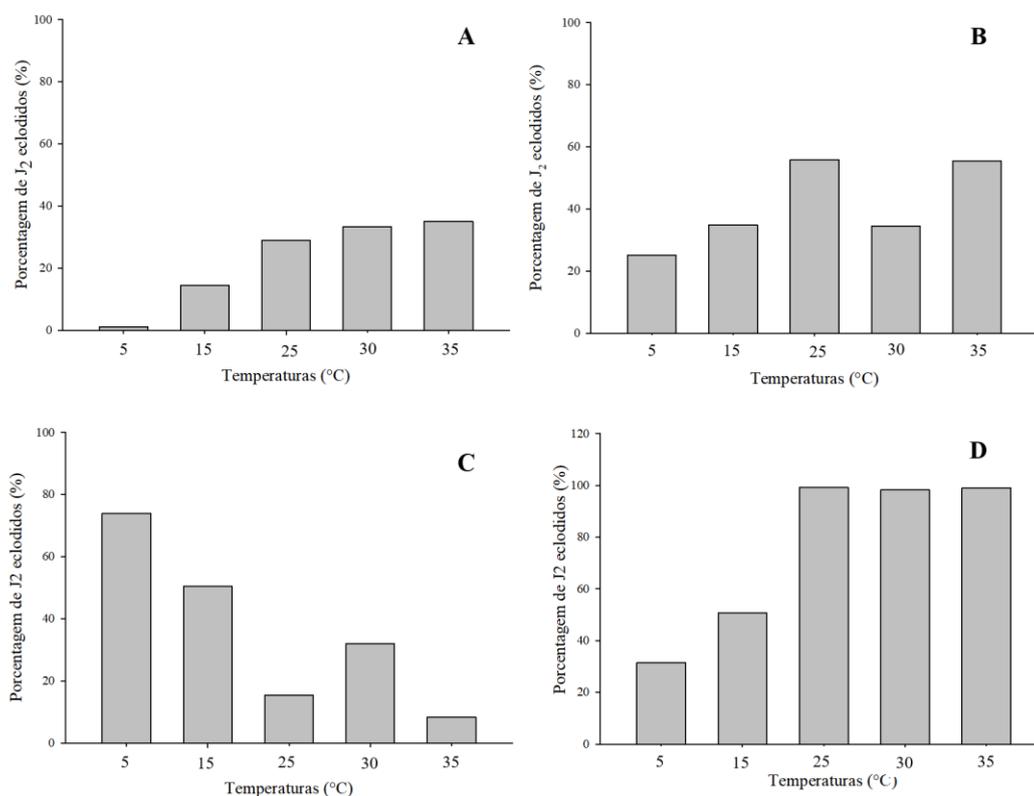
*Temperatura 3 – Controle (Temperatura ambiente)

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

Observou-se que em temperaturas mais baixas, a eclosão foi mais lenta, apresentando a taxa de 1,06% de J₂ eclodidos nos primeiros cinco dias na temperatura de 5 °C e de 14,47% para 15 °C. As maiores taxas de eclosão das temperaturas de 5 e 15 °C ocorreram aos 15 dias, sendo estas de 73,89 e 50,44%. Este comportamento sugere que em temperaturas mais baixas o ciclo deste nematoide deve ser mais longo. Esses resultados são semelhantes aos constatados no experimento de Morris *et al.* (2011) com *M. minor* a 15 °C, os autores atribuem a lenta taxa de eclosão nesta temperatura a redução da embriogênese do nematoide.

Foi possível observar também que na temperatura de 35 °C a eclosão foi acelerada, com as maiores taxas observadas nos 10 primeiros dias, atingindo um total de 55,48%. A temperatura de 30 °C apresentou uma taxa de eclosão mais uniforme, sendo que o maior percentual de eclosão foi observado aos 10 dias (Gráfico 8).

Gráfico 8 – Percentual de eclosão de J₂ de *Meloidogyne konaensis* aos (A) 5, (B) 10, (C) 15 dias e (D) a porcentagem total de indivíduos eclodidos ao final da avaliação submetidos a temperaturas de 5, 15, 25, 30 e 35 °C.



Zhang e Schmitt (1995) verificaram que a taxa de desenvolvimento embrionário de *M. konaensis* diminuiu quando os ovos deste nematoide foram submetidos a temperaturas acima de 30 °C. Na temperatura de 5 °C os autores constataram que não houve divisão celular e nem a formação do embrião. Ainda segundo os mesmos autores, a temperatura ótima para desenvolvimento e eclosão de *M. konaensis* foi de 24 °C, nesta temperatura ocorreu em termos a menor porcentagem de mortalidade elevado percentual de eclosão de J₂.

Decker (1989) e Wallace (1971) verificaram que o intervalo de temperatura entre 15 e 30 °C possibilita o desenvolvimento da maioria das espécies do gênero *Meloidogyne*. Foi verificado também um efeito específico entre espécies quanto à temperatura. Vrain & Barker (1978), observaram que houve o desenvolvimento de embriões em ovos de *M. hapla* na

temperatura de 8 °C, o que não aconteceu com *M. incognita*. Campos *et al.* (2008), observaram um percentual de 40% de J₂ eclodidos de *M. javanica* na temperatura de 10 °C e um percentual de 90% na temperatura de 28 °C. Os autores afirmam que esta última temperatura favorece a eclosão de *M. javanica*. Sousa Júnior (2015) relatou que a eclosão de J₂ de *M. javanica* raça 1 atingiu 100% de eclosão aos 10 dias em água nas temperaturas de 20 a 35°C, sendo mais reduzido o percentual (79%) nas temperaturas de 10 e 15 °C.

Lima (1984), avaliando a eclosão de juvenis de *M. exigua* em diferentes temperaturas, observou que a porcentagem média de eclosão decresceu exponencialmente com o tempo, para todas as temperaturas testadas. O máximo de eclosão (38,2%) observado pelo autor, ocorreu no segundo dia em temperatura de 25 °C, enquanto que a 30 °C, 20 °C, 15 °C e 10 °C houve 26,1%, 8,2%, 6,4% e 5,7% de eclosão, respectivamente.

Freire & Ferraz (1977) também encontraram maior eclosão de J₂ de *M. incognita* e de *M. javanica* em temperatura de 28 °C, embora Bird (1972) e Vrain (1978) tenham observado que a eclosão de J₂ de *M. javanica* foi mais rápida em temperaturas constantes de 25 °C e de 30 °C. Porém, a taxa de eclosão de J₂ foi insignificante, abaixo de 12 e 15 °C para *M. incognita* e *M. javanica*, respectivamente (BIRD & WALLACE, 1965; GOODELL *et al.*, 1989; DUTRA, 2002). A 8 °C, 85% dos ovos de *M. javanica* tiveram a eclosão inibida, quando comparados àqueles não submetidos a baixa temperatura (HUANG & PEREIRA, 1994).

O conhecimento das temperaturas que favorecem ou desfavorecem o patógeno são informações de interesse no estudo da biologia e desenvolvimento de uma nova espécie de nematoide.

Ensaio 2 - Avaliação do efeito da temperatura na infectividade de *M. konaensis*

Os resultados obtidos neste ensaio, cinco dias após a inoculação em tomateiros que permaneceram em casa de vegetação (32 ± 2 °C), revelaram que os juvenis que eclodiram nas placas com água e que foram mantidos em câmara de eclosão nas temperaturas mais baixas penetraram em menor número nas raízes de tomateiro. As médias de J₂ (fusiformes e cilíndricos (com sítios de alimentação estabelecidos) observados nas raízes foram de 12,8 e 25,2 J₂/raiz, com juvenis obtidos nas temperaturas 5 e 15 °C, respectivamente, valores que correspondem a uma redução de 84% e 68,3% com relação à testemunha. Estes resultados diferiram estatisticamente entre si e dos demais constatados nas outras temperaturas. Com relação aos J₂ que eclodiram nas temperaturas de 25 e 30 °C, não houve diferença estatística no número de J₂ presentes nas raízes, cujas médias foram de 79,6 e 78,8 J₂/raiz,

respectivamente. Na inoculação com J₂ obtidos na temperatura de 35 °C ocorreu uma redução significativa no número de juvenis (53,6) presentes nas raízes de tomateiro, porém ainda superior ao número de indivíduos infectivos das temperaturas de 5 e 15 °C, tendo ocorrido uma redução de 32,66% quando comparado à temperatura de 25 °C (Tabela 18 e Gráfico 9).

Tabela 18 – Média de J₂ de *Meloidogyne konaensis* encontrados em raízes de tomateiro cinco dias após a inoculação.

Temperaturas	Média de indivíduos
Temperatura 1 – 5 °C	12,8 d
Temperatura 2 – 15 °C	25,2 c
Temperatura 3 – 25 °C*	79,6 a
Temperatura 4 – 30 °C	78,8 a
Temperatura 5 – 35 °C	53,6 b
Cv (%)	9,02

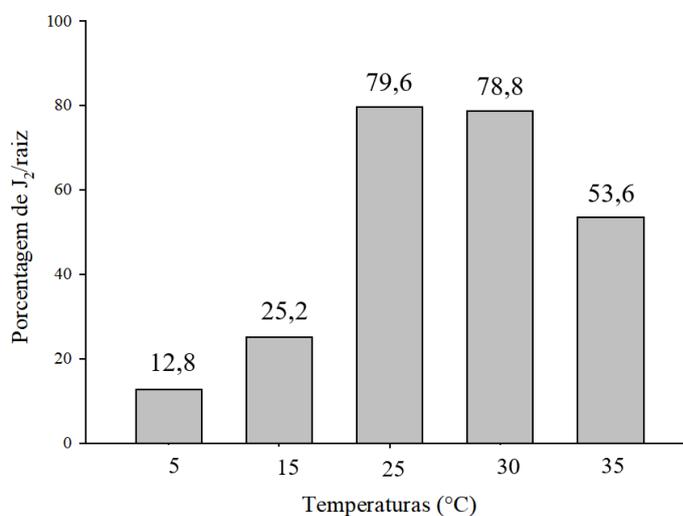
* Temperatura 3 – Controle (Temperatura ambiente)

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

Gourd *et al.* (1989) observaram uma boa capacidade de penetração de *M. incognita* e *M. javanica* em raízes de soja suscetíveis mantidas em estufas numa faixa de temperatura entre 25 e 31 °C. Contudo, Di Vito & Greco (1988) ao avaliarem a penetração de J₂ de *M. artiellia* em raízes de plantas de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) observaram que não foi satisfatória a penetração dos juvenis em raízes de plantas mantidas em temperatura de 30 °C. No entanto, os autores verificaram que nas temperaturas ambientes de 15 e 25 °C ocorreram os maiores percentuais de penetração de J₂, sugerindo que o *M. artiellia* seja favorecido por temperaturas mais baixas.

Campos *et al.* (2006a) constataram que a temperatura a incubação de J₂ de *M. javanica* na temperatura de 10°C durante 20 dias não provocou injúrias e nem promoveu a ativação do sistema nervoso do nematóide reduzindo seus movimentos para evitar gastos de energia. Por outro lado, a incubação de J₂ de *M. javanica* na temperatura contínua de 5 °C pode provocar injúrias nos tecidos do patógeno, reduzindo a capacidade parasitária, o desenvolvimento e a reprodução do nematoide.

Gráfico 9 – Porcentagem de J₂ de *Meloidogyne konaensis* obtidos em temperaturas de 5 a 35 °C e presentes em raízes de tomateiro cinco dias após a inoculação.



Campos *et al.* (2006b), observaram que a penetração de juvenis de *M. javanica* após quatro dias da inoculação em soja nas temperaturas de casa de vegetação de 12 a 20 °C foi inibida. Na faixa de temperatura entre 24 e 28 °C ocorreram os maiores percentuais de penetração de J₂, os quais foram visualizados nas raízes mediante coloração com fucsina ácida. Temperaturas acima de 32 °C provocaram reduções nos percentuais de penetração. Haroon *et al.* (1993), verificaram que temperaturas do solo acima de 33 °C favoreceram o aumento no número de galhas em tomateiro.

Neste ensaio a temperatura de casa de vegetação, onde foram mantidos todos tomateiros do ensaio pelos cinco dias, variou de 32 ± 2 °C, sendo, portanto, uma temperatura uniforme para todos os tratamentos. A variação da temperatura neste ensaio foi nas câmaras de eclosão. Desta forma, constatou-se que a infectividade dos juvenis foi afetada pelo possível gasto de energia (reservas lipídicas e proteicas) da fase infestante nas temperaturas de 5, 15 e 35 °C em que permaneceram por 15 dias. Conforme observou-se em laboratório, nas temperaturas de 5 e 15 °C um maior número de juvenis teria eclodido no final do ensaio, permanecendo na água fria por menor espaço de tempo, sendo eles provavelmente os indivíduos que penetraram nas raízes. Na temperatura de 35 °C ocorreu o contrário. Houve maior taxa de eclosão nos primeiros 10 dias, e os juvenis permaneceram em movimento nessa temperatura por um maior período, o que supostamente lhes causou gastos de energia afetando a sua capacidade de penetração.

A temperatura afeta diretamente a taxa de metabolismo dos nematoides e pode induzir tanto criobióse como termobióse em diversas espécies deste patógeno. A faixa de

temperatura mínima para sobrevivência é de 5-10 °C, para o desempenho normal das atividades metabólicas de 15-22 °C e a ideal ou ótima é de 24-30 °C. Temperaturas acima de 33°C provocam limitações no desempenho das atividades gerais 40 °C é a temperatura máxima para sobrevivência (FERRAZ & BROWN, 2016).

Campos *et al.* (2006a) constataram que a incubação de J₂ de *M. javanica* em água por dois dias na temperatura de 28 °C, proporcionou uma redução acentuada na penetração, no número de fêmeas, massas de ovos, número total de ovos e número de ovos por grama de raízes em 45,40, 73,68, 60,32, 44,64 e 36,63%, respectivamente, comparadas com a testemunha em que os J₂ empregados eram recém eclodidos. Dutra (2002) constatou uma perda de 58% da infectividade quando incubou J₂ de *M. incognita* por um período de dois dias e de 99,7% aos seis dias de incubação. Sugerindo que a redução da infectividade envolve a está relaciona com a perda do lipídio corporal desses indivíduos.

Ensaio 3 - Estudo do ciclo de vida de *M. konaensis* em tomateiro 'Santa Clara'

Os estádios de desenvolvimento identificados nas raízes inoculadas de tomateiros 'Santa Clara' de acordo com o tempo de remoção das plantas, realizado a cada três dias, foram de : J₂ fusiforme, J₂ cilíndrico, juvenis de terceiro estágio (J₃), juvenis de quarto estágio (J₄), machos antes da emergência, fêmeas jovens, fêmeas maduras com massa de ovos e numerosos ovos em diferentes estádios de desenvolvimento.

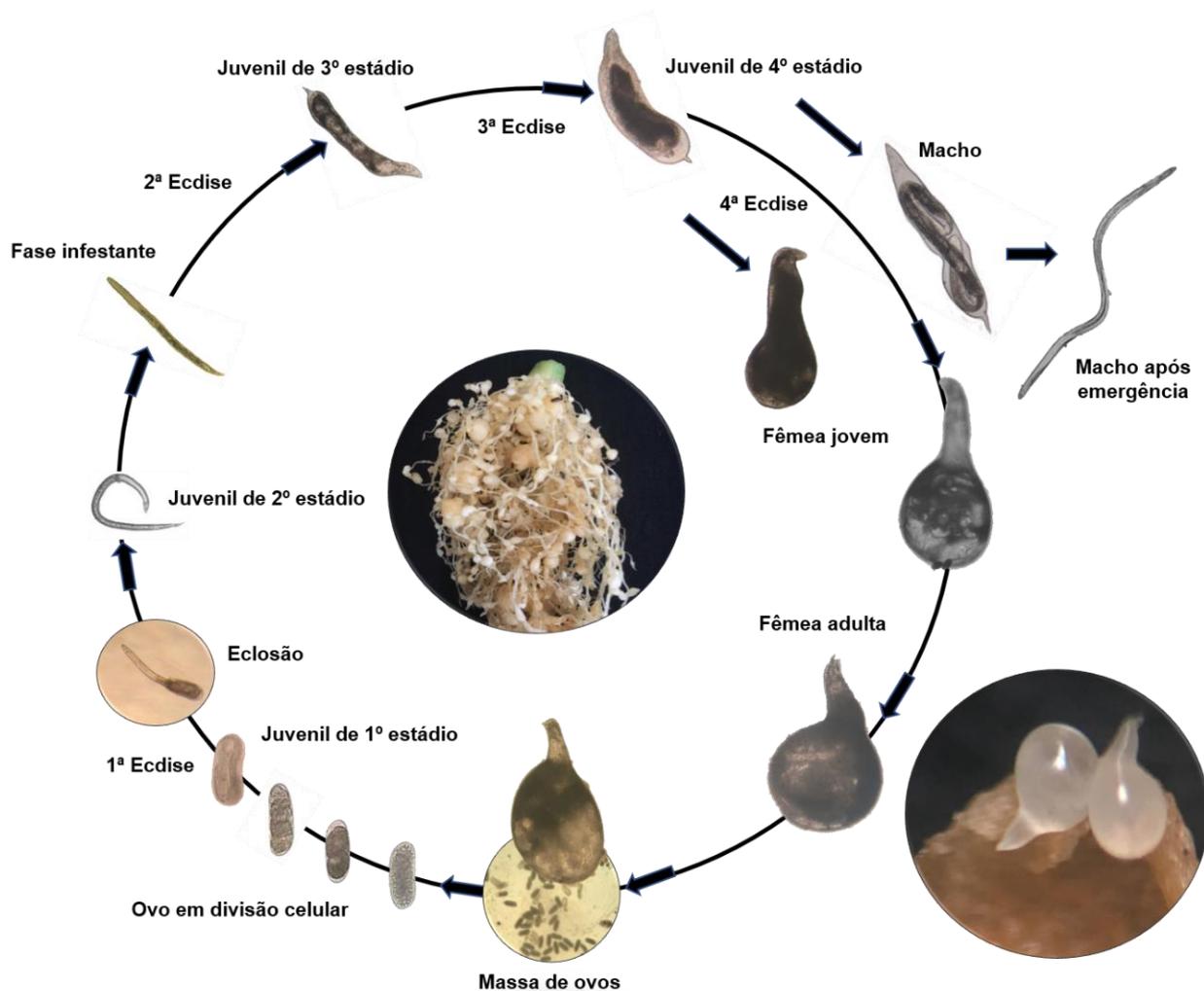
O ciclo de vida do nematoide *M. konaensis* em tomate cv. Santa Clara foi fechado no 20º dia após a inoculação, onde foi constatado a presença de fêmeas adultas em oviposição. Estes resultados obtidos nas nossas condições diferem daqueles encontrados por Zhang e Schmitt (1995) no Havaí, os quais verificaram que a duração do ciclo de vida desta espécie de nematoide na temperatura de (26 °C) foi de 26 dias em tomate cv. Rutgers.

Foi constatado a presença de juvenis de 2º estágio (J₂) ainda fusiformes na raiz de tomateiros três dias após a inoculação dos ovos e de J₂ cilíndricos, ao final do sexto dia. A presença de pequenas galhas (1 a 2 mm) e de juvenis de 3º estágio (J₃) nas raízes de tomateiro foi perceptível no 9º dia após a inoculação. Juvenis de 4º estágio foram observados três dias depois, ou seja, com 12 dias do início do ensaio. As fêmeas jovens desenvolveram-se após o 15º dia, sendo a sua segura constatação feita ao 18º dia, decorridos 6 dias da fase J₄. Ressalta-se que as fases de J₂, J₃ e J₄ foram também visualizadas em raízes coletadas ao 6º, 12º e 15º dia após inoculação, respectivamente, em razão da heterogeneidade do inóculo que continha tanto ovos em embriogênese como ovos com juvenis formados. Fêmeas adultas com massa de ovos foram observadas no 21º dia após a inoculação, encerrando assim o ciclo do nematoide.

No 24º dia, observou-se a presença de ovos já contendo juvenis do primeiro estágio (J₁) e três dias depois (27º dia), constatou-se a presença de J₂ fusiformes, dando início a um novo ciclo de infecção. A presença de machos, antes de sua emergência, somente foi observada ao final do experimento, no 30º dia após a inoculação, quando as galhas se apresentavam com 5 a 8 mm de tamanho (Figura 7).

Zhang e Schmitt (1995) constataram que 24 horas após inoculação de J₂ de *M. konaensis* ocorreu a penetração destes indivíduos nas raízes de tomateiro. O desenvolvimento de J₂ e a formação de galhas ocorreram 5 dias após a penetração. A visualização de J₃ nas raízes ocorreu aos 16 dias após a inoculação e J₄ foram observados 2 dias depois. Fêmeas jovens e fêmeas em oviposição desenvolveram-se aos 18 e 26 dias após a inoculação, respectivamente.

Figura 7 – Ciclo de vida de *Meloidogyne konaensis* em tomateiro 'Santa Clara'.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O ciclo de vida de *M. konaensis* teve comportamento semelhante ao de outras espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, como por exemplo *M. javanica* e *M. incognita*. A duração do ciclo de vida de fitonematoides pode ser influenciado pela temperatura, umidade e pela espécie hospedeira. Este fato foi confirmado por Zhang e Schmitz (1995), os quais demonstraram que a temperatura influenciou na taxa de eclosão de J₂ de *M. konaensis*. A duração do ciclo de vida desta espécie apresentou variação com as hospedeiras, sendo observado um período de 26 dias no tomateiro e quase o dobro do tempo em café (46 dias).

A *M. ethiopica* necessitou de 67 dias em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), 48 dias em pepino e 36 dias em tomate para completar um ciclo de reprodução em temperaturas médias diárias de 18,3, 22,7 e 26,3 °C, respectivamente (STRAJNAR *et al.* 2011). Em porta-enxerto de videira suscetível essa mesma espécie completou o seu ciclo de vida em menor tempo, 27 dias, a uma temperatura de 25°C (SOMAVILLA *et al.*, 2011).

As espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne* em regiões mais frias tipicamente têm ciclos de vida mais longos. Lordello (1984) relatou que o ciclo de vida de *M. javanica* a 26°C foi de 21 dias e que a 14°C foram necessários 56 dias. Para *M. incognita* o mesmo autor citou que a duração do ciclo a 25,8 °C foi de 28 dias e que a 18,8°C, o ciclo se completou aos 54 dias. Moura (1996) constatou 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.

Além da duração do ciclo de vida das espécies do gênero *Meloidogyne*, Moens *et al.* (2009) relataram que o surgimento das primeiras fêmeas de *M. incognita* ocorreu de 13 a 15 dias após a penetração de J₂ nas raízes de tomateiro e as primeiras massas de ovos, após 19 a 21 dias, em regiões com temperatura de 29 °C.

O ciclo de vida deste fitonematoide em um período de apenas três semanas na temperatura avaliada (32 ± 2 °C), a qual também pode ser alcançada em campo, poderá favorecer uma alta infestação do patógeno no solo em lavouras de tomateiros, uma vez que do plantio à colheita seriam requeridos pelo menos 150 dias da cultura em campo, o que corresponderia a um total de mais de 7 ciclos de vida do nematoide.

Ensaio 4 - Estudo de gama de hospedeiro

A viabilidade do inóculo de *M. konaensis* utilizado e as condições experimentais mostraram-se satisfatórias em todo o estudo de gama de hospedeiros. O valor médio do fator de reprodução (FR) obtido na testemunha de suscetibilidade, tomateiro 'Santa Clara', foi de 66,56, comprovando a viabilidade do inóculo.

A espécie *M. konaensis* causou infecção na maioria das espécies vegetais testadas, apresentando fator de reprodução acima de 1,0 em 61,37% das espécies vegetais estudadas. Em 15,90% das culturas avaliadas não ocorreu a formação de galhas e nem a reprodução de *M. konaensis*, as quais foram consideradas como não hospedeiras deste nematoide. Das espécies avaliadas, 22,72% apresentaram fator de reprodução variando entre 0 e 1, sendo consideradas resistentes segundo a classificação de Oostenbrik (1966) (Tabela 19).

As espécies pertencentes a família Apiaceae e Brassicaceae não se comportaram como boas hospedeiras ao *M. konaensis*. Na família Apiaceae o número de galhas (NG) variou entre 0 a 49 e o FR foi próximo de zero em coentro e salsa (FR = 0,03) e em cenoura não houve a reprodução do nematoide, apresentando FR = 0. Zhang e Schmitz (1994), avaliaram a suscetibilidade de cenoura cv. Lady Finger e verificaram que o FR da espécie de *M. konaensis* foi de 5,2. Diniz *et al.* (2018) verificaram a ocorrência de resistência do coentro cv. Verdão a diferentes espécies de *Meloidogyne*, como *M. incognita* (raças 1 e 3) e *M. javanica*. Rosa *et al.*, (2013) também observaram resultados semelhantes em salsa, apresentando resistência a espécie de *M. javanica*. Contudo, cenoura 'Brasília' e coentro 'Verdão' foram suscetíveis a essa mesma espécie. Nas espécies da família Brassicaceae o NG variou entre 4 e 100 galhas e o FR também foi próximo de zero, variando entre 0,2 e 0,8. No repolho 'Chato de Quintal' e para a rúcula 'Antonela' o FR foi, para ambas as cultivares, igual a zero.

Em ambas as famílias, Apiaceae e Brassicaceae, as espécies estudadas se comportaram como resistentes ou não hospedeiras ao nematoide *M. konaensis*. Os resultados encontrados nesse trabalho diferem das informações obtidas por Zhang e Schmitz (1994), que ao estudarem a reação de suscetibilidade de diferentes cultivares de repolho e brócolis ao *M. konaensis*, os autores observaram a suscetibilidade dessas brássicas ao nematoide, que apresentaram FR de 59,2 para a cultivar de repolho 'Bok Choi Chinese' e de 67,3 para o brócolis chinês.

As diferenças entre os resultados obtidos em relação a resistência de plantas ao nematoides podem ocorrer devido a diferenças existentes entre as cultivares e os isolados do patógeno. O fator ambiental também deve ser levado em consideração, uma vez que os estudos foram realizados em condições ambientais distintas (DIAS-ARIEIRA *et al.*, 2012; ANDRADE-JÚNIOR *et al.*, 2016).

Em geral, as espécies pertencentes a família Cucurbitaceae avaliadas, abóbora, melão, melancia e pepino, se mostraram como excelentes hospedeiras do *M. konaensis*, assim como já relatado para outras espécies do gênero *Meloidogyne* (WINSTEAD & SASSER,

1956). Todas as espécies apresentaram FR superior a 4. As abóboras tiveram FR de 4,33 e 7,16, o melão o FR foi de 10,09 enquanto que em pepino o valor do FR foi de 12,86. A melancia cv. Charleston Gray apresentou o maior fator de reprodução, sendo este de 85,62 e a cv. Crimson sweet apresentou FR de 31,22. Resultados semelhantes foram observados por MONTEIRO *et al.* (2016), em que os autores verificaram um FR igual a 88,9 de *M. konaensis* em melancia cv. Charleston Gray. Este relato pode ser preocupante para as culturas no estado do Ceará, em razão deste nematoide já ter sido relatado ocorrendo naturalmente no campo em repolho, mamão, noni e *Canapum* sp (SILVA, 2014), podendo se tornar um problema para as cucurbitáceas, as quais se revelaram altamente suscetíveis ao patógeno.

Zhang e Schmitt (1994) também avaliaram a suscetibilidade de algumas espécies de cucurbitáceas a espécie *M. konaensis*. Os autores observaram que este nematoide se reproduziu muito bem em cultivares de pepino e em abóbora, apresentando FR acima de 15. Contudo, em melancia e melão o FR não foi tão elevado quanto aos observados neste trabalho, sendo os FR = 2,6 na melancia e FR = 6,2 em melão.

As espécies vegetais incluindo amendoim cv. Florunner, rúcula, repolho cv. Chato de Quintal, quiabo, maracujá e café não são hospedeiras da população testada do nematoide das galhas. Em todas essas espécies não foram observadas galhas nem a reprodução do nematoide. MONTEIRO *et al.* (2016) também observaram a ausência de galhas em amendoim cv. Florunner 60 dias após a inoculação e em café 8 meses após a inoculação.

Nas espécies diferenciadoras algodão cv. Deltapine 61 e fumo cv. NC95 verificou-se um FR de 0,23 e FR de 24,77, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Zhang e Schmitt (1994) e Monteiro *et al.* (2016) para o algodão cv. Deltapine 61, em que os valores de FR foram de 0,2 e 0,3, respectivamente. Por outro lado, Monteiro *et al.* (2016) verificaram um elevado FR de 384,6 para o fumo.

As duas cultivares de mamão avaliadas neste trabalho, 'Formosa' e 'Havaí', se comportaram como hospedeiras de *M. konaensis*. O mamão 'Havaí' apresentou FR de 2,15 e o mamão formosa FR de 1,29. Em levantamento realizado por SILVA (2014), verificou-se a ocorrência natural de *M. konaensis* em mamoeiro cultivados, confirmando a suscetibilidade desta espécie ao nematoide.

Nas variedades de alface 'Americana' e 'Crespa Elba' o fator de reprodução para *M. konaensis* foi de acima de 2,0. Resultados semelhantes para esta espécie também foram observados por Zhang e Schmitt (1994), os quais encontraram um FR de 1,8 para a alface cv. Anuenue. As espécies de feijão caupi e ervilha foram suscetíveis ao *M. konaensis*, com o FR das cultivares de feijão caupi variando entre 0,69 e 4,25, sendo a cv. Macaibo a mais

suscetível. O FR da ervilha foi de 1,14. Este resultado difere daquele encontrado por Zhang e Schmitt (1994), os quais observaram um FR de 44,2 para a ervilha cv. Arvense.

Tabela 19 – Avaliação da reprodução de *Meloidogyne konaensis* (NG – número de galhas; NO – número de ovos e FR – fator de reprodução em 44 espécies vegetais e cultivares 60 dias após a inoculação.

Espécies vegetais avaliadas						
Nome científico	Nome comum	Cultivar	Parâmetros Nematológicos			
			NG	NO	FR	Classificação
	Apiaceae					
<i>Coriandrum sativum</i>	Coentro	Verdão	49	127,9	0,03	R
<i>Daucus carota</i>	Cenoura	Brasília	0	0	0	NH
<i>Petroselinum crispum</i>	Salsa	Lisa	38	134,2	0,03	R
	Asteraceae					
<i>Lactuca sativa</i>	Alface	Americana	310	12356,7	2,47	S
		Crespa Elba	387	10225,4	2,05	S
	Brassicaceae					
<i>Brassica capitata</i>	Repolho	Chato de Quintal	9,5	21,25	00	NH
		Roxo	105,75	4061	0,81	R
<i>Brassica oleraceae</i>	Couve	Acephala	58,1	1.098,3	0,22	R
<i>Eruca sativa</i>	Rúcula	Antonela	4,25	0	0	NH
	Caricaceae					
<i>Carica papaya</i>	Mamão	Havaí	236,8	10765,4	2,15	S
		Formosa	147,8	6458	1,29	S
	Chenopodiaceae					
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Mastruz		27	234,8	0,05	R
	Cucurbitaceae					
			587,9	428.117	85,62	S
		Crimson sweet	456,8	156.123,4	31,22	S
<i>Cucumis melo</i>	Melão	Amarelo	396,1	50.447	10,09	S
<i>Cucumis sativus</i>	Pepino	Verde comprido	574,7	64.300	12,86	S
<i>Curcubita pepo</i>	Abobrinha	Caserta	178,8	35.792	7,16	S
<i>Cucurbita máxima</i>	Abóbora	Brasileirinha	154,8	21.653	4,33	S
	Fabaceae					
<i>Vigna unguiculata</i>	Feijão caupi	Macaibo	441,5	21.233	4,25	S

Nome científico	Nome comum	Cultivar	NG	NO	FR	
		Pitiúba	55,8	5.500,54	1,10	S
		Sempre Verde	43,5	3.459,7	0,69	R
		João Paulo II	185,38	15.566,67	3,11	S
		Setentão	84,5	18.366,67	3,67	S
<i>Pisum sativum</i>	Ervilha	Flor Roxa	98,4	5.678	1,14	S
<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	Florunner	0	0	0	NH
	Lamiaceae					
<i>Solenestemon scutellarioides</i>	Cóleus		489,3	267.976,21	53,59	S
	Malvaceae					
<i>Gossypium hirsutum</i>	Algodão	Deltapine 61	17	1.143,83	0,23	R
<i>Abelmoschus esculentus</i>	Quiabo	Santa Cruz 47	0	0	00	NH
	Passifloraceae:					
<i>Passiflora edulis</i>	maracujá		0	0	0	NH
	Rubiaceae					
<i>Coffea arabica</i>	Café		0	0	0	NH
	Solanaceae					
<i>Capsicum annuum</i>	Pimentão	All big	643	186.823,5	37,36	S
		Early Charleston Gray	502,75	299.591,59	59,92	S
<i>Capsicum chinense</i>	Pimenta	Cumari do Pará	215*	55.887,67	11,18	S
<i>Nicotiana tabacum</i>	Fumo	NC 95	765	123.854,9	24,77	S
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	Santa Clara	897	332.789,6	66,56	S
		Carolina	182,3	42.141	8,43	S
		Rasteiro Rio Grande	242,5	134.630	26,93	S
		Super Marmande	265,7	31.298	6,26	S
		Santa Adélia	339,25	38.073	7,61	S
		Santa Cruz Kada	242,5	134.630	26,93	S
		Ipa 6	381,5	52.211	10,44	S
<i>Solanum melongena</i>	Berinjela	Comprida roxa	98,3	2.378,9	0,48	R
		Embú	88,75	1.810,75	0,36	R
<i>Physalis angulata</i>	Fisalis		287,9	1.0876	2,18	S
<i>Solanum aethiopicum</i>	Jiló		112	1.238,7	0,25	R

S – Suscetível; R – Resistente e NH – Não hospedeira

De maneira geral, as espécies pertencentes a família das solanáceas multiplicaram bem o nematoide *M. konaensis*, apresentando FR superiores a 6,0 com exceção do pimentão cv. Early Charleston Gray, da berinjela cv Embú, do fisalis e jiló, que apresentaram FR iguais a 0; 0,36; 2,18 e 0,25, respectivamente. Monteiro *et al.* (2016) encontraram resultados semelhantes para o pimentão cv. Early Charleston Gray, onde os autores não observaram a reprodução do nematoide nesta cultivar. A espécie de pimenta cumari do Pará destacou-se sobre as demais solanáceas em razão de apresentar em seu sistema radicular galhas minúsculas (0,5 – 1 mm), contudo observaram-se fêmeas de mesmo diâmetro da raiz e numerosas massas de ovos externas de forma que o seu FR foi de 11,18, ou seja, não houve a formação de células gigantes, mas o nematoide se reproduziu normalmente (Figura 8). Pinheiro *et al.* (2014) verificaram suscetibilidade da pimenta cumari às espécies de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, no entanto, as plantas apresentavam elevado índice de galhas e fator de reprodução. A ausência de formação ou a produção de pequenas galhas em plantas apesar da ocorrer a reprodução do nematoide, podem indicar que locais de alimentação adequados são estabelecidos sem que haja hiperplasia e hipertrofia típicas (ZHANG & SCHMMIT, 1994).

Figura 8 – Galhas de *M. konaensis* em pimenta cumari do Pará 60 dias após a inoculação.



Este estudo mostrou que a espécie *M. konaensis* possui um hábito polífago, como ocorre com a maioria das espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne* afetando, pelo menos, sete famílias botânicas das 12 famílias avaliadas e se caracterizando como um potencial problema para as espécies da família Curcubitaceae e Solanaceae. Desta forma, este estudo contribui tanto para identificação de espécies não hospedeiras que possam ser utilizadas em rotação de culturas em áreas onde esse nematoide seja relatado, como para conhecer a hospedabilidade de plantas de interesse agrícola ao nematoide das galhas, informação de extrema importância para a implementação de um plano de manejo para minimizar os danos causados por este novo patógeno em campo.

CONCLUSÕES

1 – A eclosão de juvenis de *M. konaensis* e a sua infectividade em tomateiro 'Santa Clara' foram influenciadas pela temperatura.

2 – O ciclo de vida de *M. konaensis* em tomateiro 'Santa Clara' na temperatura de 32 ± 2 °C foi de 21 dias.

3 – As espécies vegetais das famílias Asteraceae, Brassicaceae, Caricaceae, Curcubitaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Solanaceae apresentaram-se como hospedeiras do *M. konaensis*.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GOMES, J. A. A.; OLIVEIRA, C. M.; AZEVEDO, A. M.; FERNANDES, J. S. C.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Resistência de clones de batata-doce a *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.34, p.130-136, 2016.
- 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**, 6(3) 553. (1981).
- BYRD, D. W., KIRKPATRICK, T., & BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, 15, 142-143.PMid:1929578, 1983.
- CAMPOS, H. D. et al. Efeito da temperatura do solo na infectividade e reprodução de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em cultivares de soja. *Ciencia e Agrotecnologia*, v. 35, n. 5, p. 900–907, 2011.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito da temperatura na multiplicação celular, no desenvolvimento embrionário e na eclosão de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. *Summa Phytopathologica*, v. 34, n. 1, p. 29–33, 2008.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito da temperatura na multiplicação celular, no desenvolvimento embrionário e na eclosão de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. *Summa Phytopathologica*, v. 34, n. 1, p. 29–33, 2008.
- CASTRO HG, OLIVEIRA LO, BARBOSA LCA, FERREIRA FA, SILVA DJH, MOSQUIM PR, NASCIMENTO EA. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Quim. Nova**. 27(1): 55-57, 2004.
- COSTA, M. J. N.; OLIVEIRA, S.; COELHO, S. J.; V. P. CAMPOS, Nematóides em plantas ornamentais. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 25, n. 5, p. 1127-1132. 2001
- DEMUNER AJ, BARBOSA LCA, MAGALHAES CG, SILVA CJ, MALTHA CRA, PINHEIRO AL. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of *Leptospermum* (Myrtaceae) grown in Brazil. *Molecules*. 16(2): 1181-1191, 2011.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; CUNHA T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; BIELA, F.; SANTANA, S. M. Reaction of vegetables and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, p.322-326, 2012.
- EISENBACK, J. D.; BERNARD, E. C.; SCHMITT, D. P. Description of the Kona Coffee Root-knot Nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. **Journal of nematology**, v. 26, n. 4, p. 363–74, 1994.
- FERRIS, H., H.L. CARLSON, D. R. VIGLIERCHIO, B.B. WESTERDAHL, F.W. WU, C.E. ANDERSON, A. JUURMA, AND D. W. KIRBY. 1993. Host status of selected crops to *Meloidogyne chitwoodi*. Supplement to the Journal of Nematology 25:849-857.
- GOURD, T. R.; SCHMITT, D. P.; BARKER, K. R. Penetration Rates by Second-stage Juveniles of *Meloidogyne* spp, and *Heterodera glycines* into Soybean Roots 1. *Journal of Nematology*, v. 25, n. 1, p. 38–41, 1993.

- HAROON, S. A.; BAKI, A. A.; HUETTEL, R. N. An In Vitro Test for Temperature Sensitivity and Resistance to *Meloidogyne incognita* in Tomato. *Journal of Nematology*, v. 25, n. 1, p. 83–88, 1993.
- HAROON, S.A.; BAKI, A.A.; HUETTEL, R.N. An "in vitro" test for temperature sensitivity and resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.25, n.1, p. 83-88, Mar. 1993.
- HARTMAN, K. M. & J. N. Sasser. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. Pp. 69-77 in K. R. Barker, C. C. Carter, and J. N. Sasser, eds. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. II. Methodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics. 1985
- KAWABATA, A. M. et al. Kona Coffee Root-Knot Nematode Sampling Procedures. n. May, p. 1–3, 2018.
- MARTINS FT, SANTOS MH, POLO M, BARBOSA LCA. Variação química do óleo essencial de *Hyptis sua-veolens*(L.) Poit. sob condições de cultivo. **Quim. Nova**. 29(6): 1203-1209, 2006.
- MASLER, E. P.; ROGERS, S. T.; CHITWOOD, D. J. Effects of catechins and low temperature on embryonic development and hatching in heterodera glycines and meloidogyne incognita. *Nematology*, v. 15, n. 6, p. 653–663, 2013.
- METCALFE CR & CHALK L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1950.
- MONTEIRO, J. DA M. DOS S. Caracterização morfológica, enzimática e molecular de populações brasileiras de *Meloidogyne* spp.: identificação e sinonimização de espécies /Jessica da Mata dos Santos Monteiro. **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília - DF, 2016.
- MONTEIRO, J. M. S. CARES, J. E.; GOMES, A. C. M. M.; CORREA, V. R.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMEZ, G.; SANTOS, C. D. G.; CASTAGNONE-SERENO P.; CARNEIRO, R. M. D. G. First report of, and additional information on, *Meloidogyne konaensis* (Nematoda: Meloidogyninae) parasitising various crops in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 7, p. 831–844, 2016.
- MONTEIRO, J. M. S. et al. First report of, and additional information on, *Meloidogyne konaensis* (Nematoda: Meloidogyninae) parasitising various crops in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 7, p. 831–844, 2016.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mendelingen Landbouwhogeschool Wageningen* 66:1- 46.
- PLOEG, A. T.; MARIS, P. C. Effects of temperature on the duration of the life cycle of a *Meloidogyne incognita* population. *Nematology*, v. 1, n. 4, p. 389–393, 1999.
- SILVA C.J., BARBOSA LCA, MALTHA CRA, PINHEIRO AL, ISMAIL FMD. Comparative study of the essential oils of seven *Melaleuca* (Myrtaceae) species grown in Brazil. *Flavour Fragr. J.* 22(6): 474-478, 2007.

SILVA, M.C.L. identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em áreas agrícolas e dispersão de *M. enterolobii* em pomares de goiabeiras no estado do Ceará. 2014. 108p, Tese de Doutorado – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

TEKLU, M. G.; SCHOMAKER, C. H.; BEEN, T. H. The effect of storage time and temperature on the population dynamics and vitality of *Meloidogyne chitwoodi* in potato tubers. *Nematology*, v. 20, n. 4, p. 373–385, 2018.

ZHANG, F.; SCHMITT, D. P. Embryogenesis and postinfection development of *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology**, v. 27, n. 1, p. 103–108, 1995.

ZHANG, F.; SCHMITT, D. P. Host Status of 32 Plant Species to *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 4S, p. 744–748, 1994.

CONCLUSÕES

O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* apresentou elevada ação nociva sobre os juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne* spp., inibindo a sua eclosão e provocando sua mortalidade *in vitro*.

As folhas secas de *C. ambrosioides* podem ser armazenadas por 90 dias sem comprometer a atividade nematicida.

O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* aplicado ao solo infestado reduz a infecção por *M. incognita* em tomateiros cv. Santa Clara.

O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* reduz o parasitismo de *M. incognita* em plantas de tomateiro cv. Santa Clara por meio da imersão de raízes infectadas.

O extrato foliar aquoso de *C. ambrosioides* a 10% no intervalo de 24 horas induz a resistência de tomateiro cv. Santa Clara reduzindo a infecção por *M. incognita*. A concentração letal mínima do extrato aquoso foi de 4.500 ppm.

O composto com ação nematicida do extrato foliar de *C. ambrosioides* está presente na fração aquosa.

A ação nematicida presente no extrato aquoso de *C. ambrosioides* pode ser atribuído a um composto polar da classe dos oligopeptídeos.

A eclosão de juvenis de *M. konaensis* e a sua infectividade em tomateiro 'Santa Clara' foram influenciadas pela temperatura.

O ciclo de vida de *M. konaensis* em tomateiro 'Santa Clara' na temperatura de 32 ± 2 °C foi de 21 dias.

As espécies vegetais das famílias Asteraceae, Brassicaceae, Caricaceae, Curcubitaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Solanaceae apresentaram-se como hospedeiras do *M. konaensis*.

REFERÊNCIAS

- ABAD, P. Castagnone-Sereno, P., Rosso, M.N., De Almeida Engler, J., Favery, B. **Invasion, feeding and development**. In: Perry, R.N., Moens, M., Starr, J.L. (Eds.), *Root-knot Nematodes*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 163 e 181. 2009.
- AHMED, M.; VAN DE VOSSENBERG, B.T.L.H.; CORNELISSE, C; KARSSSEN, G. On the species status of the root-knot nematode *Meloidogyne ulmi* Palmisano & Ambrogioni, 2000 (Nematoda, Meloidogynidae). **Zoo Keys** 362: 1–27. 2013. doi:10.3897/zookeys.362.6352.
- ALMEIDA, E. J. de *et al.* Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 236-241, maio/jun. 2008.
- ALMEIDA, E.J. de *et al.* Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 112-113, jan./fev. 2006.
- 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. **Cultura do tomateiro**. Lavras: UFLA, 2009, 91p.
- 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.
- ALVARENGA, M. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Edit. UFLA, 400p. 2004.
- 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).
- ANDREUCCETTI, C.; FERREIRA, M.D.; TAVARES, M. Perfil dos compradores de tomate de mesa em supermercados da região de Campinas-SP. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.148-152, 2005.
- ARNASON, J.T., PHILOGENE, B.J.R., MORAND, P. **Insecticide of plant origin**. Washington, DC, American Chemical Society. v. 387. 214p. 1990.
- ARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; MARTINS, I.; SOUZA, J.F.; PIRES, A.Q.; TIGANO, M.S. 2008. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e fungos nematófagos em hortaliças no Distrito Federal, Brasil. **Nematologia Brasileira** 32(2): 135-141. 2008.
- 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.

- ASMUS, G. L.; VICENTINI, E. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 112-115. 2007.
- 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.
- BAKER, K. F. & COOK, R. J. **Biological Control of Plant Pathogens**. Freeman and Company. San Francisco, 433pp. 1974.
- 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.
- BELL, A.; FELLOWS, L.E.; SIMMONDS, M.S.J. **Natural products from plants for the control of insect pests**. In: HODGSON, E., KUHR, R.J. Safer insecticide development and use. New York and Basel, Marcel Dekker, p.337-383. 1990.
- BENHAMOU, N. & BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in tomato. **Plant Physiology** 118:1203-1212. 1998.
- BLUM, L. E. B. Fitopatologia: **O estudo das doenças de plantas**. Brasília: **Otimismo**, p.258, 2006.
- BORGES, A. R.; AIRES, J. R.; HIGINO, T. M.; MEDEIROS, M. D. DE; CITÓ, A. M.; LOPES, J. A.; FIGUEIREDO, R. C. de Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil, **Exp. Parasitol.** 2012, 132, 123-128.
- BRITO JUNIOR, F. P. DE. PRODUÇÃO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) REUTILIZANDO SUBSTRATOS SOB CULTIVO PROTEGIDO NO MUNICÍPIO DE IRANDUBA-AM. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amazonas**, p. 61, 2012.
- CAMPOS, V. P. **Doenças causadas por nematoides em tomate**. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X. R.; COSTA, H. (Ed.) Controle de doenças de plantas – hortaliças. Viçosa: UFV, Cap. 23, p. 801-884. 2000.
- CANTU, R. R. *et al.* Reação de porta enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 35, n. 3, p. 216-218, 2009.
- CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Primeiro relato de fitonematóide *Meloidogyne mayaguensis* parasitando goiaba (*Psidium guajava* L.) cv. Paluma. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 55-57. 2001.
- 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.; 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. **Uma visão mundial sobre a ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e outras culturas**. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Petrolina, PE. Resumos, p. 22, 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G.; SANTOS, M.F.A.; ALMEIDA, M.R.A.; MOTA, F.C.; GOMES, A.C.M.M. & TIGANO, M.S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology** 10: 819-834. 2008.

CASTELLANOS, G.; RUBÉN, J. Epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 2008**. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85670103> (Acesso em: 20 jan. de 2019).

CASTRO, J.M.C.; CARNEIRO, R.M.D.C.; ALMEIDA, M.R.A.; ANTUNES, E.E. Detecção de hospedeiros alternativos de *Meloidogyne mayaguensis* em área de cultivo de goiabeira em Petrolina-PE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos. Nematologia Brasília**, v. 31, n. 2, p.152. 2007.

CAVALCANTI, L.S., BRUNELLI, K.R. & STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: Cavalcanti, L.S., Di Piero, R.M., Cia, P., Pascholati, S.F., Resende, 196 **Fitopatol. Bras.** 32(3), maio - jun 2007 R.F. Silva et al. M.L.V. & ROMEIRO, R.S. (Eds.) Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba SP. FEALQ. 2005. pp. 81-124.

CAVALLI, J. F.; TOMI, F.; BERNARDINI, A. F.; J. CASANOVA. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GCMS and ¹³C NMR spectroscopy: Quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound', **Phytochem. Anal.** **2004**, 15,275-279.

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.

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

CHU, S. S.; HUB, J. F.; LIU, Z. L. Composition of essential oil of Chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Pest Manag. Sci.** **2011**, 67, 714-718.

COFCEWICZ, E.T.; CARNEIRO, R.M.D.G.; RANDIG, O.; CHAMBRIER, C. & QUÉNÉHERVÉ, P. 2005. Diversity of *Meloidogyne* spp. on *Musa* in Martinique, Guadeloupe and French Guiana. **Journal of Nematology** 37:313-322. 2005.

- 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.
- COSTA, D. C.; FERRAZ, S. Avaliação do efeito antagônico de algumas espécies de plantas, principalmente de inverno, a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.15 p. 61-69. 1990.
- COSTA, N. de J. F. Efeito de *Calotropis procera* no controle de *Meloidogyne incognita* e aspectos biológicos do nematoide em tomateiro. 2017. 85 f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- CRUZ, G.L. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. 5 ed. Rio de Janeiro: Ed. Bertrand Brasil, 599p. 1995.
- CRUZ, P.M.F.; BRAGA, G.C.; GRANDI, A.M. Composição química, cor e qualidade sensorial do tomate seco a diferentes temperaturas. **Semina: Ciências Agrárias** 33(4):1475-1486. 2012.
- 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.
- DEMBITSKY V, SHKROB I, HANUS LO. Ascaridole and related peroxides from the genus *Chenopodium*. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc**. Czech Repub. 2008;152(2):209-15.
- 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.; MIZOBUTS, H. Penetração e desenvolvimento de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Heterodera glycines* em quatro gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.1, p.35-41, 2002.
- DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W.; NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi: physiological aspects and structure-function relationships. **Advances Microbiology and Physiology**, 36: 111-143, 1994.
- 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.
- DROPKIN, V. H. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 59, n. 11, p. 1632-1637, 1967.
- EHLERT, P.A.D.; MING, L C; MARQUES, M.O.M, FERNANDES, D.M.; ROCHA, W.A; LUZ, J.M.Q; SILVA, R.F. Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição

do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. UNESP, v. 15, n. 1, p. 72-77, 2013.

EISENBACK, J. D.; BERNARD, E. C.; SCHMITT, D. P. Description of the Kona Coffee Root-knot Nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. **Journal of nematology**, v. 26, n. 4, p. 363–74, 1994.

EISENBACK, J.D. & TRIANTAPHYLLOU, H.H. **Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races**. In: Nickle, W.R. (ed.). *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker, New York, p. 191–274. 1991.

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. and Carter, C.C. (eds). *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. v. 1: Biology and Control. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development, North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina, p. 95–112. 1985.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistemas de produção: doenças causadas por nematoides**, 2003. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/doencas_nema.htm. Acesso em: 21 out. 2018.

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

FANCELLI, M. Doenças das Cenouras, In: KIMATI, H. (Eds.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.p. 232-237.

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). **FAOSTAT**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 08 nov. 2018.

FERNANDES; A. A; MARTINEZ. H. E. P; SILVA. D. J. H. BARBOSA. J. G; PEDROSA, A. W. Cultivo sucessivo de plantas de tomate oriundas de sementes e propagação vegetativa em sistema hidropônico. **Pesq. Agropec. bras. Brasília**, v. 42, n. 7. p. 1013- 1019, jul. 2007.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. 40 V. (Org.). *Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja*. Londrina: Embrapa Soja/Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001. p. 15-38.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: NORMA EDITORA, 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, L.C.C.B. & MONTEIRO, A.R. **Nematoídes**. In: Bergamim Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. Manual de Fitopatologia, v.1. 3º ed. Princípios e conceitos. Cap. 8. p. 168-201. 1995.
- FERRAZ, S. et al. Extratos e óleos essenciais de plantas. In: _____. Manejo sustentável de fitonematoídes. Viçosa: UFV, 2010. p.170-186.
- 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 Fitonematoídes**. Viçosa: Editora UFV, 2012. 304 p.
- FERRAZ, S.; VALLE, L.A.C. **Controle de fitonematóides por plantas antagônicas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 73p.
- 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, 2013.
- 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, 2013.
- FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, n.3, p.241-263, 1999.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 421p.
- 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.
- FORMENTINI, H.M. Avaliação de indutores de resistência biótico, abiótico e extratos vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. (**Tese Doutorado em Agronomia**) – 90p. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2012.
- 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.
- FREIRE, M. D. S.; SANTOS, C. D. G. Reação de espécies vegetais a *Meloidogyne enterolobii* e eficiência de seus extratos aquosos no controle do patógeno. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 6, p. 2385, 2018.

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, 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, 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.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia.** 3^a ed. Viçosa: Editora, UFV. 83p. 2006.

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.

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

GBOLADE AA, TIRA-PICOS V, NOGUERIA JMF. Chemical constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. var anthelminticum herb essential oil from Nigeria. **Chem Nat Compd.** 2010; 46 (4) 654-5.

GILBERT, J.C.; McGUIRRE, D.C. Inheritance of resistance to severe root-knot from *Meloidogyne incognita* in commercial-type tomatoes. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 68, p. 437-442, Dec. 1956.

GOBBO-NETO L, LOPES NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim Nova.** 2007;30(2):374-81.

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.

GUPTA D, CHARLES R, MEHTA VK, GARG SN, KUMAR S. Chemical composition of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from the southern hills of India. **J. Essent Oil Res.** 2002; 14: 93-4.

GUPTA GS, BEHARI M. Chemical investigation of *Chenopodium ambrosioides*. **J. Indian Chem Soc.** 1972; 49 (3): 317-9.

HAJDU Z, HOHMANN J. An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. **J Ethnopharmacol.** 2012;139:838-57.

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

HALLALA A, BENALIA S, MARKOUK M, BEKKOUCHEA K, LARHSINIA M, CHAITB A, ROMANEC A, ABBADA A, ABDOUNID MKE. Evaluation of the analgesic and antipyretic activities of *Chenopodium ambrosioides* **Asian J Exp Biol Sci.**2010;1(4):894-7.

HARRAZ, F. M.; H. HAMMODA, M.; EL GHAZOULY, M. G.; FARAG, M. A.; EL-ASWAD, A. F.; BASSAM, S. M. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the essential oils of *Conyza linifolia* and *Chenopodium ambrosioides*, **Nat. Prod. Res.** 2015, 29, 879-882.

HARTMAN, K.M. & SASSER, J.N. **Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology.** In: Barker, K.R.; Carter, C.C. & Sasser, J.N. (eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. v.1.: Methodology. Raleigh, NC, USA, North Carolina State University Graphics, p. 69–77. 1985.

HOCHULI, D.F. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behavior, morphology and host use. **Austral Ecology**, 26: 563-570, 2001.

HUNT, D.J. & HANDOO, Z.A. **Taxonomy, identification and principal species.** In: Perry, R.N.; Moens, N. & Starr, J.L. (eds). Root-knot Nematodes. Cambridge, MA, USA, CABI North America Office, p. 55-97. 2009.

IBGE. 2017. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA.** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Acesso em: 07 jan. 2019.

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.

JONES, J. B. **Tomato plant culture: in field, greenhouse, and home garden** / J. Benton Jones, Jr. 2nd ed., 2008. 399 p.

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.

KARSSSEN, G. & MOENS, M. **Root-knot nematodes.** In: Perry, R.L. & Moens, M. (eds). Plant Nematology, Cambridge, MA, CABI North America Office, p. 59-90. 2006.

KARSSSEN, G. & MOENS, M. Root-knot nematodes. In: Perry, R.L. & Moens, M. (eds). **Plant Nematology**, Cambridge, MA, CABI North America Office, p. 59-90. 2006.

KEIKO M. **O tomateiro**. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill, 365p. 1980.

KETZIS, J. K.; TAYLOR, A.; BOWMAN, D. D.; BROWN, D. L.; WARNICK, L. D.; ERB, H. N. ‘*Chenopodium ambrosioides* and its essential oil as treatments for *Haemonchus contortus* and mixed adult-nematode infections in goats’, **Small Ruminant Res.** 2002, 44, 193-200.

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.

LIMA, I.M., DOLINSKI, C.M.; SOUZA, R.M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos 38 hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**. v. 27, p. 257-258. 2003.

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

LOPES, M.C.; STRIPARI, P.C. A cultura do tomateiro. In: GOTO, R.; TIVELLI, S.W. **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora UNESP, 1998. p.257-304.

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

LORDELLO, L.G.E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8ª ed. São Paulo: Editora Nobel.314 p. 1992.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; ROBERTO LUIS PORTZ, R.L. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, p. 45-50, 2018

LUC, M.; R.A. SIKORA; J. BRIDGE. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. **CAB International Wallingford, UK**, p. 629.1990.

MACDONALD D, VANCREY K, HARRISON P, RANGACHARI PK, ROSENFELD J, WARREN C, SORGER G. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide that is not toxic to mammalian smooth muscle. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 92, p. 215–221, 2004.

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

MAGGENTI, A. R. **General nematology**. New York, NY; Springer, pp. 1–372. 1981.

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.

MARANHÃO, S.R.V.L.; MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R. Reação de indivíduos segregantes de goiabeira a *Meloidogyne incognita* 1 e *M. mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 25, p.191-195, 2001.

MARINS, A.K.; VIEIRA, D.F.; QUADROS, I.P.S.; PINHEIRO, P.F.; QUEIROZ, V.T.; COSTA, A.V. **Prospecção fitoquímica das Partes Aéreas da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.)** 15º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 6º Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 5º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Jr. São José dos Campos. 2011.

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.

MATTEI, D.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; BIELA, F.; ROLDI, M.; SILVA, T.R.B.; RAMPIM, L.; DADAZIO, T.S.; TAVARES-SILVA, C.A. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* in the control of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.2, p.469-476, 2014.

MELO, T.A.; ARAÚJO, M.U.P.; SERRA, I.M.R.S.; PASCHOLATI, S.F. Produtos naturais disponíveis comercialmente induzem o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.3, p.205-211, 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.

MONTEIRO, J. DA M. DOS S. Caracterização morfológica, enzimática e molecular de populações brasileiras de *Meloidogyne* spp.: identificação e sinonimização de espécies /Jessica da Mata dos Santos Monteiro. **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília - DF, 2016.

MONTEIRO, J. M. S. CARES, J. E.; GOMES, A. C. M. M.; CORREA, V. R.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMEZ, G.; SANTOS, C. D. G.; CASTAGNONE-SERENO P.; CARNEIRO, R. M. D. G. First report of, and additional information on, *Meloidogyne konaensis* (Nematoda: Meloidogyninae) parasitising various crops in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 7, p. 831–844, 2016.

MONTEIRO, T. S. A. et al. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1149-1154, 2014.

MONZOTE L.; MONTALVO, A. M.; ALMANONNI, S.; SCULL, R.; MIRANDA, M.; ABREU, J. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*, **Chemotherapy** 2006, 52, 130-136.

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

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.

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.

MOURA, R. M. **Relatório sobre a Moléstia do Cafeeiro na Província do Rio de Janeiro** (reedição do original por E. A. Göldi, 1887). Fadurpe/UFRPE, Recife, PE, 1998.

MÜLLER, M.A.; MIORANZA, T.M.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; BATTISTUS, A.G.; ISTCHUK, A.N.; FUCHS, F. In vitro toxicity and control of *Meloidogyne incognita* in soybean by rosemary extract. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.37, p.103-110, 2016.

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).

NELSON, S.; SCHMITT, D. A.; SMITH, V. E. **Managing coffee nematode decline**. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii. Publication PD-23. 2002.

NENAAH, G. E.; IBRAHIM, S. I. A. Chemical composition and the insecticidal activity of certain plants applied as powders and essential oils against two stored-products coleopteran beetles. **J. Pest Sci.** 2011, 84, 393-402.

NEVES, W.S.; MONTEIRO, T.S.A.; OLIVEIRA, R.D.; CASTRO, D.B. Primeiro relato de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira na região de Jarba, norte de Minas Gerais. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas** 4:8-11.2010.

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

- 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., KNOX, D. & BEANE, J. Enzymes released during hatching of *Globodera rostochiensis* and *Meloidogyne incognita*. **Fundamental and Applied Nematology** 15, 283-288. 1992).
- PRANCE, G.; NESBITT, M. (Ed.). **The Cultural history of plants**. London/New York: Routledge, 2005.
- RIBEIRO, M., CASTRO, J. M. C. **Pesquisadores debatem produção de mudas de goiabeiras livres de nematoides**. 2007. Disponível em: www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2007/outubro/2a-semanna/pesquisadores-debatem-a-producao-de-mudas-de-goiabeiras-livres-de-nematoides. Acesso em 18 fev. 2019.
- RICH, J.R.; BRITO, J.A.; KAUR, R.; FERRELL, J.A. Weed species as hosts of *Meloidogyne*: a review. **Nematropica**, v. 39, n.2, p.157-185, 2009.
- ROBERTS, P.A. Plant resistance in nematode pest management. **Journal of Nematology**, v.14, p. 24-33. 1982.
- 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 nematocida 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).
- RODRÍGUEZ, M.G., L. GÓMEZ & B. PETEIRA. *Meloidogyne enterolobii* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. **Revista de Protección Vegetal** 22: 183-198. 2007.
- ROMEIRO, R.S. PGPR e indução de resistência sistêmica em plantas a patógenos. **Summa Phytopathol** 26:177-184. 2000.
- 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.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, M.D.G.; MOTA, F.C.; SILVEIRA, N.O.R.; SILVA, J.G.P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; TIGANO, M.S. & CARNEIRO, R.M.D.G. Biometrical, biological and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. **European Journal of Plant Pathology**. 134:671-684. 2012.
- SASSER, J. N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, v.64, n. 1, p. 36-41, 1980.

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 Reporter**: 64:36-41. 1980

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.

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.

SELLEGUINI A. **Híbridos de tomate industrial cultivados em ambiente protegido e campo, visando a produção de frutos para a mesa**. Ilha Solteira: UNESP. 71p (Dissertação de mestrado). 2005.

SÉRVIO, E. M. L.; ARAÚJO, K. S.; NASCIMENTO, L. R. S.; COSTA, C. L. S.; MENDES, L. M. S.; FILHO, A. L. M. M.; SANTOS, Í. M. S. P. Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos. **ConScientiae Saúde**, 10(3): 441-448. 2011.

SHIRAHIGE FH; MELO AMT; PURQUERIO LFV; CARVALHO CRL; MELO PCT. Produtividade e qualidade de tomates Santa Cruz e Italiano em função do raleio de frutos. **Horticultura Brasileira** 28: 292-298. 2010.

SIKORA, R. A.; FERNÁNDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKSON, D. W. (Ed.). **Nematology – Advances and Perspectives**. Volume II: Nematode Management and Utilization. Beijing & Wallingford, Tsinghua University Press & CABI Publishing, p. 319-392, 2004.

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

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, L. H. C. P.; RESENDE, M. L. V. de. Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: SILVA, L. H. C. P. da; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. **Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. p. 221-234.

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, M.C.L. identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em áreas agrícolas e dispersão de *M. enterolobii* em pomares de goiabeiras no estado do Ceará. 2014. 108p, **Tese de Doutorado** – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P.; XU, K. & SERRACIN, M. Esterase polymorphism in *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology** 37(4):438–443. 2005.

SOUZA, R.M.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C.M. Management of the guava root-knot nematode in São João da Barra, Brazil, and report of new hosts. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 165-169, 2006.

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.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A. Defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p.18-46. 2011.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.). **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. Badajoz: Formatex, 2011. p.1033-1042.

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

STARR, J.L.; KOENNING, S.R.; KIRKPATRICK, T.L.; ROBINSON, A.F.; ROBERTS, P.A.; NICHOLS, R.L. The future of nematode management in cotton. **Journal of Nematology**, v.39, n.4, p.283-294, 2007.

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

TAYLOR B. Biosistematics of the tomato. In: ATHERTON JG; RUDICH J. **The tomato crop: a scientific basis for improvement**. New York: Champman and Hall, p.1-30. 1986.

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

TAYLOR, D.T. & SASSER, J.N. **Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (*Meloidogyne* species)**. A Coop. Public. Dept. Pl Pathology, North Carolina State University and USAID, p. 111. 1983.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: Funep, 1993. 372p.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 999-1010, June 2016.

TORRENEGRA-ALARCÓN, M. et al. **The chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Minthostachys mollis***. *Orinoquia, Meta*, v. 20, n. 1, p. 69- 74, 2016.

TRIANAPHYLLOU, A.C. Cytogenetics, taxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: Carter, C.C. & Sasser, J.N. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*, v. 1., **Biology and control**. Raleigh, North Carolina State University Graphics, p. 113-126.1985.

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

URIAS-ORONA, V. et al. Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. **Ecosistemas y recur. agropecuarios**, Villa hermosa, v. 3, n. 7, p. 43-50, abr. 2016.

VALE, F. X. R.; LOPES, C. A.; ALVARENGA, M. A. R. Doenças fúngicas, bacterianas e causadas por nematoides. In: ALVARENGA, M. A. R. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2013. 445p.

XU, J.H., LIU, P.L., MENG, Q.P.; LONG, H. Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p.309-315, 2004.

YANG, B.; EISENBACK, J.D. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae) a Root-knot Nematode Parasitizing Pacara Earpod Tree in China. **Journal of Nematology**, v. 15, p. 381-391, 1983.

ZHANG, F.; SCHMITT, D. P. Host Status of 32 Plant Species to *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 4S, p. 744–748, 1994.

ZHANG, F.; SCHMITT, D.P. Embryogenesis and postinfection development of *Meloidogyne konaensis*. **Journal of Nematology** 27, 103–8. 1995.

ZHAO, X., SCHMITT, M. & HAWES, M.C. Species dependent effects of border cells and root tip exudates on nematode behavior. **Phytopathology** 90, 1239-1245. 2000.