

DOUGLAS BARBOSA CASTRO

USO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MOSTARDA NO CONTROLE
DE *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) EM POMAR DE
GOIABEIRA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Fitopatologia,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

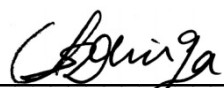
VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

DOUGLAS BARBOSA CASTRO

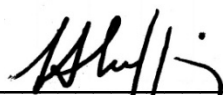
USO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MOSTARDA NO CONTROLE
DE *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) EM POMAR DE
GOIABEIRA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Fitopatologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 27 de agosto de 2010.



Prof. Onkar Dev Dhingra
(Coorientador)



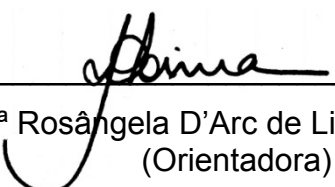
Prof. Luiz Antonio Maffia
(Coorientador)



Prof. José Rogério de Oliveira



Prof. Gilberto Bernardo de Freitas



Profª Rosângela D'Arc de Lima Oliveira
(Orientadora)

Ao meu pai Evaldo Miranda Castro, à minha mãe Elizabeth de Almeida B. Castro e ao meu irmão Leandro, que foram essenciais para a conquista desse título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais por terem me dado a oportunidade de estar no mundo e por todo o amor, carinho, compreensão e respeito. Ao meu irmão pela amizade e companheirismo, e a toda minha família por ser o alicerce de tudo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do programa de pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Rosângela D'arc de Lima Oliveira pelos ensinamentos, orientação, dedicação, boa vontade, paciência e amizade.

Ao produtor rural Francisco Carlos Carvalho, que gentilmente cedeu uma área de sua propriedade para a realização do trabalho, e também pela amizade, conversas e conselhos.

Aos professores José Ivo Ribeiro e Luiz Antônio Maffia, pelas sugestões e informações necessárias para a realização deste trabalho.

Aos meus antigos professores, que me ensinaram com prazer e dedicação parte do que sei e, o que é mais importante, me ensinaram a aprender sozinho.

Aos amigos Deco, Beatriz, Talita, Bruna, Airton, Ítalo e Otávio pelo apoio nos momentos difíceis encontrados durante todo esse percurso.

Aos colegas e amigos da Nematologia, Elói, Dalila, Patrícia, Rodrigo, Roseli, Raul, Elder, André, Emílio, Poliana, Stefânia e, especialmente, ao Naylor e Liliane que participaram ativamente e foram essenciais para a realização deste trabalho.

Às dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Douglas Barbosa Castro, filho de Evaldo Miranda Castro e Elizabeth de Almeida Barbosa Castro, nasceu em 16 de maio de 1983 em Muriaé, estado de Minas Gerais.

Em julho de 2008, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.

Em agosto de 2008, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, em nível de Mestrado, concentrando seus estudos na área de Nematologia.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	3
A CULTURA DA GOIABEIRA.....	3
FITONEMATOIDES.....	4
A ESPÉCIE <i>Meloidogyne enterolobii</i>	5
CONTROLE DE FITONEMATOIDES.....	7
MOLÉCULAS DE ORIGEM VEGETAL COM EFEITO NEMATICIDA	8
MATERIAL E MÉTODOS	13
Ensaio 1 - Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para o Controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em Áreas de Goiabeiras Recepadas e Eliminadas.....	14
Ensaio 2 - Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para Controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em Goiabeiras	16
RESULTADOS.....	18
Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para o Controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em Áreas de Goiabeiras Recepadas e Eliminadas.....	18
Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para Controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em Goiabeiras.....	23
DISCUSSÃO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
APÊNDICE.....	44

RESUMO

CASTRO, Douglas Barbosa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2010. **Uso do óleo essencial de mostarda no controle de *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) em pomar de goiabeira.** Orientadora: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Coorientadores: Onkar Dev Dhingra e Luiz Antônio Maffia.

Considerando a importância de *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) para a cultura da goiabeira e o potencial do óleo essencial de mostarda (OEM) no controle de nematoides, objetivou-se avaliar a eficiência do OEM no controle do nematoide no campo, em pomares de plantas arrancadas, recepadas ou em produção. Selecionou-se um pomar de goiabeiras naturalmente infestado por *M. enterolobii*, em Viçosa, MG. O OEM foi aplicado no solo a 100 µg/mL, por meio de tiras de papelão na rizosfera de plantas intactas ou irrigando a área de cultivo com OEM diluído em água, após as plantas serem recepadas ou arrancadas. Em amostras coletadas ao longo de 140 dias após aplicação do produto, avaliou-se o número de J2 no solo e número de galhas e ovos em raízes de tomateiros, no teste biológico. Como a população de J2 no solo sofreu rápida redução, independente do tratamento, ela foi considerada uma variável pouco confiável para a avaliação. Pelo teste biológico, obteve-se uma redução de 71%, 81% e 99% para número de galhas e 60%, 80% e 83% para número de ovos aos 45, 75 e 140 dias após a aplicação, respectivamente, para as parcelas tratadas com OEM, em plantas arrancadas ou recepadas. O terbufós reduziu apenas o número de galhas aos 45 dias, o qual voltou a aumentar posteriormente. Aos 140 dias, houve tendência generalizada de redução da população, considerando-se o número de galhas e ovos. Nas plantas intactas não houve controle do nematoide, pois as médias das variações de J2, galhas e ovos não diferiram significativamente entre os tratamentos. Em conclusão, o OEM foi eficiente em controlar *M. enterolobii* no campo na ausência do hospedeiro.

ABSTRACT

CASTRO, Douglas Barbosa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, August 2010. **Essential oil of mustard on the *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) control in guava orchard.** Advisor: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Co-advisors: Onkar Dev Dhingra and Luiz Antônio Maffia.

Considering the importance of *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) to the culture of guava and the potential of Essential Oil of Mustard (EOM) on nematode control, was aimed to evaluate the efficiency of EOM on control of these nematodes in the field, on a orchard of plants uprooted and cut off at 0.3 m from soil level or in intact plants in production. An orchard of guava trees naturally infested with *M. enterolobii*, in Viçosa, MG, was selected. EOM was applied on soil at 100 µg/mL, by strips of cardboard in the rhizosphere of intact plants, or by irrigating the cultivation area with EOM diluted in water after the plants have been cut off or uprooted. Samples were collected over 140 days after the product application and evaluated on the number of J2 in soil and number of galls and eggs in roots of tomato plants in the bioassay. The J2 population in soil underwent rapid reduction, regardless of treatment, and was configured as an unreliable variable. By the bioassay, was obtained a reduction of 71%, 81% and 99% for number of galls and 60%, 80% and 83% for number of eggs at 45, 75 and 140 days after application, respectively, for plots treated with EOM, in uprooted or cutted plants. The terbuphos only reduced the number of galls during 45 days. The biological evaluation at 140 days revealed a general trend of population reduction, considering the number of galls and eggs. In intact plants, there was no control of nematodes, as the average variations of J2, galls and eggs did not differ significantly between treatments. In conclusion, the EOM was effective in controlling *M. enterolobii* at the field in the absence of the host.

INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma espécie frutífera, pertencente à família *Myrtaceae*, nativa dos trópicos da América. No Brasil, a cultura é predominantemente desenvolvida em propriedades de 3 a 5 hectares, distribuída em pomares domésticos em todos os Estados e usando mão-de-obra familiar (Gomes, 2007). O Brasil é atualmente o maior produtor de goiabas vermelhas, que são comercializadas *in natura* ou processadas por agroindústrias, para a produção de doces, sucos, polpas, etc., o que traz inúmeros benefícios econômicos e sociais.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* ou nematoides-das-galhas são considerados importantes fitopatógenos, devido às perdas causadas à agricultura, à sua ampla disseminação e seu difícil controle. *Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback, 1983, foi primeiramente descrito em plantas de *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril ou orelha-de-negro) na ilha de Hainan, no sul da China (Yang & Eisenback, 1983). Essa espécie vem sendo considerada coespecífica de *M. mayaguensis*, descrita por Rammah e Hirschman (1988), com base em uma sequência idêntica do DNA mitocondrial obtida para ambas as espécies. Foi adotada a nomenclatura *M. enterolobii* por ser a sinonímia mais antiga (Xu *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2009). A espécie é considerada uma das mais importantes dentre os nematoides das galhas, não apenas pela agressividade à goiabeira, mas por ser uma espécie com uma ampla gama de hospedeiros e já estar disseminada nas principais regiões produtoras do mundo. O primeiro relato de *M. enterolobii* no Brasil foi feito em 2001, quando constataram a sua presença em plantios comerciais de goiabeira em Petrolina-PE, Curaçá e Maniçoba-BA (Carneiro *et al.*, 2001). Em menos de dez anos, sua ocorrência já fora relatada nos estados do Rio de Janeiro (Lima *et al.*, 2003), Rio Grande do Norte (Torres *et al.*, 2004), Ceará (Torres *et al.*, 2005), Piauí (Silva *et al.*, 2006), Paraná (Carneiro *et al.*, 2006), São Paulo (Almeida *et al.*, 2006), Mato Grosso do Sul (Asmus *et al.*, 2007), Paraíba (Gomes *et al.*, 2007), Minas Gerais (Oliveira *et al.*, 2007), Rio Grande do Sul (Gomes *et al.*, 2008a), Espírito Santo (Lima *et al.*, 2008), Maranhão (Silva *et al.*, 2008), Tocantins (Charchar *et al.*, 2008), Mato Grosso (Almeida *et al.*, 2008), Santa Catarina (Gomes *et al.*, 2008a) e Goiás (Siqueira *et al.*, 2009). Estima-se

que o ataque dessa praga às goiabeiras já tenha provocado uma redução de 70% da área plantada na região do Vale do São Francisco e que os 30% restantes estejam sob forte ameaça (Carneiro *et al.*, 2007). Estima-se também que nas regiões produtoras do Rio de Janeiro (RJ), Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE), bem como os perímetros irrigados pela CODEVASF (Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba) próximos aos municípios de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA), o prejuízo direto para os goiabicultores chegue a R\$ 112,7 milhões, ao qual se soma a dispensa de 3.703 trabalhadores rurais (Pereira *et al.*, 2009). Porém, o prejuízo pode ser muito maior se considerarmos os impactos indiretos.

Tentativas de controle desse nematoide são frustrantes, devido à indisponibilidade de porta-enxertos resistentes ou tolerantes no mercado, à inexistência de nematicidas eficientes e registrados para cultura da goiabeira, e à morosidade da fiscalização em vistoriar viveiros de mudas e conter a disseminação do nematoide. Por essas razões, a busca de métodos alternativos de controle é necessária para gerar novas tecnologias que permitam conviver com a ampla incidência desse nematoide em goiabais do Brasil.

Diversas moléculas com efeito nematicida já foram isoladas de tecidos vegetais e constituem uma importante alternativa de controle, como por exemplo, os isotiocianatos (ITCs) presentes em tecidos de brássicas (Daxenbichler *et al.*, 1964). Pesquisas já demonstraram que espécies de brássicas têm ação nematicida sobre múltiplas espécies de nematoides fitoparasitas, incluindo *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus neglectus* e *P. penetrans* quando incorporadas ao solo como adubo verde (Johnson *et al.*, 1992; Potter *et al.*, 1998) ou como torta (Zasada *et al.*, 2009).

O óleo essencial de mostarda (*Brassica juncea*), rico em ITCs, pode resultar em níveis adequados de controle de diversos nematoides e com baixo impacto sobre organismos saprófitas (Lima, 2006; Schurt, 2006; Goulart, 2007). A fumigação de substratos infestados com *Meloidogyne exigua* pode proporcionar até 100% de controle do nematoide a concentrações de 100 ppm (Aguiar, 2008). Pesquisas realizadas nas mais diversas localidades justificam e dão forte indício da possibilidade do uso de isotiocianatos no tratamento de

solos infestados por fitonematoides, visando o controle destes patógenos (Zasada & Ferris, 2003; Lazzeri *et al.*, 2004; Aguiar, 2008).

Acredita-se que a fumigação com o OEM irá promover um eficiente controle de fitonematoides no campo, visto que sua eficiência no tratamento de substratos já fora comprovada em experimentos realizados em casa de vegetação. Dessa forma, cria-se uma alternativa viável em substituição aos nematicidas químicos convencionais e com menor ação danosa ao ambiente.

Assim, buscou-se avaliar a eficiência do OEM na fumigação de solos em condições de campo, visando controlar *M. enterolobii* em pomares de goiabeira infestados, e a capacidade deste na recuperação de goiabeiras infectadas.

REVISÃO DE LITERATURA

A CULTURA DA GOIABEIRA

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma espécie frutífera, pertencente à família *Myrtaceae*, nativa dos trópicos da América, amplamente distribuída por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, a cultura da goiabeira é predominantemente desenvolvida em propriedades de 3 a 5 hectares e com mão-de-obra familiar. Isto demonstra que essa cultura, como a maioria das culturas frutíferas, é uma boa alternativa para os pequenos proprietários, contribuindo para valorizar o trabalho dos agricultores familiares (Francisco, 2005). Irrigando a lavoura e fazendo podas programadas é possível colher durante todo o ano, e com o devido manejo fitossanitário, é possível obter 800 frutos por planta adulta por ano, com produtividade superior a 40 toneladas por hectare. A goiabeira pode ser cultivada em todo o território nacional, em quase todos os tipos de climas e de solos. De fato, existem pomares domésticos em todos os Estados e também pomares comerciais desde o Rio Grande do Sul até o Maranhão, com destaque para São Paulo, Pernambuco, Minas Gerais e Bahia. Esses quatro estados, em 2008, foram responsáveis por mais de 65% da produção nacional de goiabas (IBGE, 2010).

As variedades mais cultivadas são 'Paluma', que se destina à indústria, e 'Pedro-Sato' para consumo *in natura*.

Dentre as frutas tropicais brasileiras, a goiaba ocupa lugar de destaque, não só pelo seu aroma e sabor como também pelo seu valor nutricional, o que coloca o Brasil na posição de maior produtor de goiabas vermelhas e a Índia, em primeiro lugar na produção de goiabas brancas. Quanto à exportação brasileira, a goiaba ocupou, em 2004, o 26º lugar no *ranking* em volume comercializado, atingindo o patamar de US\$ 117 mil (Francisco, 2005).

Em 2004, foi criado o Pólo de Goiaba na região norte capixaba, o qual vem apresentando inúmeros benefícios econômicos e sociais, como a elevação do nível de emprego, a fixação do homem no campo, a melhor distribuição de renda, a geração de produtos de alto valor comercial, receitas e impostos (Lima *et al.*, 2008).

As estimativas de área plantada, produção, produtividade, distribuição geográfica, incidência de pragas e doenças sobre a cultura da goiaba no Brasil são muito precárias e pouco confiáveis, pois as atividades agrícolas dos pequenos produtores são informais e complexas (IBGE, 2010).

FITONEMATOIDES

Os nematoides constituem, numericamente, o mais abundante grupo de animais multicelulares do planeta, e é estimado que exista um milhão de espécies (Viglierchio, 1991). Grande parte dos nematoides é de vida livre, no entanto, espécies parasitas de plantas são freqüentemente encontradas infectando principalmente órgãos subterrâneos. Acredita-se que todas as espécies de plantas sejam atacadas por uma ou mais espécies de nematoides. Esses parasitas são responsáveis por perdas anuais na produção de alimentos e fibras estimadas em 12% a 20%, causando prejuízos de cerca de 100 bilhões de dólares por ano no mundo (Sasser & Freckman, 1987). Entretanto, o impacto dos fitonematoides é muito maior que o estimado, pois os danos por eles causados nem sempre são visíveis e o sintomas normalmente não são específicos.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, são de grande importância para a agricultura mundial, e são causadores de distúrbios fisiológicos nas plantas que resultam na formação de galhas radiculares. Ocorrem em todo o mundo e freqüentemente são encontrados em regiões de clima tropical ou subtropical. Possuem ampla gama de hospedeiros, englobando mais de 2000 espécies de plantas, o que inclui quase todas as plantas cultivadas. Em todo o mundo são estimadas perdas médias anuais de 12,3% na produtividade das principais culturas (Sasser & Freckman, 1987). Plantas severamente atacada por estes nematoides apresentam um volume reduzido de raízes e o sistema vascular completamente desorganizado devido à formação das galhas, comprometendo seriamente a absorção de água e nutrientes pela planta. Certas espécies promovem não só a formação de galhas como também o desenvolvimento de raízes curtas e ramificadas, resultando em um sistema radicular limitado. O ataque de nematoides fitoparasitas é mais problemático para as plantas no estágio de muda, no qual grande número de plantas morre no canteiro e outras nem resistem ao transplântio (Netscher & Sikora, 1990).

A ESPÉCIE *Meloidogyne enterolobii*

Meloidogyne enterolobii é uma espécie altamente agressiva às goiabeiras, mas sua descrição foi feita a partir de uma população coletada em plantas de *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril ou orelha-de-negro) na ilha de Hainan, no sul da China (Yang & Eisenback, 1983). Em 1988, Rammah e Hirschmann descreveram uma espécie de nematoide-das-galhas a partir de uma população coletada de plantas de berinjela (*Solanum melongena* L.) em Porto Rico, e baseados em pequenas diferenças morfológicas e do fenótipo Mdh (N3c vs. N1a em *M. enterolobii*), concluíram que tratava-se de nova espécie, denominando-a *M. mayaguensis*. No entanto, pode-se argumentar se essas pequenas diferenças refletem variações intraespecíficas, de forma similar à que acontece nas variações morfológicas e de fenótipos Mdh registrados para *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985). Estudos posteriores mostraram que *M. enterolobii* e *M.*

mayaguensis possuem uma sequência idêntica de 662 pares de base do DNA mitocondrial entre os primers C2F3 e 1108 (Xu *et al.*, 2004), além de possuírem o padrão perineal de fêmeas, gama de hospedeiros, fenótipo Esterase (VS1-S1) e características citogenéticas similares (Yang & Eisenback, 1983; Rammah & Hirschmann, 1988; Xu *et al.*, 2004). Deste modo, o nematoide anteriormente conhecido como *M. mayaguensis* é agora considerado como sinonímia de *M. enterolobii* (Perry *et al.*, 2009).

Sintomas severos de meloidoginose em goiabeira foram primeiramente assinalados no Brasil em 1989 (Moura & Moura, 1989), registrado como agente etiológico a espécie *M. incognita*, em pomares localizados na Zona da Mata do Estado de Pernambuco. Posteriormente, novos casos foram registrados no Vale do São Francisco (Estados de Pernambuco e Bahia), município de Itápolis em São Paulo e São João da Barra no Rio de Janeiro. Na época, a identificação das espécies mais comuns e agronomicamente importantes eram feitas pelo exame do padrão perineal de fêmeas e por testes de gama de hospedeiros. A identificação de *M. enterolobii* por essas técnicas é uma tarefa difícil, mesmo para taxonomistas experientes, devido às similaridades entre as características de padrão perineal e gama de hospedeiros deste nematoide com *M. incognita* (Brito *et al.*, 2004). Essa foi a razão porque se atribuiu a *M. incognita* raça 2, o agente causal. Após o uso da técnica de eletroforese de isoenzimas esses nematoides tiveram a identificação corrigida para *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*), pelo fenótipo da isoenzima esterase (Carneiro *et al.*, 2001) e confirmada pelo sequenciamento do DNA mitocondrial (Blok *et al.*, 2002).

Oficialmente, o primeiro relato de *M. enterolobii*, em raízes de goiabeira no Brasil, foi feito em 2001 (Carneiro *et al.*, 2001), nas cidades de Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA). Danos severos são reportados em pomares comerciais de goiabeiras por todo o país, com elevados prejuízos econômicos (Pereira *et al.*, 2009).

No submédio São Francisco o ataque do nematoide *M. enterolobii* provocou em cerca de seis anos (2000/2006) a diminuição da área plantada de goiabeira de 6000 para 1668 hectares. Nos plantios que restam, a doença continua a avançar, a ponto dos especialistas estimarem uma redução contínua

de 10% ao ano. É uma ameaça muito concreta à permanência do negócio da goiaba nas principais regiões produtoras do país (Ribeiro & Castro, 2007).

O parasitismo por *M. enterolobii* causa declínio generalizado da goiabeira, com sintomas característicos nas raízes (galhas, apodrecimento e ausência de raízes finas) e na parte aérea (bronzamento, amarelecimento, queima dos bordos e queda da folha), e frequentemente provoca a morte da planta. A causa de tais sintomas pode ser explicada de forma semelhante aos processos envolvendo o parasitismo por *Meloidogyne spp.* em vários hospedeiros, isto é, alteração nos processos fisiológicos da planta (respiração/transpiração e fotossíntese), predisposição a patógenos secundários e obstrução dos vasos condutores, resultando em deficiências na translocação de água e nutrientes (Gomes *et al.*, 2008b).

Embora existam vários trabalhos sobre *M. enterolobii* no exterior, pouco se sabe sobre o manejo de áreas infestadas. Dado ao alto grau de polifagismo, *M. enterolobii* não representa apenas um risco à exploração comercial da goiabeira, mas também à outras culturas (Guimarães *et al.*, 2003).

CONTROLE DE FITONEMATOIDES

Deseja-se na agricultura, uma maior produção por área cultivada, que ela seja ao mesmo tempo ambientalmente sustentável e que resulte em produtos de qualidade. Para este fim, desde a sua origem, a agricultura tem evoluído continuamente, buscando sempre favorecer a espécie de seu interesse a fim de que esta possa atender a crescente demanda por alimentos, fibras e energia. Nos dias atuais, busca-se um modelo de agricultura que seja menos prejudicial ao ambiente. Entretanto, o uso de defensivos químicos sintéticos como os nematicidas estão na contramão dessa tendência (Santana, 2005). No manejo de fitonematoides, muitas estratégias são investigadas para a supressão dos mesmos dentro do modelo de desenvolvimento sustentável. A utilização de matéria orgânica, o controle biológico, o uso de variedades resistentes, a solarização, a rotação de culturas, o pousio, a inundação, o uso de cultivos intercalares e a cobertura do solo são abordados principalmente por

reduzir a população dos nematoides e manter a biodiversidade nos diferentes agroecossistemas (Ritzingeri & Fancelli, 2006).

Muitos nematologistas não são otimistas quanto ao uso dos químicos sintéticos como tática de manejo. Além disso, há carência de registro de nematicidas em muitas culturas e mesmo alguns produtos sintéticos estão proibidos mundialmente, como o brometo de metila. Seu uso começou a ser restringido em 1993, após anúncio de que ele estava atuando como destruidor da camada de ozônio e ainda é extremamente tóxico aos organismos vivos (Duniway, 2002). Conseqüentemente, muitos pesquisadores têm tentado desenvolver estratégias para o controle dos fitonematoides baseadas em substâncias fitoquímicas (Chitwood, 2002).

A maioria dos estudos envolve experimentos com o uso de extratos vegetais e exsudados radiculares. Esses compostos são bastante diversificados e podem variar quanto ao modo de aplicação, como por exemplo, a biofumigação, uma técnica baseada na ação fumigante dos compostos voláteis lançados durante a biodegradação de tecidos vegetais (García Álvarez *et al.*, 2004). Muitos dos fitoquímicos são ambientalmente mais seguros ou menos tóxicos ao homem que os nematicidas químicos tradicionais. Tanto é assim que as agências de proteção ambiental costumam exigir muito menos dados para registrar um fitoquímico que para registrar um pesticida convencional, e o seu registro tem ainda um custo menor.

Além do seu uso direto no campo, a purificação de substâncias fitoquímicas pode se destinar à identificação de moléculas que determinam o seu efeito nematicida, permitindo o desenvolvimento de compostos nematicidas, ou servindo como modelos para o desenvolvimento sintético dessas moléculas, seja com atividade potencializada ou diminuindo seu impacto ambiental.

MOLÉCULAS DE ORIGEM VEGETAL COM EFEITO NEMATICIDA

No curso de sua evolução, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa química contra pragas e patógenos (Slusarenko *et al.*, 2008). Essas

interações têm recebido grande atenção durante os últimos 30 anos graças ao conhecimento sobre os aleloquímicos, as interações químicas entre as plantas, outros organismos e o ambiente.

Existe uma infinidade de moléculas de origem vegetal citadas na literatura com grande potencial no controle de fitonematoides, seja com efeito nematicida, nematostático, ovicida ou de repelência. Diversas são as plantas que ao serem incorporadas ao solo liberam substâncias com estas características, como o nim (*Azadirachta indica*), a crotalária (*Crotalaria spectabilis*), a mucuna (*Mucuna aterrima*), o feijão de porco (*Canavalia ensiformis*), o cravo de defunto (*Tagetes* sp.), dentre outras espécies vegetais. Merece destaque as plantas da família Brassicaceae que são exploradas devido o potencial biofumigante principalmente das mostardas (*Brassica* spp., *Sinapis* spp.), do repolho (*Brassica oleracea* var. capitata), do brócolis (*B. oleracea* var. italica) e da couve (*B. oleracea* var. acephala).

Sabe-se hoje que a atividade biocida das plantas do grupo das Brássicas é devido à presença do sistema glucosinolato-myrosinase nas células (Fig. 1). Os glucosinolatos são um grupo de moléculas bastante extenso, e são agrupadas em várias classes químicas baseadas nas similaridades estruturais, como as cadeias orgânicas laterais (grupo R). Acredita-se que as plantas da família das Brássicas produzem glucosinolatos como uma estratégia de defesa contra insetos (Brown & Morra, 1997; Fahey *et al.*, 2001).

O sistema glucosinolato-myrosinase presente nas células tem capacidade de produzir compostos biologicamente ativos incluindo os isotiocianatos, nitrilas, epithionitrilas e tiocianatos. Os glucosinolatos são armazenados nos vacúolos das células, e entram em contato com a myrosinase, que catalisa a hidrólise dos glucosinolatos em glucose e um intermediário instável que dará origem a sulfato, isotiocianatos, tiocianatos, nitrilas ou enxofre elementar, dependendo das condições da reação (Zasada & Ferris, 2003). A produção desses é sensível a fatores como a estrutura do glucosinolato, pH e fatores protéicos adicionais (Fahey *et al.*, 2001).

Existem evidências que os glucosinolatos não são tóxicos aos nematoides, mas sim os produtos de sua degradação. Para que isso fosse comprovado, nematoides foram expostos a glucosinolatos purificados de

tecidos de brássicas na presença e ausência da enzima myrosinase. Quando a enzima estava presente, os produtos da degradação foram tóxicos, enquanto na ausência da enzima os glucosinolatos não foram tóxicos (Donkin *et al.*, 1995; Buskov *et al.*, 2002).

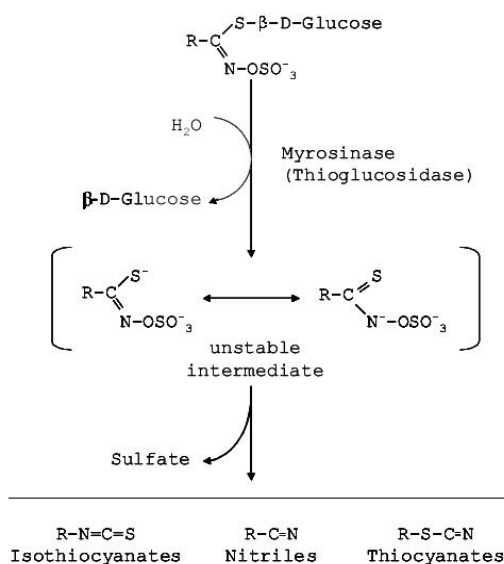


Fig. 1 - Hidrólise enzimática dos glucosinolatos via myrosinase. (Zasada & Ferris, 2003)

As primeiras observações acerca das propriedades dos isotiocianatos foram feitas com os óleos de mostarda, como eram comumente conhecidos, e foi registrado no início do século XII como resultado dos esforços para entender a origem química do sabor ardido das sementes de mostarda (Fahey *et al.*, 2001).

Na área da fitonematologia, essas moléculas foram umas das primeiras a serem estudadas, inicialmente pelas interações entre plantas de mostarda (família *Brassicaceae*) e o nematoide *Globodera rostochiensis*. As investigações levaram à conclusão que o principal componente do óleo da semente de mostarda é o “alil isotiocianato”, que inibiu a eclosão dos ovos de *G. rostochiensis* a uma concentração de 1µg/mL (Morgan, 1925; Ellenby, 1945).

A canola (*Brassica napus*) tem recebido bastante atenção quanto ao seu uso como adubo verde em um manejo de rotação de culturas, como um modo de promover o controle de nematoides. Os isotiocianatos estão envolvidos

nessa toxicidade. Praticamente todas as plantas da família *Brassicaceae* produzem os glucosinolatos, que por sua vez são hidrolisados a isotiocianatos (Halbrendt, 1996; Brown & Morra, 1997).

Existem evidências de diferentes níveis de toxicidade a nematoides relacionadas ao tipo de glucosinato produzido pela espécie vegetal, que dará origem a diferentes tipos de isotiocianatos. Já foram detectados cerca de 20 tipos de isotiocianatos diferentes, produzidos por diferentes espécies de Brássicas (Brown *et al.*, 1991; Brown & Morra, 1996). Já foi observado que *Pratylenchus neglectus* é capaz de se reproduzir em cultivares de *Brassica napus*, isso se deve ao baixo nível de 2-feniletil nesta planta, porém o nível total de glucosinolatos não é baixo. Quando o isotiocianato 2-feniletil foi aplicado a 16,2 µg/g de solo, a reprodução de *Pratylenchus neglectus* foi suprimida (Potter *et al.*, 1999; Potter *et al.*, 2000).

Dentre os tipos de isotiocianatos, o alil isotiocianato tem se mostrado o mais tóxico contra *Heterodera schachtii* (Lazzeri *et al.*, 1993), e tem um amplo espectro de atividade nematicida (Yu *et al.*, 2005). Contra *M. javanica* e *Tylenchulus semipenetrans*, sete diferentes isotiocianatos comercialmente viáveis foram testados com a finalidade de determinar a concentração letal (LC). O fenil isotiocianato foi o menos tóxico para ambos nematoides, seguido pelo etil, butil e 4-metilsulfinil isotiocianato. O alil isotiocianato apresentou toxicidade intermediária, com LC₉₀ entre 0,04 e 0,29 µmol/mL. O mais tóxico para esses nematoides foi o 2-feniletil e o benzil isotiocianato, com valores de LC₉₀ entre 0,01 e 0,06 µmol/mL. Esses dois isotiocianatos são os mais promissores para o manejo de fitonematoides (Zasada & Ferris, 2003). Esses estudos mostram que existe diferença de toxicidade de diferentes isotiocianatos contra diferentes organismos alvo.

Experimentos também já foram realizados usando a farinha de mostarda e farelo de sementes de mostarda, ambos mostraram atividade nematicida contra uma ampla gama de espécies de nematoides. A inibição da eclosão desses dois materiais é variável, dependendo das espécies de nematoides. A farinha de sementes foi mais eficiente no que diz respeito à toxicidade, supressão da eclosão e supressão de nematoides no solo. Isso sugere que deve haver outras substâncias químicas tóxicas aos nematoides nas sementes

de mostarda. (Yu *et al.*, 2005). Yu também observou efeitos fitotóxicos em testes de casa de vegetação nas plantas de morango, batata e milho doce.

No estudo do efeito de farinhas de mostarda na biofumigação de solo infestado por *M. incognita*, foi observada 99% de redução no número de galhas, de massas de ovos e de ovos em tomateiro utilizando-se 1,6% de folha desidratada e moída (Lima, 2006). Com a farinha das sementes a redução foi de 99,5% e 99,9% nas doses de 0,4 e 0,8%, respectivamente. Também foi verificada mortalidade *in vitro* superior a 95% em juvenis de *Heterodera glycines*, *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. javanica* e *M. exigua* utilizando folha desidratada de mostarda, farinha de sementes e farinha desengordurada de sementes.

Em uma avaliação de doses da farinha de semente desengordurada (torta) de mostarda no controle de *M. exigua*, obteve-se controle de 95% do nematoide na dose 2 g/dm³ de solo. Foi observado ainda que o controle do nematoide foi independente do teor de umidade e textura do solo, desde que a quantidade de água fosse suficiente para ocorrer a hidrólise dos glucosinolatos. O uso de tortas de sementes de mostarda resultou em níveis adequados de controle de diversos nematoides, com baixo impacto sobre organismos saprófitas e com ação nematicida constante (Goulart, 2007).

Estudos já demonstraram que o óleo essencial de mostarda foi eficiente em inibir a eclosão de juvenis de *M. javanica* nas concentrações de 1000, 400 e 200 ppm (Neves *et al.*, 2005).

Foi observado que a 80 ppm, com 5 dias de fumigação, o OEM proporcionou 100% de controle de *M. exigua*, e que a dose do óleo pode ser reduzida para 60 ppm sem redução na eficiência no controle, desde que o tempo de fumigação seja de pelo menos 10 dias (Aguiar, 2008). Verificou-se também que os gases oriundos do OEM foram capazes de dispersar até 30 cm no sentido horizontal e vertical ascendente, e 20 cm no sentido vertical descendente com eficiência de praticamente 100% na mortalidade dos juvenis de *M. exigua*. A fim de se obter formulações do OEM que proporcionassem maior conforto ao aplicador e agilidade na aplicação, verificou-se que a utilização de cilindros de papel embebidos com o óleo se mostrou tão eficiente no controle quanto a aplicação em suspensão aquosa.

Além do uso no controle de nematoides, o OEM também já foi avaliado para controle de fungos, muitos trabalhos já foram realizados e comprovaram a eficiência dos isotiocianatos no controle de *Rhizoctonia* spp. (Chung *et al.*, 2002; Cohen *et al.*, 2005). Para tombamento e requeima causados por *R. solani*, o OEM foi capaz de inibir completamente o crescimento *in vitro* do fungo na concentração de 150 µl/l. A irrigação de solos infestados com *R. solani* com água contendo OEM emulsificado para fornecer 150 µl/l de solo, 10 dias antes do plantio, resultou em 95% de controle do tombamento e requeima de mudas de feijão-vagem, sem qualquer efeito de fitotoxidez (Dhingra *et al.*, 2004).

Os produtos bioativos da hidrólise dos glucosinolatos podem ser tóxicos tanto para patógenos e pestes de solo como para plantas daninhas. A incorporação de *B. napus* é capaz de alterar significativamente a química e biologia do solo, influenciando na densidade e biomassa de plantas daninhas em cultivos subsequentes (Boydston & Hang, 1995; Mattner *et al.*, 2008). Além da supressão da emergência, os isotiocianatos podem atrasar ou mesmo inibir a germinação de sementes, dependendo da concentração (Brown & Morra, 1995). A aplicação de altas concentrações do isotiocianato no solo pode suprimir a emergência por mais de 7 semanas, enquanto concentrações menores suprimem a emergência por períodos mais curtos (Brown & Morra, 1996; Haramoto & Gallandt, 2004; Kruidhof *et al.*, 2009).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em um talhão de 5300 m² de um pomar comercial de goiaba cultivar Pedro Sato, com 13 anos de idade, plantadas em espaçamento de 7 x 8 m, situado no município de Viçosa, MG, (latitude sul 20°47'39", longitude oeste 42°50'01"). Este talhão faz limite com um segundo talhão de goiabeiras ao norte, pomar de Laranjeiras (*Citrus* sp. – Família *Rutaceae*) ao leste, pomar de Lichia (*Litchi chinensis* - Família *Sapindaceae*) ao oeste e mata secundária ao sul. O solo é de textura argilosa e a área possui declividade média sul-norte de 18%. O sistema era de produção contínua e o manejo do pomar constava de podas, adubações, controle químico de pragas e

doenças da parte aérea, além de irrigação por microaspersão. Devido ao dano econômico causado pelo nematoide, o proprietário abandonou as práticas de manejo da área aproximadamente um ano antes da instalação do experimento. A identificação da espécie pelo fenótipo da esterase revelou que as goiabeiras se encontravam infectadas por *M. enterolobii* (Apêndice).

A parte aérea das goiabeiras apresentava sintomas de bronzeamento e clorose das folhas, drástica redução de crescimento e de produção de frutos, em volume e qualidade. O sistema radicular estava mal formado, com ausência de raízes finas, numerosas regiões de engrossamento caracterizando as galhas, que eram de dimensões variadas e presentes desde as raízes mais finas até as raízes mais grossas das plantas.

Anteriormente à instalação dos ensaios, foi aplicada calda herbicida de glifosato + 2,4-D, dose de 3 e 1,5 L/ha do produto comercial, respectivamente. Após uma semana toda a área foi roçada com roçadeira com motor de combustão.

Ensaio 1 - Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para o Controle de *Meloidogyne enterolobii* em Áreas de Goiabeiras Recepadas e Eliminadas

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 10 blocos contendo cada um 6 parcelas, cuja área foi fixada em 4 x 4 m. Foram testados 6 tratamentos em esquema fatorial 3 x 2, constituído da aplicação de óleo essencial de mostarda (OEM) na dose de 100 µg/mL, do nematicida terbufós (Counter® 150G) na dose de 30 kg/ha do i. a. e testemunha. Plantas arrancadas e recepadas constituíram o outro fator.

As goiabeiras foram arrancadas com um trator, buscando-se remover do solo a maior quantidade possível de raízes. Para recepar, foi utilizada serra de poda, deixando-se cerca de 30 cm do caule a partir do nível do solo.

No tratamento com OEM, 350 mL do óleo foi diluído em 10 litros de água, distribuído uniformemente na parcela com auxílio de um regador e a área foi imediatamente coberta com lona preta (figura 1B). As bordas da lona foram enterradas em sulcos de 25 cm de profundidade para uma melhor vedação (figura 1A). No tratamento com nematicida, o produto comercial granulado foi aplicado a lanço com distribuição uniforme na parcela. Toda a área foi mantida

livre de plantas daninhas durante o período experimental mediante aplicação de glifosato + 2,4-D.

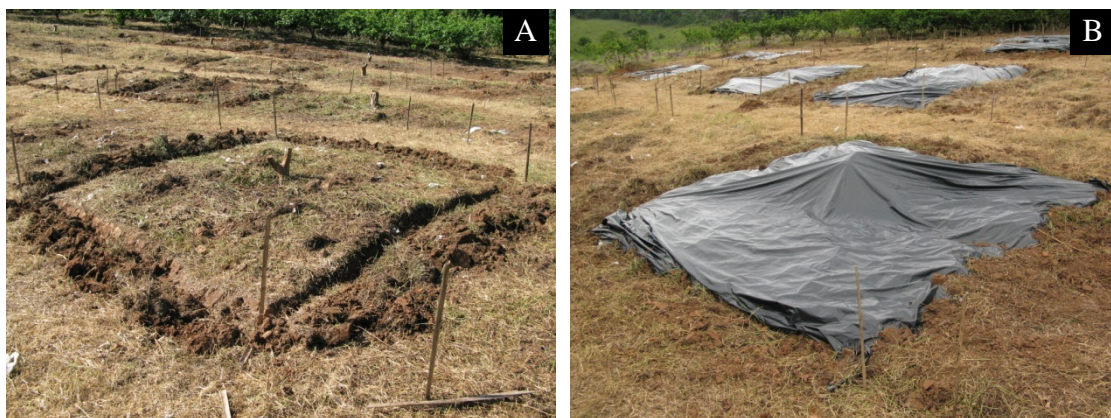


Figura 1 (A e B) – Parcela tratada com OEM, antes (A) e após (B) a aplicação.

Para a análise da população de *M. enterolobii*, foram coletadas 4 amostras simples por parcela, à profundidade de até 20 cm, para compor cada amostra composta. Das amostras compostas foram retiradas alíquotas de 100 cm³ de solo para extração dos nematoides por flotação centrífuga (Jenkins, 1964) para contagem de juvenis de segundo estágio (J2), e outros 1500 cm³ foram colocados em um vaso juntamente com uma muda de tomate Santa Cruz 'Kada' e mantidos em casa de vegetação (teste biológico). Após 50 dias as mudas foram retiradas para contagem de galhas, ovos e mensuração da matéria fresca radicular.

Amostras foram coletadas no dia 23/11/2009, anteriormente à instalação do experimento para a mensuração da população inicial (Pi) das parcelas. As amostragens posteriores foram feitas nos dias 11/01/2010, 11/02/2010 e 17/04/2010, aos 45, 75 e 140 dias após aplicação dos produtos (daAp), respectivamente.

Análise dos dados

Os dados número de J2 / 100cm³ de solo, de galhas /g de matéria fresca de raiz (MFR) e de ovos /g de MFR foram comparados pelas variações na população (Δ) em cada época e foram calculadas para cada variável diminuindo-se a população inicial da final (Pf - Pi). Os valores obtidos para Δ foram submetidos à ANOVA e, quando necessário aplicou-se o teste para

comparação de médias (Tukey a 5% de probabilidade). Para tal, foi utilizado o programa estatístico MiniTab® 14. Os dados de ovos /g de MFR foram transformados em $\sqrt{(x+1)}$ visando atender a distribuição normal (Kolmogorov-Sminorv). A homogeneidade de variâncias foi atendida segundo teste de Levene's.

Ensaio 2 - Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para Controle de *Meloidogyne enterolobii* em Goiabeiras

O experimento foi instalado na propriedade descrita anteriormente, porém num talhão de 1700 m².

O experimento foi instalado em delineamento de blocos casualizados, com 12 blocos e cada parcela foi constituída pela área de projeção da copa de uma planta. Foram testados 3 tratamentos: óleo essencial de mostarda (OEM) na dose de 100 µg/mL, nematicida terbufós (Counter® 150G) na dose de 30 kg/ha do produto comercial e testemunha.

Para a aplicação do OEM, foram feitas 150 perfurações no solo de 35 cm de profundidade e 1,6 cm de diâmetro, distribuídas uniformemente na área de projeção da copa. A distância entre as perfurações foi de aproximadamente 20 cm. Em cada perfuração foi depositada uma tira de papelão embebida com OEM (Fig.2 A) e, imediatamente, vedada com solo. Após o tratamento da parcela, ela foi coberta com lona plástica preta e as bordas da lona cobertas com solo (Fig. 2 B).

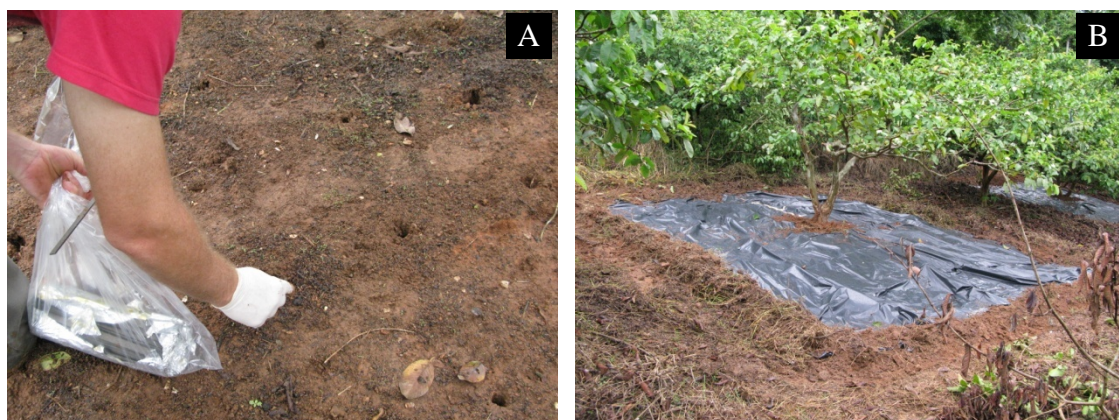


Figura 2 (A e B) – Parcelas tratadas com OEM por meio de tiras de papelão embebidas.

No tratamento com nematicida, o produto comercial granulado foi aplicado a lanço com distribuição uniforme na parcela.

Toda a área experimental foi mantida livre de plantas daninhas mediante aplicação de glifosato + 2,4-D.

Para a avaliação da população de nematoides, foram coletadas 4 amostras simples por parcela, à profundidade de até 20 cm, para compor cada amostra composta. Das amostras compostas foram retiradas alíquotas de 100 cm³ de solo para extração dos nematoides por flotação centrífuga (Jenkins, 1964) para contagem dos J2, e outros 1500 cm³ que foram colocados em um vaso juntamente com uma muda de tomate Santa Cruz 'Kada' (teste biológico) e mantidos em casa de vegetação. Após 50 dias, as mudas foram retiradas para contagem de galhas, ovos e mensuração da matéria fresca radicular.

Amostras foram coletadas em 8/12/2009, anteriormente à aplicação dos produtos, para a mensuração da população inicial (Pi). As amostragens posteriores foram feitas nos dias 17/01/2010; 17/02/2010 e 17/04/2010 (Pfs), a 38, 68 e 128 dias após aplicação dos produtos, respectivamente.

Análise dos Dados

As variações na população (Δ) em cada época foram calculadas para cada variável diminuindo-se a população inicial da final (Pf - Pi). Os grupos de médias foram avaliados por meio da análise de variância balanceada e para tal foi utilizado o programa estatístico MiniTab® 14. A homogeneidade de variâncias foi atendida segundo teste de Levene's. Os dados da variável número de J2 / 100cm³ de solo foram transformados em $\sqrt{x+1}$ para atender a distribuição normal. Número de galhas /g de MFR e de ovos /g de MFR apresentaram distribuição normal sem necessidade de transformação, segundo o teste de Kolmogorov-Sminorv.

RESULTADOS

Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para o Controle de *Meloidogyne enterolobii* em Áreas de Goiabeiras Recepadas e Eliminadas

Observou-se que nas áreas tratadas com OEM, não houve emergência de plantas daninhas, exceto tiririca (*Cyperus rotundus*), até 40 dias após a sua aplicação, não havendo necessidade de aplicação de herbicidas químicos convencionais nessas áreas neste período. Nas áreas que não receberam aplicação de produto nematocida (testemunha) e nas que receberam aplicação de terbufós foi necessária aplicação periódica de calda herbicida para controlar as plantas invasoras, desde o início do ensaio.

Nas parcelas testemunhas e tratadas com terbufós, as gemas foliares presentes nos caules das plantas recepadas emitiram novas brotações aproximadamente aos 40 dias após a recepa (Figura 3). Porções das plantas arrancadas que ficaram expostas na superfície do solo também começaram a emitir brotações nas gemas devido ao estímulo pela luz. Nas parcelas tratadas com OEM, ocorreu a morte das gemas presentes nos caules das plantas recepadas, portanto, essas não brotaram e o caule ficou com aspecto queimado.



Figura 3 (A e B) - Planta recepada, sem aplicação de produtos nematocidas (testemunha) emitindo brotações (A) e planta recepada tratada com OEM com aspecto queimado (B) - Fotografadas em 20/02/2010.

Observou-se a tendência de redução da quantidade de J2 presente no solo ao longo do tempo, a qual se manteve baixa até a última amostragem, aos 140 dias após aplicação dos produtos (Fig. 4). Pelos registros das precipitações pluviométricas para a região de Viçosa-MG, verificou-se a ocorrência de períodos de estiagem, coincidentes com as épocas das amostragens, exceto novembro cuja média semanal de precipitação foi de 26 mm (Fig. 5). Isso foi perceptível no campo durante as amostragens, pois o solo se encontrava seco e fortemente agregado, dificultando as coletas. Durante o período das avaliações as temperaturas se mantiveram sempre entre 15 e 32 °C, com médias oscilando entre 19,5 e 24,3 °C (Fig. 5).

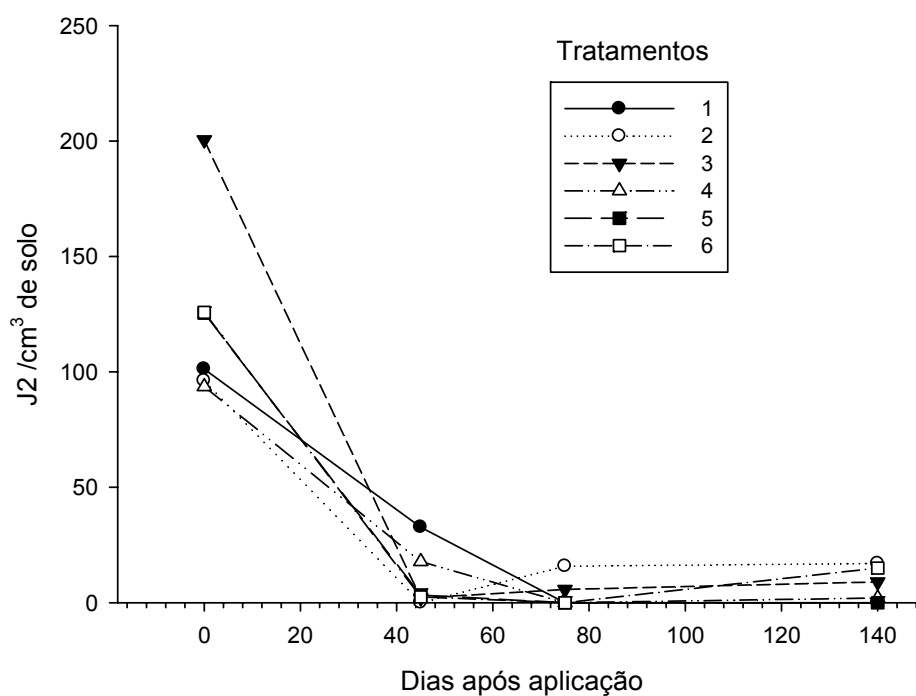
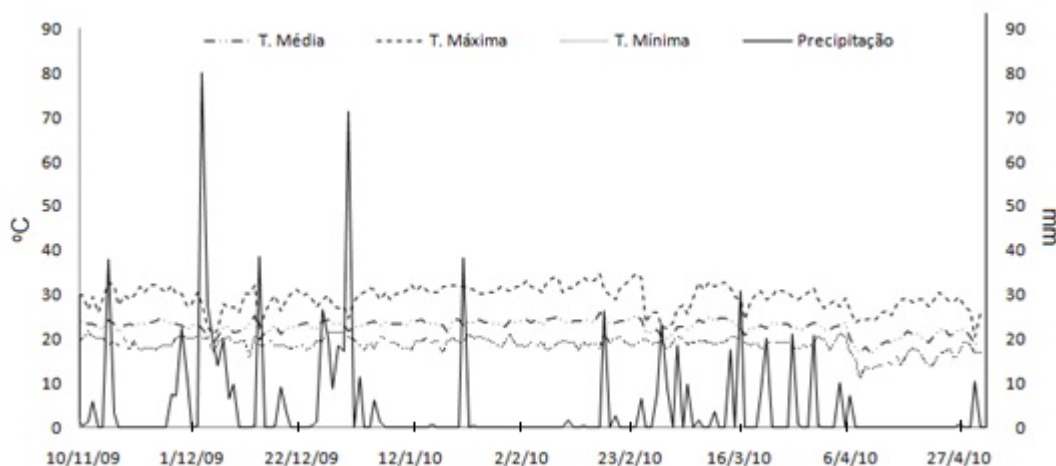


Figura 4 - Número médio de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne enterolobii* em 100 cm³ de solo (tratamentos 1: Testemunha + arranquio, 2: testemunha + recepa, 3: terbufós + arranquio, 4: terbufós + recepa, 5: óleo essencial de mostarda (OEM) + arranquio e 6: OEM + recepa), ao longo do tempo.



Fig

ura 5 - Registros das temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) e precipitação (mm) em Viçosa, MG, de novembro de 2009 a maio de 2010. Dados climáticos fornecidos pela Estação Meteorológica de Viçosa (MET – Boletim Meteorológico).

Em relação ao teste biológico, ocorreu apenas o efeito ($P < 0,05$) do nematicida sobre a população de *M. enterolobii* (Tabela 1), constatando-se diferença entre as médias desde a primeira até a última avaliação para Δ Galhas /g de MFR e Δ Ovos /g de MFR. Já o tipo de trato cultural, recepa ou arranquio da goiabeira, não contribuiu ($P < 0,05$) para a diferença entre as médias em nenhum dos tempos. A ação nematicida dos 2 produtos não dependeu do tipo de trato cultural (Tabela 1).

Tabela 1 – Quadrados Médio resultantes da ANOVA para os valores de Δ para número de galhas e de ovos de *Meloidogyne enterolobii* para os tratamentos testemunha; Terbufós e óleo essencial de mostarda (OEM) avaliados aos 45, 75 e 140 dias após a aplicação (daAp)

FV	GL	45 daAp		75 daAp		140 daAp	
		Δ^1 Galhas	Δ Ovos ^a	Δ Galhas	Δ Ovos ^a	Δ Galhas	Δ Ovos ^a
Bloco	9	2230	9677	3186	5332	2899	5418
Nematicida (N)	2	25140*	21145*	39067*	33833*	9831*	12797*
Trato Cultural (P)	1	1870	158	5294	1422	531	2966
N x P	2	83	289	1892	5780	1252	3752
CV (%)		48,44	51,98	49,23	61,84	43,89	41,71

¹ $\Delta = (P_f - P_i)$: as variações na população em cada época foram calculadas diminuindo-se a população inicial da final * Significativo pelo teste F ($P < 0,05$). ^a Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.

Tabela 2 – Médias dos números de galhas e de ovos de *Meloidogyne enterolobii* por grama de matéria fresca de raízes, em relação à população inicial (Δ), após aplicação dos nematicidas, independente do arranquio ou recepa das goiabeiras

Tempo da avaliação	Nematicida	Variáveis	
		Δ Galhas	Δ Ovos ^a
45 dias	Testemunha	21,3 a	10,7 (113,5) a
	Terbufós	-33,4 b	-9,9 (-97) ab
	OEM	-44,6 b	-52,8 (-2786,8) b
75 dias	Testemunha	36,8 a	8,7 (74,7) a
	Terbufós	-9,9 ab	-9,3 (-85,5) a
	OEM	-50,8 b	-70,6 (-4983,4) b
140 dias	Testemunha	-21,3 a	-25,3 (-639,1) a
	Terbufós	-35,7 ab	-29,7 (-881,1) a
	OEM	-62,8 b	-72,6 (-5269,8) b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna e em cada data de avaliação, não diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

^a Dados transformados para $\sqrt{(x + 1)}$, dados reais entre parênteses.

A aplicação do óleo essencial de mostarda causou redução ($P < 0,05$) no número de galhas e de ovos de *M. enterolobii* nas raízes dos tomateiros em todas as três épocas de avaliação em relação à testemunha (Tabela 2). O Terbufós resultou em redução ($P < 0,05$) das galhas apenas aos 45 dias após a sua aplicação, embora as médias dos números de galhas e ovos /g de MFR para terbufós tenham sido sempre menores que as da testemunha nas avaliações posteriores.

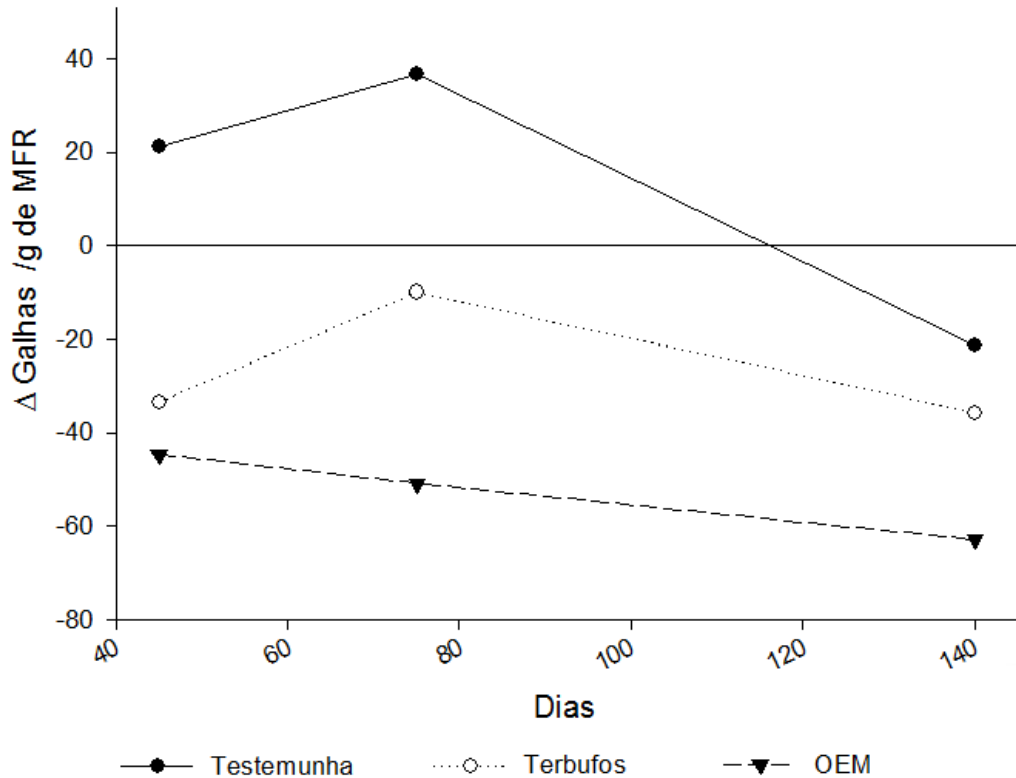


Figura 6 – Médias de Δ (Pf - Pi) para número de galhas de *Meloidogyne enterolobii* /g de MFR, aos 45, 75 e 140 dias após a aplicação dos produtos.

Em relação ao teste biológico, observou-se que a distribuição da população inicial de nematoides na área experimental, aquela anterior à aplicação dos tratamentos, era bastante uniforme. O número médio de galhas /g de MFR variou de 56 a 80, e de ovos /g de MFR de 6.147 a 12.005.

Considerando-se o número de galhas, aos 45 dias houve redução de 40% e 71% para terbufós e OEM, respectivamente (Fig. 6). Entretanto, esse número voltou a aumentar para terbufós em nova avaliação após 75 dias, enquanto no tratamento com OEM esse número continuou reduzindo. Na avaliação aos 140 dias, observou-se redução das médias de galhas para todos os tratamentos, chegando a 28% para a testemunha, 43% para terbufós e 99% para OEM, em relação à população inicial.

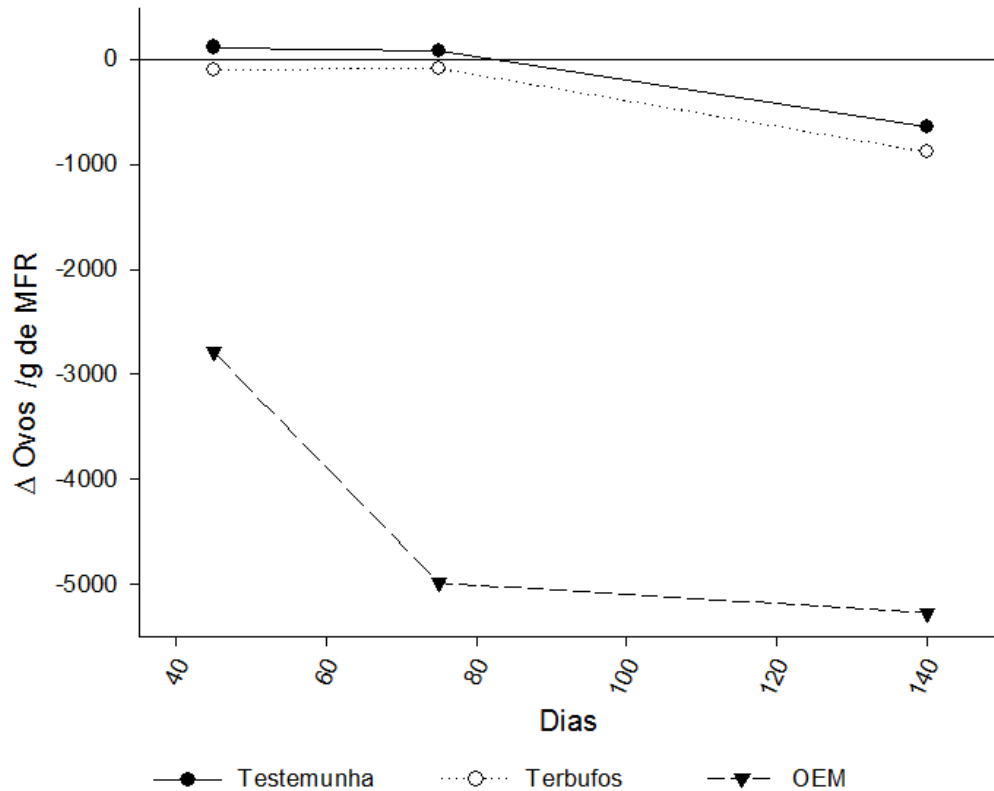


Figura 7 - Médias de Δ ($P_f - P_i$) para número de ovos de *Meloidogyne enterolobii* /g de MFR, aos 45, 75 e 140 dias após a aplicação dos produtos.

Para o número de ovos (Fig. 7), apenas o OEM causou redução da população, que ocorreu desde a primeira avaliação. A maior discriminação entre os efeitos dos tratamentos pôde ser observada aos 75 dias após aplicação dos tratamentos, quando o OEM causou uma redução de 80% na média do número de ovos /g de MFR, e seguiu reduzindo até a última avaliação, aos 140 dias, quando atingiu uma redução de 83%. Ainda na última avaliação, observou-se também redução das médias de ovos para os demais tratamentos, que foi de 25% para a testemunha e 30% para terbufós.

Aplicação de Óleo Essencial de Mostarda para Controle de *Meloidogyne enterolobii* em Goiabeiras

Durante a estação chuvosa, a parte aérea das plantas não apresentou sintomas claros da infecção apesar das raízes apresentarem numerosas galhas e de variadas dimensões (Fig. 8A). Com a chegada da estação seca, no

mês de abril, os sintomas se tornaram cada vez mais evidentes, como o bronzeamento das folhas e alguns ramos com aparência de queimados. Pela observação visual desses sintomas na parte aérea das plantas infectadas, aos 120 dias após aplicação dos tratamentos, não se visualizou nenhuma diferença na intensidade de doença entre as plantas testemunhas e tratadas com terbufós ou com o OEM. Quase a totalidade dos ramos superiores de todas as plantas apresentava sintomas severos de deficiência nutricional (Fig. 8B), como folhas com bordos arroxeados evoluindo para necrose e abscisão. Os sintomas nos ramos inferiores, em geral, eram mais brandos (Figs. 8B e 9).



Fig. 8 (A e B) - Raízes de goiabeira com numerosas galhas de *Meloidogyne enterolobii* (A) (Novembro de 2009) e goiabeiras com sintomas de *M. enterolobii* na estação seca (B) (17/04/2010).

Nenhum sintoma de fitotoxidez foi observado nas goiabeiras tratadas com OEM, entretanto, assim como no primeiro ensaio, observou-se forte inibição da germinação e emergência de plantas daninhas nas áreas tratadas com OEM até 60 dias após a aplicação do produto.



Fig. 9 (A e B) - Ramos de goiabeiras apresentando sintomas de folhas arroxeadas resultantes da infecção causada por *Meloidogyne enterolobii*.

Houve tendência de redução do número de J2 no solo no decorrer do tempo em todas as parcelas, no entanto, as flutuações de J2 não foram devido à aplicação do terbufós ou do OEM, visto que os resultados da ANOVA para os Δ 's não indicaram diferença para a testemunha. Para o teste biológico, também não ocorreu diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$) em nenhum dos tempos de avaliação, exceto para número de galhas aos 68 dias após a aplicação dos produtos (Tabela 3).

Não ocorreu diferença ($P < 0,05$) na variação do número de galhas de *M. enterolobii* /g de MFR entre o Terbufós e a testemunha aos 68 dias após a aplicação dos produtos, mas ocorreu um aumento no número de galhas do OEM em relação à testemunha (Tabela 4).

Tabela 3 – Quadrados Médio (QM) e Coeficientes de Variação (CV) de número de juvenis (J2), galhas e de ovos de *Meloidogyne enterolobii* resultantes da ANOVA balanceada para valores de Δ (Pf - Pi) para Testemunha, Terbufós e OEM

38 dias

FV	GL	QM		
		Δ J2 /100 cm ^{3 b}	Δ Galhas /g	Δ Ovos /g
Bloco	11	250,5	3492	71543750
Nematicida	2	18,5	5051	49996128
CV (%)		81,76	50,93	37,29

68 dias

FV	GL	QM		
		Δ J2 /100 cm ^{3 b}	Δ Galhas /g	Δ Ovos /g
Bloco	11	233,9	3617	53376187
Nematicida	2	15,1	13630*	7994301
CV (%)		38,15	54,45	31,89

128 dias

FV	GL	QM		
		Δ J2 /100 cm ^{3 b}	Δ Galhas /g	Δ Ovos /g
Bloco	11	193,6	2231	134720471
Nematicida	2	150,8	1057	9425667
CV (%)		78,87	45,85	36,78

* significativo pelo teste F (P<0,05)

^b Dados transformados para $\sqrt{(x+1)}$.

Tabela 4 – Médias da variação do número de galhas causadas por *Meloidogyne enterolobii* em raízes de tomateiros (MFR) aos 68 dias após a aplicação dos produtos

Nematicida	Δ Galhas /g de MFR
OEM	+67,33 a
Terbufós	+21,33 ab
Testemunha	+1,66 b

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

DISCUSSÃO

A inibição da emergência de plantas daninhas observada nas parcelas que receberam o óleo essencial de mostarda já foi observada em outros trabalhos em que a incorporação de brássicas ao solo inibiu a germinação e emergência de diversas espécies, reduzindo a densidade e biomassa de plantas daninhas (Haramoto & Gallandt, 2004). Dentre os produtos da hidrólise dos glucosinolatos presentes no tecido das brássicas, os isotiocianatos são os de maior poder fitotóxico, sendo capazes de inibir a germinação de sementes e o crescimento radicular (Bainard *et al.*, 2009). O OEM se mostrou um produto com bom potencial para controlar plantas daninhas e merece estudos mais específicos para um melhor conhecimento dessa capacidade.

O decréscimo das populações de J2 avaliadas se deveu provavelmente, mais às condições climáticas e à indisponibilidade de raízes hospedeiras que aos tratamentos com o OEM ou Terbufós. Especialmente as três últimas amostragens de ambos ensaios foram antecedidas por um período longo de veranico. O incremento ou decréscimo da população de nematoide pode depender de fatores que atuam direta e indiretamente na sua biologia. Com relação aos fatores abióticos, o teor de umidade no solo é considerado o mais importante, seguido de outros, tais como a temperatura e condições edáficas (Gaugler & Bilgrami, 2004). As temperaturas registradas não foram suficientes para comprometer o desenvolvimento dos nematoides. Os nematoides das galhas possuem temperatura ótima de desenvolvimento entre 25 e 30 °C, mas são capazes de completar seu ciclo de vida em uma amplitude maior de temperatura, variando de 15 °C até temperaturas acima de 30 °C. Entretanto, sob tais condições, a duração do ciclo de vida e a eficiência de eclosão são afetados negativamente (Ploeg, 1999; Campos *et al.*, 2008). No entanto, as condições de umidade não foram favoráveis devido ao aumento da seca. À medida que o solo perde umidade, a espessura dos filmes de água presentes na superfície das partículas de solo diminui a ponto de ocorrer um aumento da tensão superficial e do atrito com o substrato, impedindo a migração dos nematoide e fazendo com que eles se desidratem e morram (Gaugler &

Bilgrami, 2004). Ao contrário dos juvenis, os ovos de *Meloidogyne* sobrevivem a uma ampla variação de umidade do solo, porém a eclosão não é uniforme quando há pouca umidade, a qual é reduzida ou mesmo inibida pela pressão osmótica alcançada no solo (Milne & Plessis, 1964). Provavelmente devido a essa alta influência da umidade sobre os nematoides, tenha se obtido resultados que confirmam a tendência de redução da população de J2 de *Meloidogyne* em solos secos. No ensaio 1, as médias foram próximas de zero nas três últimas avaliações inclusive nas parcelas testemunhas, indicando que grande parte dos juvenis supostamente presentes na área foram mortos e a eclosão dos ovos fora suprimida. Já no ensaio 2, onde o solo permaneceu protegido por uma camada de cobertura morta e pelo sombreamento das goiabeiras, a presença de raízes e a umidade do solo foi preservada e a redução nos níveis da população de J2 foi menor.

A disponibilidade de plantas hospedeiras é também fator determinante na flutuação do nível de juvenis presentes no solo. Podas drásticas de plantas, como a recepa, podem provocar a morte de mais de 80% das raízes, conforme estudado por Pereira *et al.* (2008) em cafeeiros. No ensaio 1, as plantas foram recepadas ou arrancadas, o que provocou a morte de grande parte das raízes das goiabeiras. A perda de raízes provoca a diminuição da emissão de exsudatos radiculares no solo, prejudicando a atratividade dos nematoides em direção ao hospedeiro, ficando estes mais vulneráveis às condições de estresse do solo e dos produtos aplicados. Da mesma forma, as fêmeas que se encontravam na fase de sedentarismo no interior das raízes das goiabeiras, tiveram seu ciclo de vida interrompido. Já no ensaio 2, onde as plantas permaneceram intactas, houve menor decréscimo no número de J2 no solo, pois além da umidade favorável havia maior disponibilidade de tecido hospedeiro. A mesma metodologia de avaliação de juvenis foi usada por Souza *et al.* (2006), que não detectaram J2 de *M. enterolobii* em área infestada após 8 meses de pousio, porém o nematoide foi capaz de sobreviver no solo na forma de ovos em dormência. Quando as amostras de solo foram levadas para casa de vegetação, e proporcionadas as condições favoráveis ao desenvolvimento do nematoide, estimulou-se a eclosão dos ovos dormentes e os J2 eclodidos puderam infectar as raízes das mudas de tomateiros transplantadas, induzindo a formação de galhas e completando seu ciclo de vida com a produção de

ovos. Deste modo, para a avaliação dos experimentos, preferiu-se a avaliação biológica, principalmente no ensaio 1, onde os juvenis foram mais afetados pelos fatores ambientais desfavoráveis.

Os resultados para os tratamentos com terbufós, que possui ação de contato e sistêmica, revelaram que o nematicida nem sempre foi eficiente em controlar *Meloidogyne enterolobii*. Sua ineficiência foi observada em todos os tempos de avaliação do Ensaio 2, quando as flutuações das médias de J2, galhas e ovos não foram diferentes da testemunha, ou seja, o nematicida não foi capaz de afetar o nematoide sistemicamente na planta. A ineficiência do terbufós em controlar nematoide sistemicamente já fora observada por Chaves *et al.* (2002), em tratamentos de socas de cana-de-açúcar. No Ensaio 1, o terbufós foi capaz de promover uma redução de 45% no número de galhas e de 33% no número de ovos 45 dias após a aplicação, porém esse número voltou a aumentar nas avaliações posteriores. Este resultado está de acordo com Chaves *et al.* (2002), que testando a aplicação de terbufós para controlar nematoides endoparasitas da cana-de-açúcar, verificaram que a ação do nematicida teve um período curto, após o qual os níveis populacionais das parcelas tratadas tenderam a aumentar rapidamente. Isso confirma a eficiência residual do Counter® 150G informada pelo AGROFIT, que dura de 20 a 60 dias (Mapa, 2010). O controle de *Meloidogyne incognita* por terbufós na formulação 50G já foi relatado por (Novaretti *et al.*, 1998), quando aplicados no solo a 60 kg/ha, no entanto, outros trabalhos já relataram ineficiência do terbufós em controlar *Meloidogyne sp.* sistemicamente e nematoides ectoparasitos em cana-de-açúcar (Barros *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2002). Registros da eficiência do terbufós em controlar *M. enterolobii* são escassos e as informações para controle de outras espécies de *Meloidogyne* encontrados na literatura são, em geral, contraditórias e pouco precisas. Os resultados obtidos mostraram que o terbufós não proporcionou um bom controle da meloidoginose da goiabeira, porém foi capaz de reduzir significativamente as médias de galhas por um curto período quando as goiabeiras foram recepadas ou arrancadas. Isso demonstra uma provável melhor eficiência na ação de contato do nematicida, ressaltando a necessidade do emprego de um sistema integrado de medidas para um controle mais eficiente.

Os resultados obtidos para o tratamento com OEM demonstrou a eficiência deste em controlar *M. enterolobii* quando as plantas foram recepadas ou arrancadas e o produto aplicado por irrigação do emulsificado. O OEM testado tem aproximadamente 90% de pureza de isotiocianatos e quando aplicado a 100 ppm promoveu 100% de controle de *Meloidogyne exigua* em condições de laboratório (Aguiar, 2008). Também em condições controladas, a eficiência dos isotiocianatos em controlar nematoide já foi demonstrada por (Yu *et al.*, 2005), com valores de LD₅₀ (dose que provoca 50% de mortalidade) de 17 e 24,1 µg/mL para *M. incognita* e *M. hapla*, respectivamente. Lima, (2006) estudou o efeito nematicida dos produtos biofumigantes da mostarda sobre *M. enterolobii*, comprovando sua eficiência nematicida sobre esta espécie. Entretanto, uma redução de apenas 62% no número de galhas e ovos foi observada após 45 dias do tratamento quando, de acordo com os estudos em laboratório já realizados, esperava-se uma redução próxima de 100%. Esses resultados mostraram que a eficiência dos isotiocianatos pode ser influenciada por diversos fatores em condições de campo. As perdas na aplicação, falhas na vedação com lona, a distribuição heterogênea do produto na área, estruturação do solo, presença de matéria orgânica, microorganismos e raízes hospedeiras, etc., podem ser fatores que determinaram essa menor eficiência. No ensaio 2, quando o produto foi aplicado por meio de tiras de papelão na rizosfera de plantas inteiras, nenhum controle foi verificado. Provavelmente esta diferença entre os resultados dos ensaios se deve a atuação do OEM sobre a interação nematoide-planta hospedeira. Estudos com a aplicação localizada o OEM por meio de bastões de papel embebidos verificaram que os gases podem atingir até 20 cm de profundidade e 30 cm na horizontal com 100% de mortalidade de *M. exigua* (Aguiar, 2008). Isso enfraquece a hipótese de que a forma de aplicação utilizada tenha prejudicado a eficiência de controle do OEM. A aplicação por tiras de papelão embebidas, no entanto, não provocou o mesmo efeito fitotóxico que a aplicação em solução emulsificada para as goiabeiras recepadas, apesar de a mesma dose ter sido utilizada. Uma hipótese para a diferença na fitotoxidez observada é o fato de o caule das goiabeiras recepadas ficarem expostos aos gases da biofumigação e as plantas inteiras terem seus caules protegidos. Com isso, as plantas do ensaio 2 permaneceram vivas e, as fêmeas sedentárias provavelmente ficaram

protegidas dos efeitos deletérios dos isotiocianatos, no interior das raízes. Gimsing *et al.* (2009) estudaram a degradação de alguns isotiocianatos em solos não estéreis e verificaram que sua meia vida é inferior a 5 horas. Com isso, podemos concluir que mesmo que o OEM controlasse os ovos e juvenis de *Meloidogyne* presentes na rizosfera, depois de poucas horas as fêmeas que permaneceram intactas no interior das raízes continuariam seu ciclo de vida, liberando seus ovos para um ambiente com baixos níveis ou nenhum isotiocianato. A verificação do alto nível populacional do nematoide depois de 38 dias da aplicação do OEM, é uma evidência que corrobora essa hipótese.

O tratamento de plantas recepadas e da área de plantas arrancadas com o OEM emulsificado levou a um quadro de fitotoxidez generalizado, com morte das gemas dos caules recepados e das raízes remanescentes das plantas arrancadas. A ausência de um hospedeiro vivo provavelmente deixou os nematoides e seus ovos mais expostos no solo, sofrendo, portanto, ação direta do fumigante. Sendo *Meloidogyne enterolobii* um nematoide polífago, com capacidade de reprodução em diversas espécies de plantas daninhas (Rich *et al.*, 2008), a supressão tanto do rebrotamento das goiabeiras quanto da emergência de plantas daninhas fez com que a população do nematoide prosseguisse diminuindo ao longo do tempo no ensaio 1, devido à ausência de plantas hospedeiras. Essas condições criadas nas áreas tratadas com o OEM são semelhantes ao pousio. Ornat (1999), estudando áreas infestadas com *Meloidogyne*, verificou reduções de 50% em média da população do nematoide depois de 2 meses de pousio.

A aplicação por irrigação da solução emulsificada do OEM apesar de simples, requer muitos cuidados. O produto apresentou volatilização durante a aplicação, com riscos de queimaduras quando os gases atingem a pele do aplicador, ou de intoxicação caso seja inalado. Portanto, é recomendado o uso de EPI durante a aplicação.

Foi observado que o OEM provocou corrosão nas lonas plásticas que cobriam as parcelas, tornando-as frágeis e quebradiças até o sétimo dia de fumigação. A falta de filtro UV nas lonas deixou-as mais vulneráveis às irradiações, contribuindo sobremaneira para sua fragilização. Apesar disso, essa falha na vedação ocorreu depois do tempo de degradação dos

isotiocianatos no solo, portanto não houve perda significativa de isotiocianatos e o controle não foi prejudicado devido a isto.

O fato dos sintomas na parte aérea das goiabeiras do Ensaio 2 tornarem-se mais evidentes na estação seca pode ser explicado pelas alterações morfológicas e fisiológicas provocadas na planta pela infecção causada pelo nematoide do gênero *Meloidogyne*, que diminui consideravelmente a capacidade da planta de absorver água e nutrientes do solo (Bird & Koltai, 2000). A menor disponibilidade de água no solo somada à baixa capacidade de absorção pela planta resultou no aparecimento de sintomas de deficiência nutricional, que não foram perceptíveis nas épocas que não havia restrição na disponibilidade de água.

Conclui-se que o OEM foi eficiente em controlar *M. enterolobii* em condições de campo, em pomar de goiabeiras infectadas, desde que as plantas sejam arrancadas ou recepadas e o solo tratado, ocorrendo a morte das raízes em ambos os casos. Porém, quando a planta hospedeira permanece viva, os gases oriundos do OEM não são capazes de atingir o nematoide no interior das raízes de forma que esses sejam mortos. Novos estudos com maiores dosagens, novas tecnologias de aplicação, com outras espécies de nematoide e plantas hospedeiras precisam ser realizados para um maior entendimento dessa capacidade de controle dos isotiocianatos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, N.D.D.C. Tecnologia de uso da torta e do óleo essencial de mostarda para o controle de *Meloidogyne exigua*. Fitopatologia, Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. UFV/Viçosa, 2008.

ALMEIDA, E.J., SOARES, P.L.M., SANTOS, J.M. & MARTINS, A.B.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no Estado de São Paulo. *Nematologia Brasileira* 30:112-113. 2006.

ALMEIDA, E.J., SOARES, P.L.M., SILVA, A.R. & SANTOS, J.M. Novos Registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e Estudo Morfológico Comparativo com *M. incognita*. *Nematologia Brasileira* 32:236-241. 2008.

ASMUS, G.L., VICENTINI, E.M. & CARNEIRO, R.D.M.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado de Mato Grosso do Sul. *Nematologia Brasileira* 31:112. 2007.

BAINARD, L.D., BROWN, P.D. & UPADHYAYA, M.K. Inhibitory Effect of Tall Hedge Mustard (*Sisymbrium loeselii*) Allochemicals on Rangeland Plants and Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Weed Science* 57:386-393. 2009.

BARROS, A.C.B., MOURA, R.M., PEDROSA, E.M.R., MACEDO, M.E.A. & SILVA, I.P. Efeito da aplicação de Terbufos nas populações de três fitonematoides ectoparasitos em cana-de-açúcar. *Fitopatologia Brasileira* 27:309-311. 2002.

BIRD, D.M. & KOLTAI, H. Plant parasitic nematodes: Habitats, hormones, and horizontally-acquired genes. *Journal of Plant Growth Regulation* 19:183-194. 2000.

BLOK, V.C., WISHART, J., FARGETTE, M., BERTHIER, K. & PHILLIPS, M.S. Mitochondrial DNA differences distinguishing *Meloidogyne mayaguensis* from

the major species of tropical root-knot nematodes. *Nematology* 4:773-781. 2002.

BOYDSTON, R.A. & HANG, A. Rapeseed (*Brassica napus*) green manure crop suppresses weeds in potato (*Solanum tuberosum*). *Weed Technology* 9:669-675. 1995.

BRITO, J., POWERS, T.O., MULLIN, P.G., INSERRA, R.N. & DICKSON, D.W. Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne mayaguensis* isolates from Florida. *Journal of Nematology* 36:232-240. 2004.

BROWN, P.D. & MORRA, M.J. Glucosinolate-containing plant tissues as bioherbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:3070-3074. 1995.

BROWN, P.D. & MORRA, M.J. Hydrolysis products of glucosinolates in *Brassica napus* tissues as inhibitors of seed germination. *Plant and Soil* 181:307-316. 1996.

BROWN, P.D. & MORRA, M.J. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy* 61:167-231. 1997.

BROWN, P.D., MORRA, M.J., MCCAFFREY, J.P., AULD, D.L. & WILLIAMS, L. Allelochemicals Produced during Glucosinolate Degradation in Soil. *Journal of Chemical Ecology* 17:2021-2034. 1991.

BUSKOV, S., SERRA, B., ROSA, E., SORENSEN, H. & SORENSEN, J.C. Effects of intact glucosinolates and products produced from glucosinolates in myrosinase-catalyzed hydrolysis on the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis* cv. Woll). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:690-695. 2002.

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* 34:29-33. 2008.

CARNEIRO, R.D.M.G., CIROTTI, B.A., QUINTANILHA, A., SILVA, D.B. & CARNEIRO, R.G. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. *Fitopatologia Brasileira* 32:281-284. 2007.

CARNEIRO, R.D.M.G., MÔNACO, A.P.A., MORTIZ, M.P., NAKAMURA, K.C. & SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. *Nematologia Brasileira* 30:293-298. 2006.

CARNEIRO, R.D.M.G., MOREIRA, W.A., ALMEIDA, M.R.A. & GOMES, A.C. Primeiro Registro de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira no Brasil. *Nematologia Brasileira* 25:223-228. 2001.

CHARCHAR, J.M., FONSECA, M.E.N., BOITEUX, L.S. & NETO, A.F.L. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira no Estado do Tocantins. *Nematologia Brasileira* 33:182-186. 2008.

CHAVES, A., PEDROSA, E.M.R. & MOURA, R.M. Efeitos da Aplicação de Terbufos Sobre a Densidade Populacional de Nematoides Endoparasitos em Cinco Variedades de Cana-de-Açúcar no Nordeste. *Nematologia Brasileira* 26:167-176. 2002.

CHITWOOD, D.J. Phytochemical Based Strategies for Nematode Control. *Annual Review of Phytopathology* 40:221-249. 2002.

CHUNG, W.C., HUANG, J.W., HUANG, H.C. & JEN, J.F. Effect of ground Brassica seed meal on control of *Rhizoctonia* damping-off of cabbage. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 24:211-218. 2002.

COHEN, M.F., YAMASAKI, H. & MAZZOLA, M. *Brassica napus* seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of *Rhizoctonia* root rot. *Soil Biology & Biochemistry* 37:1215-1227. 2005.

- DAXENBICHLER, M.E., VANETTEN, C.H. & BROWN, F.S. Oxazolidinethiones and Volatile Isothiocyanates in Enzyme-Treated Seed Meals from 65 Species of Cruciferae. *Agricultural and Food Chemistry* 12:127-130. 1964.
- DHINGRA, O.D., COSTA, M.L.N., SILVA, G.J. & MIZUBUTI, E.S.G. Essential Oil of Mustard to Control *Rhizoctonia solani* Causing Seedling Damping off and Seedling Blight in Nursery. *Fitopatologia Brasileira* 29:683-686. 2004.
- DONKIN, S.G., EITEMAN, M.A. & WILLIAMS, P.L. Toxicity of Glucosinolates and Their Enzymatic Decomposition Products to *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Nematology* 27:258-262. 1995.
- DUNIWAY, J.M. Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. *Phytopathology* 92:1337-1343. 2002.
- ELLENBY, C. Control of the Potato-Root Eelworm, *Heterodera rostochiensis* Wollenweber, by Allyl Isothiocyanate, the Mustard Oil of *Brassica nigra* L. *Annals of Applied Biology* 32:237-239. 1945.
- ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. Use of Enzyme Phenotypes for Identification of Meloidogyne Species. *Journal of Nematology* 17:6-20. 1985.
- FAHEY, J.W., ZALCMANN, A.T. & TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56:5-51. 2001.
- FRANCISCO, V. L. F. A cultura da Goiaba em São Paulo. Disponível em <www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1902> Acesso em 18 de dezembro de 2009. 2005.
- GARCÍA ÁLVAREZ, A., DÍEZ-ROJO, M.A., LÓPEZ-PÉREZ, J.A. & BELLO, A. Materia orgánica, biofumigación y manejo de organismos del suelo patógenos de vegetales. pp.71-76 In: Conocimientos, técnicas y productos para la agricultura y la ganadería ecológica. Valencia: SEAE. 2004.

GAUGLER, R. & BILGRAMI, A. Nematode Behaviour. New Jersey: CABI Publishing. 419p. 2004.

GIMSING, A.L., STROBEL, B.W. & HANSEN, H.C.B. Degradation and Sorption of 2-Propenyl and Benzyl Isothiocyanate in Soil. Environmental Toxicology and Chemistry 28:1178-1184. 2009.

GOMES, A.R., FAUSTINO, J.F., WILCKEN, S.R.S., CARNEIRO, R.D.M.G., AMBRÓSIO, M.M.Q. & SOUZA, N.L. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* L. no Estado da Paraíba. Fitopatologia Brasileira 32:273. 2007.

GOMES, C.B., COUTO, M.E.O. & CARNEIRO, R.D.M.G. Registro de Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira e Fumo no Sul do Brasil. Nematologia Brasileira 32:244-247. 2008a.

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 32:154-160. 2008b.

GOULART, R.R. Biofumigação com Brassica rapa para o controle de *Meloidogyne exigua* em diferentes texturas e umidades do solo. Fitopatologia, Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. UFV/Viçosa, 2007.

GUIMARÃES, L.M., MOURA, R.M. & PEDROSA, E.M.R. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em Diferentes Espécies Botânicas. Nematologia Brasileira 27:139-145. 2003.

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

HARAMOTO, E.R. & GALLANDT, E.R. Brassica cover cropping for weed management: A review. Renewable Agriculture and Food Systems 19:187-198. 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Censo Agropecuário e Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em 13 de junho de 2010. 2010.

JENKINS, W.R. A Rapid Centrifugal-Flotation Technique for Separating Nematodes from Soil. *Plant Disease Reporter* 48:692. 1964.

JOHNSON, A.W., GOLDEN, A.M., AULD, D.L. & SUMNER, D.R. Effects of Rapeseed and Vetch as Green Manure Crops and Fallow on Nematodes and Soil-borne Pathogens. *Journal of Nematology* 24:117-126. 1992.

KRUIDHOF, H.M., BASTIAANS, L. & KROPFF, M.J. Cover crop residue management for optimizing weed control. *Plant and Soil* 318:169-184. 2009.

LAZZERI, L., CURTO, G., LEONI, O. & DALLAVALLE, E. Effects of glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products via myrosinase on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:6703-6707. 2004.

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

LIMA, A.O. Uso da Mostarda (*Brassica rapa*) como biofumigante de solo no controle de *Meloidogyne incognita*. *Fitopatologia*, Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. UFV/Viçosa, 2006.

LIMA, I.M., COSTA, H., MARTINS, M.V.V., COSTA, A., SANTANA, D.B., VENTURA, J.A., OLIVEIRA, E.B., SANTANA, E. & SERRANO, L.A.L. NOVOS FOCOS DE *Meloidogyne mayaguensis* EM GOIABEIRAS NO ESTADO DO ESPIRITO SANTO. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura 2008.

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

hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. *Nematologia Brasileira* 27:257-258. 2003.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Agrofit. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 13 de junho de 2010. 2010.

MATTNER, S.W., PORTER, I.J., GOUNDER, R.K., SHANKS, A.L., WREN, D.J. & ALLEN, D. Factors that impact on the ability of biofumigants to suppress fungal pathogens and weeds of strawberry. *Crop Protection* 27:1165-1173. 2008.

MILNE, D.D. & PLESSIS, D. Development of *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood on tobacco under fluctuating soil temperature. *South African Jour. Agric. Sci.* 7:673-680. 1964.

MORGAN, D.O. Investigations on eelworm in potatoes in South Lincolnshire. *J. Helminthology* 3:92-185. 1925.

MOURA, R.M. & MOURA, A.M. Meloidogynose da Goiabeira: Doença de alta severidade no estado de Pernambuco, Brasil. *Nematologia Brasileira* 13:13-19. 1989.

NETSCHER, C. & SIKORA, A.R. Nematode Parasites of Vegetables. pp.237-283 In: LUC, M., SIKORA, R.A. & BRIDGE, J. (Eds.) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. C.A.B International. 1990.

NEVES, W.S., FREITAS, L.G., GIARETTA-DALLEMOLE, R.D., FABRY, C.F.S., COUTINHO, M.M., DHINGRA, O.D., FERRAZ, S. & DEMUNER, A.J. Atividade de Extratos de Alho (*Allium sativum*), Mostarda (*Brassica campestris*), e Pimenta Malagueta (*Capsicum frutescens*) Sobre a Eclosão de Juvenis de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 29:273-278. 2005.

NOVARETTI, W.R.T., MONTEIRO, A.R. & FERRAZ, L.C.C.B. Controle Químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em Cana-de-açúcar com Carbofuran e Terbufos. *Nematologia Brasileira* 22:60-74. 1998.

OLIVEIRA, R.D.D.L., SILVA, M.B., AGUIAR, N.D.D.C., BERGAMO, F.L.K., COSTA, A.S.V. & PREZOTTI, L. Nematofauna Associada à Cultura do Quiabo na Região Leste de Minas Gerais. *Horticultura Brasileira* 25:88-93. 2007.

ORNAT, C., VERDEJO-LUCAS, S., SORRIBAS, F.J. & TZORTZAKAKIS, E.A. Effect of Fallow And Root Destruction On Survival of Root-Knot and Root-Lesion Nematodes in Intensive Vegetable, Cropping Systems. *Nematropica* 29:5-16. 1999.

PEREIRA, F.O.M., SOUZA, R.M., SOUZA, P.M., DOLINSKI, C. & SANTOS, G.K. Estimativa do Impacto Econômico e Social Direto de *Meloidogyne mayaguensis* na Cultura da Goiaba no Brasil. *Nematologia Brasileira* 33:176-181. 2009.

PEREIRA, T.A., ALVES, J.D., ABRAHÃO, S.A., ABRAHÃO, J.E., FRIES, D.D., LIVRAMENTO, D.E. & DEUNER, S. Carboidratos, redutase do nitrato e restabelecimento de mudas "passadas" de cafeeiros após a poda em diferentes alturas. *Revista Ceres* 55:236-242. 2008.

PERRY, R.N., MOENS, M. & STARR, J.L. Root-knot Nematodes. CABI. 488p. 2009.

PLOEG, A.T. Greenhouse Studies on the Effect of Marigolds (*Tagetes* spp.) on Four *Meloidogyne* Species. *Journal of Nematology* 31:62-69. 1999.

POTTER, J., VANSTONE, V.A., DAVIES, K., KIRKEGAARD, J. & RATHJEN, A.J. Reduced susceptibility of *Brassica napus* to *Pratylenchus neglectus* in plants with elevated root levels of 2-phenylethyl glucosinolate. *Journal of Nematology* 31:291-298. 1999.

POTTER, M.J., DAVIES, K. & RATHJEN, A.J. Suppressive impact of glucosinolates in *Brassica* vegetative tissues on root lesion nematode *Pratylenchus neglectus*. *Journal of Chemical Ecology* 24:67-80. 1998.

POTTER, M.J., VANSTONE, V.A., DAVIES, K.A. & RATHJEN, A.J. Breeding to increase the concentration of 2-phenylethyl glucosinolate in the roots of *Brassica napus*. *Journal of Chemical Ecology* 26:1811-1820. 2000.

RAMMAH, A. & HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne-Mayaguensis* N-Sp (Meloidogynidae), a Root-Knot Nematode from Puerto-Rico. *Journal of Nematology* 20:58-69. 1988.

RIBEIRO, M., CASTRO, J. M. C. Pesquisadores debatem produção de mudas de goiabeiras livres de nematoides. 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 de dezembro de 2009. 2007.

RICH, J.R., BRITO, J.A., KAUR, R. & FERRELL, J.A. Weed Species as Hosts of *Meloidogyne*: A Review. *Nematropica* 39:157-185. 2008.

RITZINGERI, C.H.S.P. & FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal* 28:331. 2006.

SANTANA, D.P. A Agricultura e o Desafio do Desenvolvimento Sustentável. Comunicado Técnico, Embrapa Sete Lagoas 132:22. 2005.

SASSER, J.N. & FRECKMAN, D.W. A world perspective Nematology: the role of the society. pp.7-14 In: VEECH, J.A. & DICKSON, D.W. (Eds.) *Vistas on Nematology. A Commemoration of the Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists*. 1987.

SCHURT, D.A. Potencial do isotiocianato de alilo no controle de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fitopatologia, Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. UFV/Viçosa*, 2006.

SILVA, G.S., PEREIRA, A.L., ARAÚJO, J.R.G. & CARNEIRO, R.D.M.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Estado do Maranhão. *Nematologia Brasileira* 32:242-243. 2008.

SILVA, G.S., SOBRINHO, C.A., PEREIRA, A.L. & SANTOS, J.M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Piauí. *Nematologia Brasileira* 30:307-309. 2006.

SIQUEIRA, K.M.S., FREITAS, V.M., ALMEIDA, M.R.A., SANTOS, M.F.A., CARES, J.A., TIGANO, M.S. & CARNEIRO, R.D.M.G. Detecção de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e mamoeiro no Estado de Goiás, usando marcadores moleculares. *Tropical Plant Pathology* 34:256-260. 2009.

SLUSARENKO, A.J., PATEL, A. & PORTZ, D. Control of Plant Diseases by Natural products: Allicin from garlic as a Case Study. *European Journal of Pathology* 121:313-322. 2008.

SOUZA, R.M., NOGUEIRA, M.S., LIMA, I.M., MELARATO, M. & DOLINSKI, C. Manejo do Nematóide das Galhas da Goiabeira em São João da Barra (RJ) e Relato de Novos Hospedeiros. *Nematologia Brasileira* 30:165-169. 2006.

TORRES, G.R.C., COVELLO, V.N., SALES JÚNIOR, R., PEDROSA, E.M.R. & MOURA, R.M. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira* 29:570. 2004.

TORRES, G.R.C., SALES JÚNIOR, R., NERIVÂNIA, V., REHN, C., PEDROSA, E.M.R. & MOURA, R.M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira no Estado do Ceará. *Nematologia Brasileira* 29:105-107. 2005.

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

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* 110:309-315. 2004.

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

YU, Q., TYAN, R., CHIBA, M. & POTTER, J. Selective nematicidal activity of allyl isothiocyanate. *Journal of Food Agriculture & Environment* 85:218-221. 2005.

ZASADA, I.A. & FERRIS, H. Sensitivity of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans* to isothiocyanates in laboratory assays. *Phytopathology* 93:747-750. 2003.

ZASADA, I.A., MEYER, S.L.F. & MORRA, M.J. Brassicaceous Seed Meals as Soil Amendments to Suppress the Plant-parasitic Nematodes *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 41:221-227. 2009.

APÊNDICE

DIAGNOSE DE *M. enterolobii*

Na impossibilidade de fazer o diagnóstico diretamente das raízes vindas do campo, os ovos do nematoide foram extraídos conforme Boneti & Ferraz (1981) e inoculados em mudas de tomateiros Santa Cruz 'kada' para multiplicação por cerca de 60 dias. Para o diagnóstico, fêmeas foram extraídas das raízes dos tomateiros para estudo do fenótipo enzimático de esterase. Seguiu-se a metodologia de Ornstein (1964) e Davis (1964) para a corrida, mas a revelação da esterase baseou-se em Alfenas et al. (1991). Os resultados revelaram um perfil isoenzimático VS1-S1, típico de *Meloidogyne enterolobii* (Xu, J., et al., 2004).

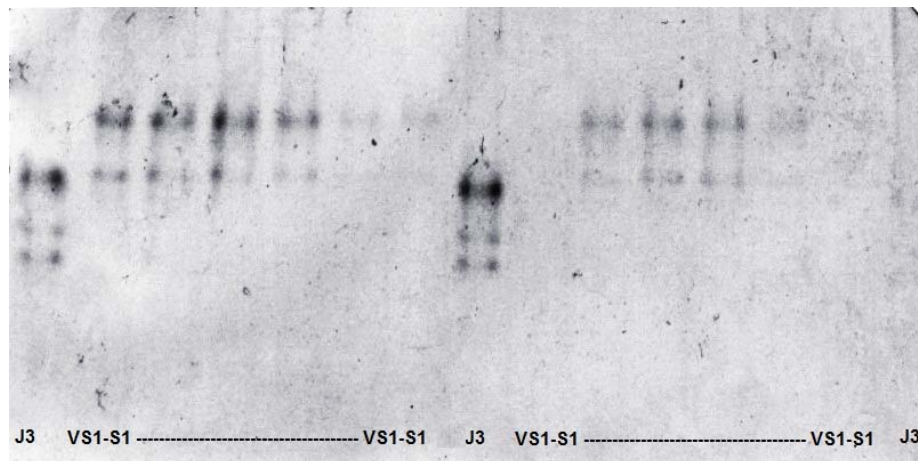


Figura 1 - Fenótipo de esterase de *Meloidogyne enterolobii* (VS1-S1) e *M. javanica* (J3), utilizada como referência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C., PETERS, L., BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: 242p. 1991.

BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6:553. 1981.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. Annals of the New York Academy of Sciences 121:404-427. 1964.

ORNSTEIN, L. Disc electrophoreses. I. Background and Theory. Annals of the New York Academy of Sciences 121:321-349. 1964.

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 110:309-315. 2004.