

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

EFEITO DE TERPENOS PURIFICADOS DE *Euphorbia* sp.
SOBRE *Meloidogyne javanica*

Autor: João Pedro Elias Gondim
Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva
Coorientadora: Dr^a. Dalila Sêni Buonicontro

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

EFEITO DE TERPENOS PURIFICADOS DE *Euphorbia* sp.
SOBRE *Meloidogyne javanica*

Autor: João Pedro Elias Gondim
Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva
Coorientadora: Dr^a. Dalila Sêni Buonicontro

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, ao Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos - Área de Concentração Olericultura.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

G637e Gondim, João Pedro Elias.

Efeito de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre *Meloidogyne javanica*. / João Pedro Elias Gondim. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2019.
65 f. : il. color.

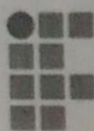
Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

Coorientadora: Dra. Dalila Sêni Buonicontro.

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos,
Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2019.

1. Pragas agrícolas - Controle biológico. 2. *Meloidogyne javanica*. 3.
Agricultura orgânica. I. Silva, Rodrigo Vieira da. II. Buonicontro, Dalila
Sêni. III. Instituto Federal Goiano. IV. Título.

CDU 632.93



INSTITUTO FEDERAL
Goiano

Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF Goiano
Sistema Integrado de Bibliotecas

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☒ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☐ TCC - Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional | - Tipo: |

Nome Completo do Autor: João Pedro Elias Gondim

Matrícula: 201701043304I0100

Título do Trabalho: Efeito de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre *Meloidogyne javanica*

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: ☐ Não ☒ Sim, justifique: Documento sujeito a registro de patente pelo autor, devendo-se restringir o acesso público por determinado período.

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 01/06/2020

O documento está sujeito a registro de patente? ☒ Sim ☐ Não

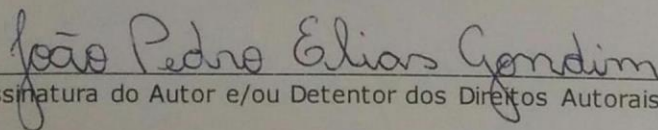
O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☒ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

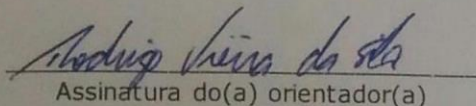
O/A referido/a autor/a declara que:

1. o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
2. obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
3. cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Morrinhos-GO, 31/05/2019.


Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)

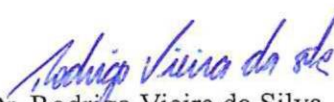
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

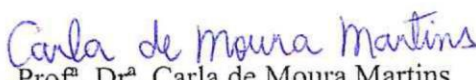
EFEITO DE TERPENOS PURIFICADOS DE *Euphorbia* sp.
SOBRE *Meloidogyne javanica*

Autor: João Pedro Elias Gondim
Orientador: Rodrigo Vieira da Silva

TITULAÇÃO: Mestre em Olericultura-Área de Concentração em Manejo
Fitossanitário em Olerícolas.

APROVADO em 26 de fevereiro de 2019.


Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva
Presidente da Banca


Profª. Drª. Carla de Moura Martins
Avaliadora Externa
Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos


Profª. Drª. Dalila Sêni Buonicontro
Avaliadora Externa
Universidade Federal de Viçosa

AGRADECIMENTOS

A Deus, soberano sobre tudo e todos, autor da minha fé, pela sua boa, perfeita e agradável vontade sobre a minha vida, por me dar saúde, força e determinação para superar as dificuldades encontradas do dia a dia.

Aos meus pais, João Elias Alves e Alessandra de Oliveira Gondim Elias Alves, pelo amor, incentivo e apoio incondicional, sempre orientando meus passos para o futuro, acreditando no meu potencial, confiando e se orgulhando de minhas conquistas.

À minha irmã Larissa Elias Gondim, que sempre esteve ao meu lado, acompanhando-me em cada etapa alcançada da vida acadêmica.

À minha avó Gercina Elias de Souza, por ser uma segunda mãe para mim, pelo amor, incentivo e exemplo de força e saúde com quase um século de vida.

À minha namorada Amanda Marcussi Costa, pelo amor, carinho, cuidado e incentivo, por ser compreensiva e paciente durante toda esta etapa da minha vida acadêmica.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, seu corpo docente, direção e administração, pela oportunidade de conclusão de um curso de pós-graduação de qualidade.

A toda a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Olericultura, em nome da Prof^a. Dr^a. Clarice Aparecida Megguer, sempre disposta a atender as solicitações.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (Fapeg), pela concessão da bolsa de formação de mestrado, fundamental para a realização desta pesquisa.

Aos amigos do mestrado, Ana Carolina de Lima Ribeiro, José Feliciano Bernardes Neto, Luam Santos, Murilo Alberto dos Santos e Rhayf Eduardo Rodrigues, pela amizade, convivência e pelos bons e maus momentos compartilhados.

À equipe do Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, pela amizade e convivência, em especial aos amigos de longa data

de pesquisa em Fitonematologia, Caio Felipe Moreira Cruz, Edcarlos Silva Alves, Fabrício Rodrigues Peixoto e Juliano Henrique de Sousa Alves Carvalho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela mobilidade acadêmica concedida.

À equipe do Laboratório de Nematologia Vegetal, coordenado pela Profª. Drª. Dalila Sêni Buonicontro, pela oportunidade de aprendizado de novos conhecimentos, pelas novas amizades feitas, em especial aos amigos da graduação e pós-graduação, que apoiaram e auxiliaram na condução desta pesquisa, Andressa Rodrigues Fonseca, Jean Faria Martiniano, Samara Medeiros do Rosário e Rafael Oliveira Rosa, além do técnico responsável pelo laboratório, Oswaldo Rodrigues Milagres Júnior, pelo bom e velho cafezinho de todos os dias.

Ao Prof. Dr. Eduardo Vinícius Vieira Varejão e ao doutorando Ueveton Pimentel da Silva, do Laboratório de Síntese de Agroquímicos, do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, pela identificação e purificação dos compostos utilizados nesta pesquisa, além da doutoranda Anni Cristini Silvestri Gomes, pelo auxílio na condução dos ensaios experimentais.

Ao Laboratório de Micologia e Etiologia de Doenças Fúngicas de Plantas, do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, coordenado pelo Prof. Dr. Olinto Liparini Pereira, e a toda a sua equipe, pela concessão e uso do microscópio de luz invertido, necessário para auxílio nas avaliações desta pesquisa.

À minha coorientadora, Profª. Drª. Dalila Sêni Buonicontro, pela oportunidade de desenvolvimento do projeto de pesquisa durante meu aprendizado e estadia em seu laboratório, pela amizade, confiança, paciência, presença constante e por todo conhecimento transmitido, necessário para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva, pelo acolhimento, ensino e paixão pela fitonematologia, pela amizade sincera e confiança, que, com sabedoria, soube dirigir meus passos e pensamentos para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

João Pedro Elias Gondim, filho de João Elias Alves e Alessandra de Oliveira Gondim Elias Alves, nascido em 08 de janeiro de 1994, em Piracanjuba, Goiás, Brasil.

Em janeiro de 2012, ingressou no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, no Curso de Bacharelado em Agronomia, com colação de grau em agosto de 2016. Ainda, em janeiro de 2016, ingressou no Serviço Nacional de Aprendizagem Rural - Senar-GO, no Curso de Técnico em Agronegócio, com colação de grau em maio de 2018.

Em março de 2017, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Olericultura em nível de Mestrado, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, sob a orientação do Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva e coorientação da Prof^a. Dr^a. Dalila Sêni Buonicontro, no Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, por meio do Programa de Mobilidade Acadêmica, com período sanduíche de oito meses.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
RESUMO	XI
ABSTRACT.....	XIII
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Panorama da olericultura	2
2.2 Nematoides e sua importância para a agricultura	3
2.3 Nematoides-de-galhas-radiculares – <i>Meloidogyne</i> spp.....	5
2.4 Principais estratégias de controle de fitonematoides em hortaliças	7
2.4.1 Prevenção	7
2.4.2 Eliminação de restos culturais	7
2.4.3 Solarização e biofumigação	8
2.4.4 Uso de plantas antagonistas.....	8
2.4.5 Rotação de culturas	9
2.4.6 Suplementação do solo com matéria orgânica	9
2.4.7 Resistência genética	10
2.4.8 Controle biológico.....	11
2.4.9 Controle químico.....	11
2.5 Compostos botânicos ativos no controle de fitonematoides	12

2.5.1 <i>Mucuna</i> spp.	12
2.5.2 <i>Tagetes</i> spp.	13
2.5.3 <i>Crotalaria</i> spp.	13
2.5.4 <i>Azadirachta indica</i> e <i>Ricinus communis</i>	13
2.5.5 Brássicas e gramíneas.....	14
2.5.6 Medicinais e aromáticas	15
2.5.7 <i>Euphorbia</i> spp.	16
2.6 Referências bibliográficas	17
3. CAPÍTULO I.....	27
Resumo.....	27
Abstract	28
3.1 Introdução	29
3.2 Material e Métodos	31
3.2.1 Obtenção e multiplicação do inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i>	31
3.2.2 Obtenção dos compostos de <i>Euphorbia</i> sp.	33
3.2.3 Efeito dos compostos sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>in vitro</i>	34
3.2.4 Ensaio <i>in vitro</i> sobre a inibição da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i>	36
3.2.5 Análise estatística	37
3.3 Resultados e discussão	37
3.3.1 Atividade dos compostos na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i>	37
3.3.2 Atividade dos compostos na inibição da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i>	44
3.4 Conclusão.....	47
3.5 Referências bibliográficas.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos avaliados nos testes de mortalidade e de eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>in vitro</i>	36
Tabela 2. Dados da <i>Linear Response Plateau</i> para determinação das concentrações letais (CL ₅₀ e CL ₉₅) a juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> , após 24 horas de incubação	41
Tabela 3. Concentrações letais (CL ₅₀ , CL ₉₅) dos terpenos purificados de <i>Euphorbia</i> sp. a juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> , após incubação por 24 horas	41
Tabela 4. Número cumulativo de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> eclodidos em ensaios <i>in vitro</i> utilizando terpenos purificados de <i>Euphorbia</i> sp., em avaliações cumulativas até o 11º dia de incubação	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Inoculação de mudas de tomateiros cv. Santa Clara com 2000 juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> por planta.....	32
Figura 2. Montagem dos testes nematicidas em placas de 96 poços do tipo Elisa, utilizando câmara de fluxo laminar vertical.....	35
Figura 3. Atividade de terpenos purificados de <i>Euphorbia</i> sp. na mortalidade <i>in vitro</i> de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> em avaliações após 24, 48 e 72 horas após a incubação.....	38
Figura 4. Análise de regressão da <i>Linear Response Plateau</i> para determinação das concentrações letais (CL ₅₀ e CL ₉₅) a juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> , após 24 horas de incubação	40
Figura 5. Estrutura do corpo dos juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> tratados, após 24 horas de incubação	42
Figura 6. Alterações internas e formações de grânulos no corpo de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne javanica</i> quando tratados com os terpenos purificados de <i>Euphorbia</i> sp.	43
Figura 7. Tratamento de <i>Meloidogyne javanica</i> com 7,55 µg mL ⁻¹ de acetato de taraxasterol (C4).....	46

RESUMO

GONDIM, JOÃO PEDRO ELIAS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, fevereiro de 2019. **Efeito de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre *Meloidogyne javanica*.** Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva. Coorientadora: Dr^a. Dalila Sêni Buonicontro.

Os fitonematoides causam grandes prejuízos à agricultura mundial, com destaque para o gênero *Meloidogyne*, conhecido como nematoides-de-galhas-radiculares, considerado o mais importante do mundo. A busca por práticas sustentáveis de manejo tem se intensificado pela crescente preocupação da sociedade por medidas que conservem o meio ambiente e tragam segurança alimentar. Uma medida de controle promissora é a utilização de nematicidas botânicos. Desse modo, objetivou-se avaliar a atividade nematicida de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre *Meloidogyne javanica*. Os ensaios consistiram em avaliar os efeitos *in vitro* desses compostos sobre a mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*. Para avaliar o efeito sobre a mortalidade, os testes foram divididos em duas etapas. Inicialmente, os J2 foram tratados com os diferentes compostos na concentração inicial de 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e a porcentagem de J2 mortos foi quantificada após 24, 48 e 72 h de incubação. Após, a concentração inicial de cada composto foi diluída e analisadas as concentrações 1,75; 3,5; 6,5; 12,5 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Essas diferentes concentrações foram avaliadas sobre J2 de *M. javanica* a fim de ajustar um modelo de regressão para determinar as concentrações letais que matassem 50 % (CL₅₀) e 95 % (CL₉₅) da população em 24 h. Já para os testes de eclosão, os ovos de *M. javanica* foram tratados com a CL₉₅ de cada composto. Foi quantificado o número de J2 eclodidos diariamente por onze dias. Os tratamentos controle utilizados foram água destilada e solução aquosa de tween 5 % (controles

negativos) e 17,5 mg mL⁻¹ de carbofuran (controle positivo). Foram utilizadas placas de fundo chato de 96 poços, cada poço representando uma unidade experimental. Nos dois ensaios, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. No teste de mortalidade, todos os compostos apresentaram atividade nematicida com mais de 95 % de mortalidade após 24 h de incubação. Todos os compostos tiveram efeito na supressão da eclosão de J2, com taxas de redução de 70,1 a 96,1 % em comparação ao controle tween 5 %. Assim, conclui-se que os terpenos de *Euphorbia* sp. têm ação tóxica sobre *M. javanica*, apresentando potencial de seu uso para controle deste nematoide.

PALAVRAS-CHAVE: controle, nematicidas botânicos, nematoides-de-galhas-radiculares.

ABSTRACT

GONDIM, JOÃO PEDRO ELIAS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (Goiano Federal Institute of Education, Science, and Technology), Morrinhos Campus. February 2019. **Purified terpenes effect from *Euphorbia* sp. against *Meloidogyne javanica*.** Advisor: Dr. Silva, Rodrigo Vieira da. Co-advisor: Dr^a. Buonicontro, Dalila Sêni.

Plant-parasitic nematodes cause great damage to world agriculture, especially *Meloidogyne* genus, known as root-knot nematodes, considered the most important in the world. The management sustainable practices search has intensified due to growing concern by society for measures that preserve the environment and bring food secure. Using botanical nematicides is a control promising measure. Thus, this study aimed to evaluate the nematocidal activity of terpenes purified from *Euphorbia* sp. against *Meloidogyne javanica*. The experiments consisted of evaluating effects of these compounds on mortality and hatch of second-stage juveniles (J2) of *M. javanica* *in vitro*. The tests were separated in two stages to evaluate the effect on mortality. Initially, the J2 were treated with the different compounds in the initial concentration of 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, and the percentage of dead J2 was accounted for after 24, 48, and 72 h of incubation. Then, the initial concentration of each compound was diluted and the following 1.75, 3.5, 6.5, 12.5, and 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ concentrations were analyzed. These different concentrations were evaluated on J2 of *M. javanica* to align a regression model to define the lethal concentrations that killed 50 % (LC_{50}) and 95 % (LC_{95}) of the populations in 24 h. For hatch tests, *M. javanica* eggs were treated with the LC_{95} of each compound. The number of J2 hatched was daily accounted for eleven days. The control treatments used were distilled water and aqueous solution of tween 5 % (negative

controls), and 17.5 mg mL⁻¹ of carbofuran (positive control). Flat bottom plates from 96 wells were used, and each well represented an experimental unit. A completely randomized design with five replicates was used in both experiments. All compounds showed nematicidal activity in the mortality test with more than 95 % mortality after 24 h of incubation. All compounds had an effect on J2 hatching suppression, with reduction rates of 70.1 to 96.1 % as compared to the 5 % tween control. Therefore, it is concluded that the *Euphorbia* sp. terpenes have a toxic action on *M. javanica*, showing potential of its use for nematode control.

KEYWORDS: botanical nematicides, control, root-knot nematodes.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A olericultura constitui um dos pilares do agronegócio do país, com produção, predominantemente, pelo sistema convencional, mas com crescimento para os cultivos protegidos e orgânicos. As hortaliças constituem um grupo diversificado de plantas que podem ser cultivadas de forma temporária. A produção está concentrada em pequenas propriedades de âmbito familiar e permite a obtenção de altos rendimentos por hectare cultivado em relação a outras culturas. Todavia, a olericultura caracteriza-se pelos altos riscos enfrentados, principalmente em função de problemas fitossanitários, potencializados pela maior sensibilidade das hortaliças às condições climáticas adversas (CNA, 2017; MELLO & VILELA, 2007).

Assim, entre os principais problemas envolvendo a sanidade das hortaliças, podem ser citados os de natureza biótica, capazes de desencadear diversas doenças. Um dos grupos de patógenos mais danosos a esse grupo de plantas são os fitonematoides, que causam danos e prejuízos às hortaliças, afetando sua qualidade e sua produtividade (ROSA et al., 2013).

Medidas de controle podem ser adotadas para diminuir a população de fitonematoides na área de cultivo, a exemplo do uso de variedades resistentes, da rotação de culturas, do cultivo de plantas antagonistas, do controle biológico e químico. Entretanto, a associação de várias medidas é crucial para o sucesso no manejo sustentável de fitonematoides. Um crescente esforço da comunidade científica tem sido empreendido na busca por novas alternativas de controle que, possam atender as demandas dos diversos setores agrícolas e os anseios da sociedade por uma agricultura sustentável. Nessa linha, tem-se a prospecção de nematicidas botânicos, por serem menos restritos às culturas e, em teoria, apresentar menor toxicidade, com custo acessível ao agricultor (FERRAZ & BROWN, 2016; SALGADO & BORGES, 2008).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Panorama da olericultura

A olericultura brasileira tem destaque por contemplar inúmeras espécies de plantas, atendendo praticamente a todos os nichos do mercado consumidor. As hortaliças são os produtos que mais geram lucratividade por unidade de área cultivada em comparação com grandes culturas agrícolas como soja, milho, cana-de-açúcar e café. Sua produção ocupa uma área de, aproximadamente, dois milhões de hectares, com destaque para a mandioca, que, sozinha, ocupa um milhão e trezentos mil hectares desse total. O volume de produção ultrapassa 40 milhões de toneladas e, se considerarmos em nível de propriedade rural, atacado e varejo, a olericultura movimentou mais de 50 bilhões de reais e emprega cerca de 10 milhões de pessoas de forma direta. O sistema de cultivo de hortaliças divide-se em campo aberto e ambiente protegido, utilizando o formato convencional, hidropônico ou orgânico, com predominância em pequenas propriedades rurais de âmbito familiar (CARVALHO et al., 2016; IBGE, 2017).

No Estado de Goiás, a olericultura é um importante setor para o agronegócio goiano e brasileiro. Em 2017, as hortaliças ficaram em primeiro lugar em quantidade de oferta de produtos na Ceasa-GO (Centrais de Abastecimento de Goiás S/A), totalizando 516,4 mil toneladas, 54,7 % da oferta total. Apenas as hortaliças movimentaram 850 milhões de reais, 40,7 % do montante de capital movimentado. O tomate foi o produto mais comercializado, com 106,8 mil toneladas, 11,4 % da oferta total, com giro financeiro de 199 milhões de reais. A batata ocupou o segundo lugar, com 104,4 mil toneladas, 11,1 % do total ofertado, e movimentação de 126,6 milhões de reais. Goiás teve uma participação no grupo das hortaliças de 356,8 mil toneladas, ou seja, 69,4 % do ofertado veio do próprio Estado (CEASA-GO, 2017).

Os principais fatores que ocasionam redução na produção das hortaliças estão relacionados com questões climáticas (cultivo a campo), tratos culturais, pós-colheita e de natureza fitossanitária. Este último fator merece atenção especial, pois pode causar danos e prejuízos irreparáveis, a depender da espécie cultivada e da praga/patógeno presente na área de produção. Assim, merecem destaque os prejuízos causados pelos fitonematoides, que reduzem o desenvolvimento da planta e causam queda na produtividade, qualidade e no aspecto visual em algumas hortaliças. Os fitonematoides podem ainda inviabilizar o cultivo, em alguns casos, levando ao abandono da atividade em razão da alta infestação da área de plantio (PINHEIRO, 2017).

2.2 Nematoides e sua importância para a agricultura

Os nematoides são animais invertebrados de corpo mole, com formato cilíndrico e coloração quase transparente, que se alimentam por sucção, movem-se como serpentes e, de modo geral, escapam à nossa percepção pelo seu tamanho microscópico. A palavra nematoide tem origem no idioma grego e significa “verme em forma de fio”, isso porque, em pelo menos uma fase da vida, todos os nematoides têm o corpo fino e alongado, em forma de linha. Pertencem ao filo Nematoda e são encontrados nos mais diversos ambientes naturais, desde que haja umidade e carbono orgânico para sua sobrevivência (CARES, 2013).

Em função de hábitos alimentares, os nematoides podem ser divididos em três grupos: de vida livre, parasitas de animais ou zooparasitas e os parasitas de plantas ou fitoparasitas, ou ainda fitonematoides. Os nematoides de vida livre medem de 0,2 a 1,5 mm, com algumas espécies podendo atingir até 3,0 mm, alimentam-se apenas de organismos microscópicos como algas, bactérias, fungos e outros animais invertebrados, inclusive nematoides. Os zooparasitas medem de milímetros a metros e utilizam animais vertebrados e invertebrados como hospedeiros, estabelecendo-se, de forma definitiva ou temporária, em órgãos de seus sistemas. Por fim, os nematoides parasitas de plantas somam 15 % das espécies descritas (4100) dentro do filo Nematoda. Estes medem, em média, de 0,2 a 3,0 mm de comprimento, e seu alvo preferencial de parasitismo são as raízes das plantas. Contudo, podem também atacar bulbos, tubérculos, rizomas, caule, folhas, flores, frutos e sementes (FERRAZ & BROWN, 2016).

O reconhecimento da importância do papel dos fitonematoides como fator limitante à produção agrícola teve início no último século, a partir das décadas de 1930 e 1940, em razão, principalmente, da expansão das áreas de cultivo e do aumento da demanda por alimentos, impulsionados após a Segunda Guerra Mundial (LOPES & FERRAZ, 2016). Desde então, os fitonematoides vêm causando perdas nas principais culturas de importância econômica ou de subsistência em todos os continentes. Em nível mundial, uma das poucas estimativas de perdas disponíveis foi publicada no final da década de 1980. Considerando os valores da época e projeções monetárias mais recentes, os prejuízos anuais são de US\$ 78 - 125 bilhões, com perdas estimadas em 12,3 % da produção agrícola em todo o mundo (McCARTER, 2009; RAVICHANDRA, 2014; SASSER & FRECKMAN, 1987).

Recentemente, foi feito um levantamento mundial com a participação de 225 nematologistas, relacionando os 10 fitonematoides mais importantes para a agricultura, resultando, em ordem decrescente: *Meloidogyne* - *Heterodera* e *Globodera* - *Pratylenchus* - *Radopholus similis* - *Ditylenchus dipsaci* - *Bursaphelenchus xylophilus* - *Rotylenchulus reniformis* - *Xiphinema index* - *Nacobbus aberrans* - *Aphelenchoides besseyi* (JONES et al., 2013).

Apesar de raros os trabalhos estimando as perdas causadas pelos fitonematoides na agricultura brasileira, Machado (2014) ressalta os vários problemas nematológicos vivenciados no Brasil, relacionando-os ao sistema agrícola amplamente adotado no país, com intenso uso da terra e uma sucessão de culturas suscetíveis aos nematoides. Frequentemente, surgem espécies emergentes, associadas a altas perdas, que podem chegar a dados alarmantes de R\$ 35 bilhões de reais por ano, por não se dar a devida importância a estes patógenos (MACHADO, 2015). Em 2016, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio de portaria no Diário Oficial da União, listou algumas espécies de pragas entre as principais ameaças fitossanitárias à agricultura brasileira, com priorização dos processos de registros de produtos para controle, estando incluídas as espécies de fitonematoides *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, *Heterodera glycines* e *Pratylenchus brachyurus* para a cultura da soja (BRASIL, 2016).

Em hortaliças, a importância dos fitonematoides é de abrangência mundial, e os danos causados são altamente expressivos, principalmente em regiões tropicais. No Brasil, as perdas podem variar de 12 a 100 %. As principais ocorrências são de *Meloidogyne* spp. em alface, batata-doce, beterraba, cebola, cenoura, cucurbitáceas

(abóboras, melão, melancia, morangas e pepino), solanáceas (batata, berinjela, jiló, pimenta, pimentão e tomate) e mandioquinha-salsa; *Pratylenchus* spp. em batata, inhame e mandioquinha-salsa; *Rotylenchulus reniformis* em coentro e melão; *Ditylenchus dipsaci* em alho; *Scutellonema bradys* em cará, inhame e mandioquinha-salsa; e *Helicotylenchus dihystera* em cenoura (OLIVEIRA, 2016; PINHEIRO, 2017).

2.3 Nematoides-de-galhas-radiculares – *Meloidogyne* spp.

O gênero *Meloidogyne* spp., chamado nematoides-de-galhas-radiculares, ou “root-knot nematodes” em inglês, é o grupo de fitonematoides mais agressivo, prejudicial e economicamente importante para a agricultura no Brasil e no mundo, pois infecta praticamente todos os tipos de culturas agrícolas (CARNEIRO et al., 2016).

O gênero foi proposto por Emílio Goeldi em 1887, ao publicar em seu relatório técnico-científico uma nova espécie de nematoide, *M. exigua*, encontrada parasitando cafeeiros na então Província do Rio de Janeiro (FERRAZ & BROWN, 2016). A partir dessa data, mais de 100 espécies do gênero já foram descritas no mundo (HUNT & HANDOO, 2009), e as que causam danos severos em hortaliças no Brasil, com perdas de até 100 % da produção, são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. ethiopica* e *M. enterolobii* (PINHEIRO, 2017).

As espécies de *Meloidogyne* apresentam alta variabilidade genética pelo número de espécies identificadas, diversidade citogenética, modo de reprodução (anfimixia e partenogênese) e pela ampla gama de hospedeiros (CARNEIRO et al., 2016; TRUDGILL & BLOK, 2001).

São parasitas obrigatórios de raízes e de caules subterrâneos e apresentam metabolismo ativo durante todo o ano em regiões de temperaturas mais quentes e solos úmidos, porém há espécies adaptadas a regiões de climas mais frios. A forma de vida móvel no solo capaz de infectar as raízes é o juvenil de segundo estágio (J2), ou estágio infectivo. Ao penetrarem nas raízes, os J2 movimentam-se para as regiões próximas aos vasos condutores, induzem a formação de células especializadas de alimentação e se tornam sedentários. Ali, passam por sucessivas ecdises, que é a troca da cutícula externa (2ª, 3ª e 4ª), até chegarem à fase adulta. Também ocorre o alargamento progressivo do corpo do juvenil durante as ecdises. Ao atingirem a fase adulta, as fêmeas permanecem em seu sítio de alimentação, assumindo um formato piriforme, e os machos reassumem o formato filiforme, saindo das raízes em direção ao solo (FERRAZ, 2018).

O engrossamento das raízes denominado “galha” é devido à hiperplasia celular, uma multiplicação desordenada de células adjacentes ao sítio de alimentação do nematoide. Contudo, esse sintoma não é essencial para o parasitismo de espécies de *Meloidogyne* em suas plantas hospedeiras. Posteriormente, a fêmea deposita seus ovos em uma matriz gelatinosa, que pode ser interna ou externa. São formadas em meio ao parênquima cortical ou sobre a superfície das raízes, que contêm em média de 500 a 1000 ovos protegidos pela camada gelatinosa que evita a dessecação e protege contra o ataque de microrganismos. Ainda dentro do ovo ocorre a formação do juvenil de primeiro estágio (J1), que ali sofre a 1ª ecdise, originando o J2, que abandona o ovo e passa a migrar no solo à procura da raiz de um hospedeiro favorável. O ciclo de vida varia de 21 a 45 dias, dependendo das condições do ambiente, da planta hospedeira e da espécie de *Meloidogyne* (FERRAZ, 2018; OLIVEIRA & ROSA, 2018; PINHEIRO, 2017).

O ovo é um estágio de *Meloidogyne* que pode entrar em dormência em condições desfavoráveis, como solo seco e ausência de hospedeiro. Entretanto, este fitonematoide tem uma ampla gama de plantas hospedeiras, podendo sobreviver em plantas invasoras durante a entressafra. De modo geral, os sintomas causados por estes patógenos são observados no campo em áreas localizadas, de maior ou menor extensão, denominadas manchas ou “reboleiras”, em que se concentram plantas com desenvolvimento reduzido, murcha nas horas mais quentes do dia, declínio, queda de folhas e sintomas de deficiência nutricional, e até mesmo morte prematura. As formas de dispersão são por meio da movimentação do solo por máquinas, água e implementos agrícolas contaminados, além do próprio homem, animais e material de plantio infectado (FERRAZ & BROWN, 2016; OLIVEIRA & ROSA, 2018).

A espécie *Meloidogyne javanica* tem ampla distribuição mundial, considerada a segunda mais importante do gênero (CARNEIRO et al., 2016). Ocorre predominantemente em regiões com estações secas bem características (EISENBACK & TRIANTAPHYLLOU, 1991), como as apresentadas no Cerrado brasileiro. Em levantamento realizado em plantas nativas na região do Cerrado, Silva et al. (2014) detectaram predominância de *M. javanica* em 75,7 % das amostras. No Brasil, *M. javanica* sempre foi a espécie do gênero de maior ocorrência nas áreas de cultivo com culturas hospedeiras (CASTRO et al., 2003; COFCEWICZ et al., 2004).

2.4 Principais estratégias de controle de fitonematoides em hortaliças

Na agricultura do terceiro milênio, a utilização combinada de várias medidas de controle tem sido comumente priorizada, o chamado manejo integrado de fitonematoides. A correta identificação da(s) espécie(s) na área de cultivo sob ataque é essencial na elaboração do programa de manejo, pois possibilita a adoção de práticas mais eficientes no controle dos fitonematoides (FERRAZ, 2018).

2.4.1 Prevenção

A prevenção é a estratégia de controle de fitonematoides mais eficiente, posto que, uma vez introduzidos na área, sua erradicação é praticamente impossível. Assim, as medidas usuais de controle têm a finalidade apenas de manter a densidade populacional destes patógenos em níveis baixos o suficiente para que não causem perdas econômicas (PINHEIRO, 2017).

No manejo de fitonematoides, algumas medidas preventivas podem ser citadas, a saber: limpeza de equipamentos (ferramentas, implementos agrícolas, maquinários, sapatos etc.), uso de material de plantio isento de patógenos (mudas, sementes, tubérculos etc.) e quarentena (ações utilizadas para a exclusão de organismos indesejáveis) (CHARCHAR, 1999; FERRAZ et al., 2010; MARINHO et al., 2003).

2.4.2 Eliminação de restos culturais

A eliminação de restos culturais é uma medida de controle importante para fitonematoides, visto ficarem alojados nos restos de raízes/tubérculos/bulbos nas áreas de plantio. Assim, fazem-se necessários o revolvimento do solo e a exposição ao sol, ocorrendo a morte dos nematoides por calor e dessecação. Podem ser feitas também a remoção, a amontoa e a destruição desses restos culturais.

Esta medida de controle também se aplica a plantas invasoras, que devem ser eliminadas manualmente ou pela aplicação de herbicidas, impedindo o aumento e a manutenção da população de fitonematoides nas áreas de cultivo, visto muitas dessas plantas serem boas hospedeiras de nematoides-de-galhas-radiculares (CHARCHAR, 1999; FERRAZ et al., 2010; PINHEIRO, 2017).

2.4.3 Solarização e biofumigação

A solarização tem sido ainda empregada em áreas com altas populações de fitonematoides, principalmente em regiões de clima quente e intensa radiação solar (KATAN et al., 1981). É uma prática que consiste em cobrir o solo com uma camada de plástico de polietileno transparente, permitindo a entrada de raios solares que aquecem o solo nas camadas superficiais, com efeitos positivos sobre a redução da população de fitonematoides por um período de 3 a 8 semanas. Durante a solarização, a temperatura pode chegar a 54 °C nas camadas mais superficiais e a 50 °C até aos 30 cm de profundidade (PINHEIRO, 2017). A solarização do solo foi capaz de diminuir em 99 % a incidência de *Meloidogyne* spp. em área com tomateiro (EDDAOUDI & AMMANTI, 1995), em 86 % em cultivo de cenoura (STAPLETON et al., 1985), em 82,7 % em cultivo de quiabo (BETTIOL et al., 1996) e em 35 % em cultivo de pepino (ESFAHANI, 2008).

A biofumigação consiste na integração da solarização com a incorporação de matéria orgânica, de origem animal ou vegetal. A mais comumente utilizada é a de origem vegetal, principalmente com espécies da família brassicaceae, que liberam, em sua decomposição, compostos como isotiocianato, que apresenta ação nematicida. Assim, a integração dessas medidas de controle potencializa a ação sobre os fitonematoides em áreas altamente infestadas (BAPTISTA et al., 2006; NEVES et al., 2008).

2.4.4 Uso de plantas antagonistas

O uso de plantas antagonistas é uma prática de sucesso para a redução de altos níveis populacionais de fitonematoides. As plantas afetam negativamente sua população, seja por serem hospedeiras desfavoráveis (há penetração, mas poucos se desenvolvem), seja pela produção de compostos tóxicos, que atuam no interior da planta ou são liberados no meio externo (FERRAZ et al., 2010).

As plantas antagonistas mais utilizadas no manejo em áreas de cultivo de hortaliças são: cravo-de-defunto (*Tagetes patula*, *T. minuta* e *T. erecta*), crotalárias (*Crotalaria spectabilis* e *C. juncea*) e mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), esta última com provada eficiência no controle de *Meloidogyne incognita*. As crotalárias e mucunas podem ainda ser utilizadas como cultura de cobertura ou incorporadas ao solo na forma de adubo verde (PINHEIRO, 2017).

2.4.5 Rotação de culturas

A rotação de culturas com plantas não hospedeiras é uma prática importante e efetiva na diminuição da população de fitonematoides em áreas infestadas. A rotação, quando bem planejada, além da ação sobre os fitonematoides, também pode trazer estabilização ou aumento da produtividade, melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, melhor aproveitamento dos nutrientes, controle de pragas, de plantas invasoras, da erosão, entre outros benefícios (FERRAZ et al., 2010).

As espécies sorgo (*Sorghum bicolor*), milho (*Zea mays*), milheto (*Pennisetum glaucum*), mamona (*Ricinus communis*), crotalárias (*Crotalaria* spp.), cravo-de-defunto (*Tagetes patula*) e brássicas são as mais empregadas em rotação com hortaliças (PINHEIRO, 2017). Entretanto, o manejo de populações mistas de *Meloidogyne* em hortaliças é bastante complexo. Charchar et al. (2007) relataram que o cultivo de *Crotalaria spectabilis*, *C. juncea*, *Mucuna pruriens*, *Brassica nigrum* ou *Zea mays* por 120 dias não foi suficiente para viabilizar a produção de cenoura em solo infestado com *M. incognita*, raça 1, e *M. javanica*.

2.4.6 Suplementação do solo com matéria orgânica

A utilização de matéria orgânica é uma prática antiga na agricultura e comum em sistemas de subsistência. Sua incorporação favorece as propriedades físicas do solo, a introdução ou o incremento de microrganismos benéficos, inclusive inimigos naturais dos fitonematoides, a liberação de substâncias tóxicas como amônia e ácidos orgânicos liberados durante a decomposição e o aumento da tolerância das plantas ao ataque de patógenos (CHITWOOD, 2002).

As principais fontes orgânicas utilizadas no manejo de fitonematoides são: tortas de sementes de oleaginosas (algodão, amendoim, gergelim, mamona, mostarda, nim, soja etc.); biomassa vegetal (alfafa, brássicas, cravo-de-defunto, crotalárias, mucunas, folhas de nim etc.); resíduos da agroindústria (casca de amendoim, manipueira, palha de arroz e café, sementes de mamão, torta de filtro, vinhaça etc.); resíduos de animais (esterco bovino e de frango, farinha de ossos, rejeitos da limpeza de peixes etc.); e resíduos de lixo urbano (compostos orgânicos e lodo de esgoto) (FERRAZ et al., 2010; OKA, 2010).

2.4.7 Resistência genética

A resistência genética de plantas a fitonematoides é considerada uma medida eficiente e econômica para evitar perdas causadas por estes patógenos (SHUKLA et al., 2016). A utilização de cultivares de hortaliças resistentes diminui o uso de nematicidas, que apresentam custo relativamente elevado e alta toxicidade. Espécies selvagens têm sido importantes fontes de resistência a fitonematoides, como no programa de melhoramento do tomateiro, em que o gene *Mi*, relatado há mais de 70 anos, foi identificado em um acesso selvagem (*Solanum peruvianum*) (WATTS, 1947). A proteína codificada desse gene confere resistência a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, porém com ineficiência em temperaturas elevadas do solo (AMMATI et al., 1986). Vale salientar que, apesar da existência de cultivares comerciais de tomateiro com resistência ao nematoide-de-galhas-radiculares, essa resistência é limitada somente a três espécies. Entretanto, existe a potencial emergência de biótipos virulentos, já relatados em alguns países em decorrência do uso contínuo de cultivar resistente em uma mesma área de produção (SEID et al., 2015).

Ademais, pesquisas com melhoramento genético de hortaliças visando à resistência a fitonematoides são diversificadas, e muitos pesquisadores preveem boas perspectivas para os próximos anos (PINHEIRO, 2017). Em relação às cucurbitáceas, resultados no Brasil demonstraram a resistência dos genótipos de abóbora Goianinha e Minipaulista, do melão redondo amarelo e da melancia Charleston Gray a *M. incognita* (FRANCO et al., 2008). Para a cenoura, as cultivares Brasília e BRS Planalto apresentam elevada tolerância a *M. incognita* e *M. javanica* (PINHEIRO, 2017).

Já os grupos de pimenta e pimentões (*Capsicum* spp.) são alvo de pesquisas visando à resistência aos nematoides-de-galhas-radiculares desde 1956 (AGUIAR et al., 2014; GISBERT et al., 2013; HARE, 1956). No mercado, estão disponíveis algumas cultivares de pimentões resistentes principalmente a *M. javanica* e *M. incognita*. Em relação à batata-doce, Charchar & Ritschel (2004) classificaram a cultivar comercial Brazlândia Roxa como resistente a *Meloidogyne* spp., e Massaroto et al. (2008), como resistente a *M. incognita*, raça 1.

Para a cultura da batata, apesar da sua importância econômica e social para o mundo, ainda não foram identificados genes de resistência aos principais fitonematoides que atacam a cultura, todavia diversos trabalhos estão sendo desenvolvidos para solucionar tal questão. No Brasil, Charchar & Moita (1996) selecionaram seis cultivares

com resistência moderada a *M. incognita*, raça 1, com destaque para a cultivar Achat, que também apresentou resistência moderada a *M. javanica* (CHARCHAR & MOITA, 2001). Atualmente, genes de resistência para *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica* foram identificados na espécie silvestre *Solanum sparsipilum* e outras do gênero, no Centro Internacional de La Papa - Peru, materiais que estão sendo utilizados em programas de melhoramento na França e em outros países, com futuras perspectivas de lançamento de cultivares resistentes (PINHEIRO, 2017).

2.4.8 Controle biológico

O controle biológico é a ação de microrganismos na manutenção das populações de fitonematoides a níveis inferiores do que ocorreria na sua ausência, por meio de mecanismos de competição, parasitismo, predação e produção de compostos tóxicos (MOOSAVI & ZARE, 2012).

Os fungos são os inimigos naturais dos fitonematoides mais pesquisados, principalmente as espécies *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinum* (parasitas de ovos e fêmeas); *Arthrobotrys* spp. e *Monacrosporium* spp. (predadores); e espécies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Penicillium*, *Pleurotus* e *Trichoderma* (produtores de metabólitos tóxicos). Além dos fungos, as bactérias também são eficientes agentes de biocontrole de fitonematoides, principalmente *Pasteuria* spp. (endoparasita), e rizobactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (ABD-ELGAWAD, 2016; FREITAS et al., 2010).

Atualmente no Brasil, há 22 registros de nematicidas microbiológicos no MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), sendo que 18 estão disponíveis para o uso em hortaliças. Esses nematicidas são à base de espécies de *Bacillus*, *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma harzianum* (BRASIL, 2019a).

2.4.9 Controle químico

O controle químico não deve ser visto como a mais eficaz e única medida na redução da população de fitonematoides. Seu uso pode proporcionar o lixiviamento de substâncias tóxicas, que contaminam diversos organismos e lençóis freáticos, além de apresentar custo relativamente elevado. Apesar de existirem nematicidas químicos registrados no MAPA, poucos são registrados para uso no cultivo de hortaliças

(BRASIL, 2019b). Alguns fatores como a toxicidade e o período residual dificultam o emprego desses produtos, pois a maioria das hortaliças apresenta ciclo relativamente curto, principalmente as folhosas, inviabilizando seu uso (PINHEIRO, 2017).

2.5 Compostos botânicos ativos no controle de fitonematoides

As plantas são grandes produtoras de metabólitos secundários em razão das mais diversas reações ocorridas em seu metabolismo. Estes compostos desempenham funções fisiológicas nas próprias plantas e também participam de interações entre elas e outros organismos (GARDIANO et al., 2008).

Algumas plantas antagonistas, produtoras de compostos tóxicos a nematoides, são bastante estudadas, visando a identificar a série de componentes com propriedades nematicidas/nematostáticas presentes nessas plantas. Contudo, tal linha de pesquisa ainda é bastante incipiente. A partir da identificação, esses componentes podem ser testados para comprovação da ação sobre fitonematoides, com possibilidade de formulação para o uso em produtos à base de extratos botânicos. Esses defensivos naturais se destacam dos sintéticos por apresentarem vantagens como baixo custo, fácil biodegradação das moléculas químicas presentes, baixa toxicidade e poderem ser empregados em cultivos agroecológicos. Apresentam ainda grande diversidade de constituintes químicos e podem apresentar amplo modo de ação, além de serem obtidos de recursos renováveis (CHITWOOD, 2002; FERRAZ et al., 2010).

Assim, entre as espécies vegetais mais comumente estudadas no preparo de extratos ou óleos essenciais com propriedades nematicidas, estão as mucunas (*Mucuna* spp.), cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.), crotalárias (*Crotalaria* spp.), nim (*Azadirachta indica*), mamona (*Ricinus communis*), brássicas, algumas gramíneas, plantas medicinais e aromáticas (BALDIN et al., 2012; FERRAZ et al., 2010).

2.5.1 *Mucuna* spp.

O gênero *Mucuna* tem mais de 100 espécies já descritas, e no Brasil, a mais conhecida é a mucuna-preta (*Mucuna pruriens*). As sementes de *Mucuna* spp. têm L-Dopa (3,4-diidroxifenilalanina), substância com atividade nematicida já comprovada (BARCELOS, 1997). Na parte aérea de mucuna-preta, compostos como tiacontil-tetracosanato e 1-triacontanol foram isolados e apresentaram atividade contra *M.*

incognita, reduzindo a eclosão de J2 e o número de galhas em ensaios *in vitro* e em casa de vegetação, respectivamente (NOGUEIRA et al., 1996).

Outras substâncias de mucuna como β -sisterol + stigmasterol, nitratos, ácidos graxos, prUNETINA, L-fenilalanina e L-tirosina foram extraídas e apresentaram atividade nematicida (BARBOSA et al., 1999; NASCIMENTO, 1999).

2.5.2 *Tagetes* spp.

O cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.) compreende mais de 50 espécies diferentes, das quais somente *T. patula*, *T. erecta*, *T. lunata* e *T. tenuifolia* são cultivadas em todo o mundo (FERRAZ et al., 2010).

As plantas de cravo-de-defunto são amplamente estudadas quanto à presença de compostos com propriedades nematicidas, a exemplo de α -tertienil e alil-isotiocianato. Todavia, alguns compostos presentes nas raízes dependem da fotoativação, da ação da peroxidase ou de outros ativadores para liberar o composto tóxico contra os nematoides (BALDIN et al., 2012; CHITWOOD, 2002). Porém, compostos podem estar presentes em folhas e flores e não dependerem da luz, a exemplo de extratos aquosos obtidos de flores de *T. patula*, que apresentaram redução de 62,2 % no número de galhas, e de 61,5 e 52,8 %, no número de J2 e ovos de *M. incognita*, respectivamente, em tomateiro (FRANZENER et al., 2007).

2.5.3 *Crotalaria* spp.

Dentro do gênero *Crotalaria*, *C. juncea* é a espécie mais importante e mais conhecida, pois, além de ser antagonista a fitonematoides, é capaz de fixar nitrogênio atmosférico, crescer em solos pouco férteis e apresentar tolerância à deficiência de água no solo, sendo *C. spectabilis* a espécie mais estudada no controle de fitonematoides (FERRAZ et al., 2010). Uma importante substância contida no exsudato radicular das crotalárias é o alcaloide monocrotalina (FERRAZ et al., 2010). Fassuliotis & Skucas (1969) avaliaram a exposição de J2 de *M. incognita* a este composto e encontraram inibição de 100 % quando utilizada a concentração de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

2.5.4 *Azadirachta indica* e *Ricinus communis*

A espécie *Azadirachta indica*, popularmente conhecida como nim, merece atenção por conter compostos que têm propriedades químicas capazes de afetar mais de

200 espécies de pragas e patógenos, incluindo ácaros, insetos, bactérias, fungos, nematoides e alguns vírus (FREITAS et al., 2010). Seu efeito contra nematoides é devido à presença de substâncias químicas, como azadiractina, nimbina, salalina, entre outras (CHITWOOD, 2002).

A eficiência do nim já foi comprovada por vários autores, que relataram ação nematicida de extratos aquosos e metanólicos desta planta sobre vários fitonematoides, a exemplo dos gêneros *Heterodera* e *Meloidogyne* (BALDIN et al., 2012; SILVA et al., 2008).

A mamona (*Ricinus communis*) tem, entre seus compostos químicos, a substância ricina, principal composto da planta com alta toxicidade a nematoides, encontrada em maior concentração em torta de sementes (RICH et al., 1989). O uso de extratos tem apresentado eficiência contra *M. incognita* em hortaliças, a exemplo do cultivo da cenoura, em que houve redução do número de galhas e ovos provocados pelo parasitismo deste fitonematoide (BALDIN et al., 2012).

2.5.5 Brássicas e gramíneas

As plantas popularmente conhecidas como brássicas têm uma série de compostos químicos em sua constituição, tais como epinitrilas, glicosinatos, isotiocianatos, nitrilas e tiocinatos, todos com atividade nematicida (CHITWOOD, 2002; MAYTON et al., 1996).

Extratos e óleos essenciais de mostarda (*Brassica campestris*), couve-flor (*Brassica oleracea*) e brócolis (*Brassica oleracea*) são alguns exemplos do emprego de brássicas no controle de *M. javanica* (NEVES et al., 2008).

Algumas espécies de gramíneas contêm em sua composição química alguns glicosídeos que podem apresentar ação nematicida, a exemplo de *Sorghum bicolor* e *S. sudanense*, que apresentam em sua composição a durrina (CHITWOOD, 2002). A comprovação da presença desse composto foi descrita por Widmer & Abawi (2000), que relataram redução da eclosão de J2 de *M. hapla* em até 55 % em cultivo de alface utilizando extrato de *S. sudanense*.

O capim-colchão (*Eragrotis curvula*) também apresenta antagonismo contra fitonematoides, devido ao composto fenólico catecol presente em suas raízes (SCHEFFER et al., 1962), com eficiência relatada por Brito & Ferraz (1987) no controle de *M. javanica*. Outra gramínea estudada é o capim-limão (*Cymbopogon*

citratus) e seus principais constituintes são o citral (mistura dos aldeídos geranial + neral) e alguns terpenos (mirceno e geraniol), ambos com propriedades nematocidas (NEGRELLE & GOMES, 2007).

Ademais, testes de extratos de raízes de capim-pangola (*Digitaria decumbens*) tiveram ação deletéria sobre J2 de *M. javanica*, *M. hapla* e *M. arenaria* (HAROON & SMART, 1983a-c), além de extratos de raízes de *Panicum maximum* e folhas de *Brachiaria decumbens* eficientes no controle de *Heterodera glycines* e *M. javanica* (DIAS-ARIEIRA et al., 2003).

2.5.6 Medicinais e aromáticas

As plantas medicinais e aromáticas são bastante estudadas no controle de nematoides por terem componentes tóxicos, principalmente nos óleos essenciais, tais como ácidos graxos, alcaloides, esteroides, flavonoides, glicosídeos, isotiocianatos, saponinas, taninos e outros compostos (CHITWOOD, 2002).

Assim, extratos e óleos essenciais de bulbilhos de alho (*Allium sativum*), casca de gliricídia (*Gliricidia sepium*), folhas de hortelã (*Mentha piperita*), folhas de mandioca (*Manihot esculenta*), sementes e folhas de mamoeiro (*Carica papaya*), açafrão-da-terra (*Curcuma longa*), amora (*Morus nigra*), arruda (*Ruta graveolens*), cebola (*Allium cepa*), eucalipto (*Corymbia citriodora*), erva-de-santa-maria (*Chenopodium* spp.), fedegoso (*Cassia obtusifolia*), figueira (*Ficus elastica*), manjeriço (*Ocimum* spp.), orégano (*Origanum vulgare*), pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), quebra-pedra (*Phyllanthus amarus*), romã (*Punica granatum*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e vinca (*Catharanthus roseus*) são relatados como excelentes fontes potenciais de substâncias com ação nematocida, atuando principalmente sobre J2 de *Meloidogyne* (AMORA et al., 2017; CARBONI & MAZZONETTO, 2013; COIMBRA et al., 2006; FERRAZ et al., 2010; MIORANZA et al., 2016; NEVES et al., 2008; NEVES et al., 2009; MIORANZA et al., 2016; OLABIYI et al., 2008).

Na literatura científica, há relatos ainda da atividade nematocida de outras dezenas de espécies de plantas sobre o gênero *Meloidogyne*, como nos extratos e óleos essenciais de artemísia (*Artemisia verlotorum*), áster (*Callistephus chinensis*), bardana (*Arctium lappa*), botão de ouro (*Unxia suffruticosa*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), centáurea (*Centaurea cyanus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), coentro (*Coriandrum sativum*), confrei (*Symphytum officinale*), cosmo (*Cosmos bipinnatus*), cravo-da-índia

(*Eugenia caryophyllata*), erva-de-touro (*Tridax procumbens*), funcho (*Foeniculum vulgare*), gervão (*Verbena officinalis*), girassol mexicano (*Tithonia diversifolia*), guiné (*Petiveria alliacea*), guandu (*Cajanus cajan*), losna (*Artemisia absinthium*), magnólia (*Magnolia officinalis*), margarida (*Chrysanthemum leucanthemum*), melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia*), mentrasto (*Ageratum conyzoides*), mulungu (*Erythrina mulungu*), pimenta-da-jamaica (*Pimenta officinalis*), samambaia (*Pteridium aquilinum*), segurelha (*Satureja hortensis*), vedélia (*Sphagneticola trilobata*) e zínia (*Zinnia peruviana*) (CETINTAS & YARBA, 2010; FERREIRA et al., 2013a; FERREIRA et al., 2013b; GARDIANO et al., 2008; GARDIANO et al., 2011; MATEUS et al., 2014; NEVES et al., 2010).

2.5.7 *Euphorbia* spp.

O gênero botânico *Euphorbia* abrange mais de 2.000 espécies de plantas, sendo considerado o maior dentro da família Euphorbiaceae (HORN et al., 2012). Esse gênero tem a região Indomalaia como centro primário de diversidade e a região Neotropical como centro secundário, podendo ser encontrada uma diversidade de espécies em vários habitats (GOVAERTS et al., 2000).

Muitas espécies de *Euphorbia* são bastante conhecidas por serem ornamentais, tais como *E. pulcherrima* (bico-de-papagaio, flor-de-são-joão, poinsétia-natalina), *E. milii* (coroa-de-cristo) e *E. cotinifolia* (caracasana). Outras também são conhecidas por serem plantas invasoras de difícil controle, a exemplo de *E. heterophylla* (amendoim-bravo), com distribuição em regiões tropicais e subtropicais (BRIGHENTI & OLIVEIRA, 2011; TAKANO et al., 2013). São encontradas ainda algumas espécies com propriedades medicinais como *E. peplus*, *E. prostrata*, *E. thymifolia* e *E. hirta*, que são produtoras de compostos anticancerígenos, inibidores de tumores, imunestimulantes e anti-inflamatórios (MWINE & VAN DAMME, 2011).

Dentro do gênero *Euphorbia*, algumas espécies apresentam efeitos alelopáticos sobre algumas culturas agrícolas como alface, pepino, sorgo e trigo (ABU-ROMMAN et al., 2010; SILVA et al., 2018). Alguns autores relataram ainda a ação antifúngica (DHOLE et al., 2011) e anti-helmíntica (NALULE et al., 2013) de espécies de *Euphorbia*.

Em trabalhos de pesquisas envolvendo fitonematoides, Olabiyi et al. (2008) relataram eficiência de 100 % do extrato etanólico de *E. hirta* na mortalidade de J2 de

Meloidogyne incognita em condições *in vitro*. Liu et al. (2014) obtiveram os mesmos resultados, porém utilizando a espécie botânica *E. fischeriana*. Ainda Khun et al. (2015) mostraram a eficácia *in vitro* do extrato aquoso de *E. heterophylla* sobre J2 de *M. incognita*, com taxa de mortalidade de 86 %. Já sobre eclosão de J2 de *Meloidogyne* spp., Ononuju & Nzenwa (2011) descreveram inibição de até 79 % da eclosão utilizando o extrato aquoso de *E. hirta*. Por fim, em pesquisa avaliando o parasitismo de *M. incognita*, raça 3, e *M. javanica* em plantas invasoras em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, Giralde et al. (2017) classificaram *E. heterophylla* como má hospedeira, com baixos valores de fator de reprodução para os respectivos fitonematoides.

Na literatura científica, diversos são os trabalhos encontrados utilizando extratos e óleos essenciais de plantas com potencial para controle de nematoides. Seu uso no controle de fitonematoides é uma alternativa interessante, com valor prático e econômico, substituindo produtos químicos convencionais, principalmente para pequenos produtores rurais, para cultivos de hortaliças, plantas ornamentais e medicinais, além do cultivo orgânico (MOREIRA et al., 2009; FERRAZ, et al., 2010).

Apesar de haver uma vasta lista de plantas produtoras de compostos tóxicos a fitonematoides, muitos desses estudos datam de vários anos e pouco se sabe sobre os compostos nematicidas presentes nessas plantas e menos ainda sobre os possíveis modos de ação. Vale salientar ainda que geralmente os trabalhos relatados na literatura investigaram somente a atividade de extratos brutos e pouquíssimos avançaram na busca pela identidade das moléculas responsáveis por tais efeitos tóxicos aos fitonematoides. Há muitas plantas ainda a serem pesquisadas no Brasil, pois o país tem uma flora muito rica, e muitas famílias botânicas ainda não foram sequer estudadas. Deste modo, novos trabalhos devem se basear na busca por novas plantas com potencial nematicida/nematostático, na descoberta e caracterização de novos compostos ativos, na determinação das concentrações efetivas de uso, seu modo de ação e definição de formas de aplicação (FERRAZ et al., 2010).

2.6 Referências bibliográficas

ABD-ELGAWAD, M. M. M. Biological control agents of plant-parasitic nematodes. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 26, n. 2, p. 423-429, 2016.

ABU-ROMMAN, S.; SHATNAWI, M.; SHIBLI, R. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 7, n. 3, p. 298-302, 2010.

AGUIAR, J. L.; BACHIE, O.; PLOEG, A. Response of resistant and susceptible bell pepper (*Capsicum annuum*) to a Southern California *Meloidogyne incognita* population from a commercial bell pepper field. **Journal of Nematology**, v. 46, n. 4, p. 346-351, 2014.

AMMATI, M.; THOMASON, I. J.; MCKINNEY, H. E. Retention of resistance to *Meloidogyne incognita* in *Lycopersicon* genotypes at high soil temperature. **Journal of Nematology**, v. 18, n. 4, p. 491-495, 1986.

AMORA, D. X.; PODESTÁ, G. S.; GRUPIONI, P. H. F.; NASU, E. G. C.; FIGUEIREDO, L. D.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Effect of essential oils on the root-knot nematode management. **Revista Agri-Environmental Sciences**, v. 3, n. 1, p. 15-23, 2017.

BAPTISTA, M. J.; SOUZA, R. B.; PEREIRA, W.; CARRIJO, O. A.; VIDAL, M. C.; CHARCHAR, J. M. Solarização do solo e biofumigação no cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 47-52, 2006.

BALDIN, E. L. L.; WILCKEN, S. R. S.; PANNUTI, L. E. R.; SCHLICK-SOUZA, E. C.; VANZEI, F. P. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 36-41, 2012.

BARBOSA, L. C. A.; BARCELOS, F. E.; DEMUNER, A. J.; SANTOS, M. A. Chemical constituents from *Mucuna aterrima* with activity against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Nematropica**, v. 29, n. 1, p. 81-88, 1999.

BARCELOS, F. F. **Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna aterrima***. 1997. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; CUNHA, M. I. B.; TRATCH, R.; GALVÃO, J. A. H. Solarização do solo para controle do nematoide das galhas em quiabeiro. **Horticultura Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 158-160, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. 2019a. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 21 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. 2019b. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 21 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Portaria nº 82, de 12 de agosto de 2016. Define as pragas de maior risco fitossanitário nas principais culturas agrícolas nacionais para fins de priorização dos processos de registro de produtos e tecnologias de controle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 ago. 2016. p. 1.

BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, M. F. Biologia de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. cap. 1, p. 1-36.

BRITO, J. A.; FERRAZ, S. Seleção de gramíneas antagonistas a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 11, p. 260-269, 1987.

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**, v. 5, n. 2, p. 61-66, 2013.

CARES, J. E. Nematoides. In: MOREIRA, F. M. S; CARES, J. E.; ZANETTI, R; STUMER, S. L (Eds.). **O Ecossistema Solo**: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras: Editora UFLA, 2013. cap. 12, p. 223-253.

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. cap. 3, p. 47-70.

CARVALHO, C.; KIST, B. B.; TREICHEL, M. **Anuário Brasileiro de Hortaliças**. Santa Cruz do Sul, 2016. Disponível em: <<http://www.editoragazeta.com.br/flip/anuario-hortalicas-2016/files/assets/basic-html/index.html#4>>. Acesso em: 05 jan. 2019.

CASTRO, J. M. C.; LIMA, R. D.; CARNEIRO, R. M. D. G. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. **Nematologia Brasileira**, v. 27, p. 1-12, 2003.

CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DE GOIÁS – CEASA-GO. **Análise Conjuntural Anual**. Goiânia, 2017. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2018-06/conjuntura-anual-2017-numerada_compressed.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2019.

CETINTAS, R.; YARBA, M. M. Nematicidal effects of five plant essential oils on the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, race 2. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 2, p. 222-225, 2010.

CHARCHAR, J. M. **Nematoides em Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1999. 12 p. (Circular Técnica, 18).

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de batata à infecção por *Meloidogyne incognita*, raça 1. **Horticultura Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 189-193, 1996.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W.; Resistência de genótipos de batata a *Meloidogyne javanica*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 535-540, 2001.

CHARCHAR, J. M.; RITSCHER, P. S. **Avaliação do banco de germoplasma de batata-doce da Embrapa Hortaliças para resistência a *Meloidogyne* spp.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004. 28 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 3).

CHARCHAR, J. M.; GONZAGA, V.; VIEIRA, J. V.; OLIVEIRA, V. R.; MOITA, A. W.; ARAGÃO, F. A. S. Efeito da rotação de culturas no controle de *Meloidogyne* spp. em cenoura na região Norte do Estado de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 173-179, 2007.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, n. 1, p. 221-249, 2002.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. D. G; CASTAGNOME-SERENO, P.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotype and genetic diversity of root-knot nematodes parasitizing *Musa* in Brazil. **Nematology**, v. 6, n. 1, p. 85-95, 2004.

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

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL – CNA. **Mapeamento e qualificação da cadeia das hortaliças do Brasil**. Brasília, 2017. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/bibliotecas/livro_final3_mapeamento_e_quantificacao_da_cadeia_de_hortalicas_08.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2019.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERRAZ, S.; DEMUNER, A. J.; FREITAS, L. G. Eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* frente a extratos químicos dos sistemas radiculares de *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum* cv. Guiné. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 87-92, 2003.

DHOLE, J. A.; DHOLE, N. A.; LONE, K. D.; BODKE, S. S. Preliminary phytochemical analysis and antimicrobial activity of some weeds collected from Marathwada region. **Journal of Research in Biology**, v. 1, n. 2, p. 19-23, 2011.

EDDAOUDI, M.; AMMATI, M. Study on effects of single and combined soil solarization and the use resistant tomato varieties on the populations of *Meloidogyne javanica* and the production of tomato in South Morocco. **Afro-Asian Journal of Nematology**, v. 5, p. 28-33, 1995.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of Agriculture Nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991. cap. 6, p. 191-274.

ESFAHANI, M. N. Integration of solar-heating and soil-amendments, an effective control measure against root-knot nematodes in cucumber fields. **Pakistan Journal of Plant Nematology**, v. 26, p. 97-106, 2008.

FASSULIOTIS, G.; SKUCAS, G. P. The effect of pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita* acrita. **Journal of Nematology**, v. 1, n. 4, p. 287-288, 1969.

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

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides. In: AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. v. 1, cap. 13, p. 195-211.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de Plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.

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

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

FRANCO, A. J.; CHARLO, H. C. O.; GALATTI, F. S.; BRAZ, L. T. Avaliação de genótipos de cucurbitáceas quanto à resistência a *Meloidogyne incognita*. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. S3650-S654, 2008. (Suplemento).

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. 27-37, 2007.

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**, v. 34, n. 4, p. 376-377, 2008.

GARDIANO, C. G.; MURAMOTO, S. P.; KRZYZANOWSKI, A. A.; ALMEIDA, W. P.; SAAB, O. J. G. A. Efeito de extratos aquosos de espécies vegetais sobre a multiplicação de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 553-556, 2011.

GIRALDELI, A. L.; SAN GREGORIO, J. P. R.; MONQUERO, P. A.; AGUILLERA, M. M.; RIBEIRO, N. M. Weeds hosts of nematodes in sugarcane culture. **Revista Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, v. 35, 2017.

GISBERT, C.; TRUJULLO-MOYA, C.; SÁNCHEZ-TORRES, P.; SIFRES, A.; SÁNCHEZ-CASTRO, E.; NUEZ, F. Resistance of pepper germplasm to *Meloidogyne incognita*. **Annals of Applied Biology**, v. 162, n. 1, p. 110-118, 2013.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; RADCLIFFE-SMITH, A. **World Checklist and Bibliography of Euphorbiaceae (and Pandaceae)**. Chicago: Royal Botanical Gardens - Kew, 2000. v. 2, 1661 p.

HARE, W. W. Resistance in pepper to *Meloidogyne incognita* acrita. **Phytopathology**, v. 46, p. 98-104, 1956.

HAROON, S. A.; SMART JR, G. C. Development of *Meloidogyne incognita* inhibited by *Digitaria decumbens* cv. Pangola. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 1, p. 102-105, 1983a.

HAROON, S. A.; SMART JR, G. C. Effects of *Pangola digitgrass* on *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica* and *M. hapla*. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 4, p. 649-650, 1983b.

HAROON, S. A.; SMART JR, G. C. Root extracts of *Pangola digitgrass* affect egg hatch and larval survival of *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 4, p. 646-649, 1983c.

HORN, J. W.; VAN EE, B. W.; MORAWETZ, J. J.; RIINA, R. G.; STEINMANN, V. W.; BERRY, P. E.; WURDACK, K. J. Phylogenetics and evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 63, n. 2, p. 305-326, 2012.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-Knot Nematodes**. Cambridge: CABI International, 2009. cap. 3, p. 55-97.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa agrícola municipal 2017**. 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 08 jan. 2019.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.

KATAN, J. Solar heating (solarization) of soil control of soilborne pests. **Annual Review of Phytopathology**, v. 19, p. 211-236, 1981.

KHUN, P. R.; BELLÉ, C.; REINEHR, M.; KULCZYNSKI, S. M. Extratos aquosos de plantas daninhas, aromáticas e oleaginosas no controle de *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v. 45, n. 2, p. 150-157, 2015.

LIU, X. C.; ZHOU, L.; LIU, Z. L. Evaluation of nematicidal activity of ethanol extracts of Euphorbiaceae plants and constituents from *Euphorbia fischeriana* to *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 2, n. 4, p. 311-317, 2014.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (Eds.). **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. cap. 1, p. 1-13.

MACHADO, A. C. Z. Current nematode threats to Brazilian agriculture. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 26-35, 2014.

MACHADO, A. C. Z. Praga custa R\$35 bilhões ao agronegócio brasileiro. **Revista Agrícola**, p. 12-13, 2015.

MARINHO, V. L. A.; MENDES, M. A. S.; TENENTE, R. C. V.; BATISTA, M. F.; OLIVEIRA, M. R. V.; MARQUES, A. S. A.; URBEN, A. F.; FONSECA, J. N. L.; GONZAGA, V. **Procedimentos e métodos utilizados no intercâmbio e quarentena de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 40 p. (Documentos, 103).

MASSAROTO, J. A.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; SILVA, R. R.; GOMES, A. R. V. A.; Reação de clones de batata-doce ao *Meloidogyne incognita*, raça 1. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. S5587-S5591, 2008. (Suplemento).

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.

MAYTON, H. S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S. F.; LORIA, R. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. **Phytopathology**, v. 86, n. 3, p. 267-271, 1996.

MELLO, P. C. T.; VILELA, N. J. **Importância da cadeia produtiva brasileira de hortaliças**. 2007. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/downloads/cadeia_produtiva.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2019.

McCARTER, J. Molecular approaches toward resistance to plant-parasitic nematode. In: BERG, R. H.; TAYLOR, C. (Eds.). **Cell Biology of Plant Nematode Parasitism**. Berlin/Heidelberg: Springer, 2009. p. 239-267.

MIORANZA, T. M.; MULLER, M. A.; INAGAKI, A. M.; FUCHS, F.; COLTRO-RONCATO, S.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J. Potencial nematicida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita*. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 14, n. 1, p. 104-109, 2016.

MOOSAVI, M. R.; ZARE, R. Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. In: MÉRILLON, J. M.; KISHAN, G. R. (Eds.). **Plant Defence: Biological Control**. Dordrecht/Heidelberg/London New/York: Springer, 2012. p. 67-107.

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.

MWINE, J. T.; VAN-DAMME, P. Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 5, p. 652-662, 2011.

NALULE, A. S.; MBARIA, J. M.; KIMENJU, J. W. *In vitro* anthelmintic potential and phytochemical composition of ethanolic and water crude extracts of *Euphorbia*

heterophylla Linn. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 43, p. 3202-3210, 2013.

NASCIMENTO, J. C. **Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna cinerea* e quantificação de L-Dopa em três espécies de mucuna**. 1999. 124 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 1, p.80-92, 2007.

NEVES, W. S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; COUTINHO, M. M. Efeito de extratos botânicos sobre a eclosão e inativação de juvenis de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 8-16, 2010.

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S. Uso de sementes de mamão e solarização do solo no controle de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 253-259, 2008.

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FABRY, C. F. S.; DHINGRA, O. D.; FERRAZ, S. Ação nematicida de extratos de alho, mostarda, pimenta malagueta, de óleo de mostarda e de dois produtos à base de capsainoides e alil isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, 1949, em casa de vegetação. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p. 255-261, 2009.

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; FABRY, C. F. S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERREIRA, P. A.; FERRAZ, L. O.; DHINGRA, O. D.; FERRAZ, S. Ação nematicida de óleo, extratos vegetais e de dois produtos à base de capsaicina, capsainoides e alil isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 93-100, 2008.

NOGUEIRA, M. A.; OLIVEIRA, J. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Nematicidal constituents in *Mucuna atterima* and its activity on *Meloidogyne incognita*, raça 3. **Nematologia Mediterranea**, v. 24, n. 2, p. 249-252, 1996.

OLABIYI, T. I.; OYEDUNMADE, E. E. A.; IBIKUNLE, G. J.; OJO, O. A. Chemical composition and bio-nematicidal potential of some weeds extracts on *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. **Journal of Plant Science and Research**, v. 1, n. 2, p. 30-35, 2008.

OLIVEIRA, C. M. G.; ROSA, J. M. O. **Nematoides parasitos do cafeeiro**. São Paulo: Instituto Biológico, 2018. 28 p. (Boletim Técnico, 32).

OLIVEIRA, J. O. **Levantamento de fitonematoides e caracterização bioquímica de populações de *Meloidogyne* spp. em áreas cultivadas com hortaliças na região Sul**

do Estado de Goiás. 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado em Olericultura) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Morrinhos, 2016.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – a review. **Applied Soil Ecology**, v. 44, n. 2, p. 101-115, 2010.

ONONUJU, C. C.; NZENWA, P. O. Nematicidal effects of some plants extracts on egg hatchability and control of *Meloidogyne* spp. in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 3, p. 176-182, 2011.

PINHEIRO, J. B. **Nematoides em Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2017. 194 p.

RAVICHANDRA, N. G. **Horticultural Nematology**. New Delhi: Springer India, 2014. 412 p.

RICH, J. R.; RAHI, G. S.; OPPERMAN, C. H.; DAVIS, E. L. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v. 19, n. 1, p. 99-103, 1989.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. **Tropical Plant Pathology**, v. 28, n. 2, p. 133-141, 2013.

SHUKLA, N.; KAUR, P.; KUMAR, A. Molecular aspects of plant-nematode interections. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n. 4, p. 477-488, 2016.

SALGADO, S. M. L.; BORGES, J. Controle alternativo de fitonematoides. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Avanços no Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG, 2008. cap. 10, p. 179-206.

SASSER, J. N.; FREACKMAN, D. W. A world perspective on nematology: The role of the society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Vistas on Nematology: a Commemoration of the Twenty-Fifth Anniversary of the Society of Nematologists**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 7-14.

SCHEFFER, F.; KICKUTH, R.; VISSER, J. H.; Die Wurzelausscheidungen von *Eragrotis curvula*, nees und ihr einfluss auf wurzelknoten- nematoden. **Zeitschrift für Pflanzenahrung und Bodenkunde**, v. 98, n. 2, p. 114-120, 1962.

SEID, A.; FININSA, C.; MAKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL, W. M. L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) – century-old battle. **Nematology**, v. 17, n. 9, p. 995-1009, 2015.

SILVA, U. P.; FURLANI, G. M.; DEMUNER, A. J.; SILVA, O. L. M.; VAREJÃO, E. V. V. Allelopathic activity and chemical constituents of extracts from roots of *Euphorbia heterophylla* L. **Natural Products Research**, v. 1, p. 1-4, 2018.

SILVA, J. G. P.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M. R. A.; ROCHA, D. B.; MATTOS, V. S.; CORREA, V. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. Occurrence of

Meloidogyne spp. in Cerrado vegetations and reaction of native plants to *Meloidogyne javanica*. **Journal of Phytopathology**, v. 162, n. 7-8, p. 449-445, 2014.

SILVA, J. C. T.; OLIVEIRA, R. D. L.; JHAM, G. N.; AGUIAR, N. D. C. Effect of neem seed extracts on the development of the soybean cysts nematode. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 3, p. 171-179, 2008.

STAPLETON, J. J.; QUICK, J. DeVAY, J. E. Soil solarization, effect on soil properties, crop fertilization, and plant growth. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 17, n. 3, p. 369-373, 1985.

TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D. F.; FRANCHINI, L. H. M.; BRAZ, G. B. P.; RIOS, F. A.; GHENO, E. A.; GEMELLI, A. Efeito da adição do 2,4-D ao glyphosate para o controle de espécies de plantas daninhas de difícil controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2013.

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

WATTS, V. M. The use of *Lycopersicon peruvianum* as a source nematode resistance in tomato. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v. 49, p. 233-234, 1947.

WIDMER, T. L.; ABAWI, G. S. Mechanism of suppression of *Meloidogyne hapla* and its damage by a green manure of sudan grass. **Plant Disease**, v. 84, n.5, p. 562-568, 2000.

3. CAPÍTULO I

Efeito de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre *Meloidogyne javanica*

(Normas de acordo com a revista Tropical Plant Pathology)

Resumo

Os fitonematoides causam grandes prejuízos à agricultura mundial, com destaque para o gênero *Meloidogyne*, conhecido como nematoides-de-galhas-radiculares, considerado o mais importante do mundo. A busca por práticas sustentáveis de manejo tem se intensificado pela crescente preocupação da sociedade por medidas que conservem o meio ambiente e tragam segurança alimentar. Uma medida de controle promissora é a utilização de nematicidas botânicos. Desse modo, objetivou-se avaliar a atividade nematicida de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre *Meloidogyne javanica*. Os ensaios consistiram em avaliar os efeitos *in vitro* desses compostos sobre a mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*. Para avaliar o efeito sobre a mortalidade, os testes foram divididos em duas etapas. Inicialmente, os J2 foram tratados com os diferentes compostos na concentração inicial de 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e a porcentagem de J2 mortos foi quantificada após 24, 48 e 72 h de incubação. Após, a concentração inicial de cada composto foi diluída e analisadas as concentrações: 1,75; 3,5; 6,5; 12,5 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Essas diferentes concentrações foram avaliadas sobre J2 de *M. javanica* a fim de ajustar um modelo de regressão para determinar as concentrações letais que matassem 50 % (CL_{50}) e 95 % (CL_{95}) da população em 24 h. Já para os testes de eclosão, os ovos de *M. javanica* foram tratados com a CL_{95} de cada composto. Foi quantificado o número de J2 eclodidos diariamente por onze dias. Os tratamentos controle utilizados foram água destilada e solução aquosa de tween 5 % (controles

negativos) e $17,5 \text{ mg mL}^{-1}$ de carbofuran (controle positivo). Foram utilizadas placas de fundo chato de 96 poços, cada poço representando uma unidade experimental. Nos dois ensaios, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. No teste de mortalidade, todos os compostos apresentaram atividade nematicida com mais de 95 % de mortalidade após 24 h de incubação. Todos os compostos tiveram efeito na supressão da eclosão de J2, com taxas de redução de 70,1 a 96,1 % em comparação ao controle tween 5 %. Assim, conclui-se que os terpenos de *Euphorbia* sp. têm ação tóxica sobre *M. javanica*, apresentando potencial de seu uso para controle deste nematoide.

Palavras-chave: controle; nematicidas botânicos; nematoides-de-galhas-radiculares.

Abstract

Plant-parasitic nematodes cause great damage to world agriculture, especially *Meloidogyne* genus, known as root-knot nematodes, considered the most important in the world. The management sustainable practices search has intensified due to growing concern by society for measures that preserve the environment and bring food secure. Using botanical nematicides is a control promising measure. Thus, this study aimed to evaluate the nematicidal activity of terpenes purified from *Euphorbia* sp. against *Meloidogyne javanica*. The experiments consisted of evaluating effects of these compounds on mortality and hatch of second-stage juveniles (J2) of *M. javanica* *in vitro*. The tests were separated in two stages to evaluate the effect on mortality. Initially, the J2 were treated with the different compounds in the initial concentration of $25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, and the percentage of dead J2 was accounted for after 24, 48, and 72 h of incubation. Then, the initial concentration of each compound was diluted and the following 1.75, 3.5, 6.5, 12.5, and $25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ concentrations were analyzed. These different concentrations were evaluated on J2 of *M. javanica* to align a regression model to define the lethal concentrations that killed 50 % (LC_{50}) and 95 % (LC_{95}) of the populations in 24 h. For hatch tests, *M. javanica* eggs were treated with the LC_{95} of each compound. The number of J2 hatched was daily accounted for eleven days. The control treatments used were distilled water and aqueous solution of tween 5 % (negative controls), and 17.5 mg mL^{-1} of carbofuran (positive control). Flat bottom plates from 96 wells were used, and each well represented an experimental unit. A completely

randomized design with five replicates was used in both experiments. All compounds showed nematicidal activity in the mortality test with more than 95 % mortality after 24 h of incubation. All compounds had an effect on J2 hatching suppression, with reduction rates of 70.1 to 96.1 % as compared to the 5 % tween control. Therefore, it is concluded that the *Euphorbia* sp. terpenes have a toxic action on *M. javanica*, showing potential of its use for nematode control.

Keywords: botanical nematicides; control; root-knot nematodes.

3.1 Introdução

Os fitonematoides são patógenos de grande importância para as culturas agrícolas ao redor do mundo, causando danos e perdas significativas na produção, além de elevar cada vez mais os custos para o seu manejo (BELOT & GALBIERI, 2016). A maioria das espécies de fitonematoides do solo é microscópica, mas seus efeitos diretos e indiretos são bem significantes. Em termos mundiais, as perdas agrícolas anuais podem ultrapassar os US\$ 80 bilhões ao ano (SHAH & MAHAMOOD, 2017). Só no Brasil, as perdas estão estimadas em R\$ 35 bilhões de reais ao ano (MACHADO, 2015), causando ainda danos indiretos, como desvalorização da terra, aumento de custo de produção e predisposição de plantas ao ataque de outros fitopatógenos oportunistas, como fungos e bactérias, o que potencializa ainda mais essas perdas (LOPES & FERRAZ, 2016).

Entre os fitonematoides mais importantes e prejudiciais à agricultura mundial, podem ser citados os nematoides-de-galhas-radiculares (*Meloidogyne* spp.). Esse gênero tem maior distribuição nas áreas de cultivo, sendo capaz de infectar diversas culturas agrícolas e de se reproduzir em ampla variação de temperatura do solo (FERRAZ & BROWN, 2016; PINHEIRO, 2017).

No manejo integrado de fitonematoides, a utilização combinada e integrada de algumas medidas de controle possibilita a elaboração de estratégias mais eficientes na redução da população do patógeno (FERRAZ, 2018). A prevenção, muitas vezes ignorada, é a medida de controle mais eficiente, pois a erradicação dos fitonematoides é quase impossível quando estabelecidos na área de cultivo. Assim, o uso de material propagativo, máquinas, implementos e água isentos de patógenos é fundamental para a prevenção (FERRAZ & BROWN, 2016).

Entre as medidas de controle de fitonematoides mais comumente empregadas nos cultivos agrícolas, podem ser citadas o uso de variedades resistentes, a rotação de culturas, o cultivo de plantas antagonistas, a suplementação do solo com matéria orgânica e o controle químico (FERRAZ et al., 2010; PINHEIRO, 2017). A existência de cultivares comerciais com resistência a fitonematoides é limitada a algumas poucas espécies e apresenta potencial emergente a biótipos virulentos pelo uso contínuo de uma cultivar resistente em uma mesma área de produção (SEID et al., 2015). A utilização da rotação de culturas, apesar de eficiente na redução da população de fitonematoides, é dificultada pela ampla gama de plantas hospedeiras do gênero *Meloidogyne* (PINHEIRO, 2017). O cultivo de plantas antagonistas não tem produção de valor econômico, limitando sua aplicação pelos agricultores (FERRAZ & BROWN, 2016). Já a adição de matéria orgânica ao solo é fundamental para melhorar suas propriedades físicas, químicas e biológicas, porém com reposição em maior frequência, visto que a matéria orgânica sofre maior decomposição em solos de clima tropical e em cultivos intensivos (BARROS, 2013). O controle químico de fitonematoides é restrito a culturas agrícolas de maior valor econômico e apresenta custo relativamente alto. Além disso, proporciona o lixiviamento de substâncias tóxicas capazes de contaminar diversos organismos e lençóis freáticos (PINHEIRO, 2017).

Nas últimas décadas, a comunidade científica tem se dedicado a buscar práticas agrícolas mais sustentáveis, que conservem o meio ambiente e tragam segurança alimentar e saúde à sociedade. (SALGADO & BORGES, 2008). Nesse raciocínio, as práticas mais promissoras são a utilização do controle biológico e de nematicidas botânicos (FREITAS et al., 2010; NATALLI & CABONI, 2012). Apesar de o controle biológico ter ganho prestígio nos últimos anos, alguns dos agentes de biocontrole de fitonematoides mais eficientes apresentam certa especificidade a organismos-alvo e dependem de condições ambientais favoráveis para sua melhor atividade de controle (MOOSAVI & ZARE, 2012). Outra linha de pesquisa voltada à sustentabilidade é a utilização de nematicidas botânicos, desenvolvidos por formulações de extratos e óleos essenciais obtidos de tecidos vegetais. Essas formulações podem ainda servir como fonte para identificação e caracterização de moléculas modelo para síntese de novos produtos de baixa toxicidade (NATALLI & CABONI, 2012).

A atividade nematicida de algumas espécies de plantas já é bem conhecida (FREITAS et al., 2010), porém a maioria dos estudos é limitada apenas à avaliação do efeito nematicida/nematostático do extrato bruto de plantas, e pouquíssimos têm

avanzado na busca pela identidade das moléculas responsáveis por tais efeitos tóxicos aos fitonematoides (DEMUNER et al., 2003; SANTOS JÚNIOR et al., 2010).

O gênero botânico *Euphorbia* é conhecido por conter espécies de plantas invasoras de difícil manejo (BRIGHENTI & OLIVEIRA, 2011; TAKANO et al., 2013). Algumas espécies desse gênero são capazes de produzir compostos com efeitos alelopáticos sobre outras plantas (ABU-ROMMAN et al., 2010; SILVA et al., 2018), e apresentar ação antifúngica (DHOLE et al., 2011) e anti-helmíntica (NALULE et al., 2013). Em pesquisas envolvendo fitonematoides, a utilização de extratos brutos das espécies botânicas *E. fischeriana*, *E. hirta* e *E. heterophylla* causou mortalidade *in vitro* de 86 a 100% de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* (KHUN et al., 2015; LIU et al., 2014; OLABIYI et al. 2008). Já sobre a eclosão de J2 de *Meloidogyne* spp., o extrato aquoso de *E. hirta* apresentou inibição em até 79 % sob condições *in vitro* (ONONUJU & NZENWA, 2011). Sabe-se ainda que a espécie *E. heterophylla* é má hospedeira de *M. incognita*, raça 3, e de *M. javanica* (GIRALDELI et al., 2017).

Novos trabalhos devem explorar espécies botânicas com potencial nematicida/nematostático para descoberta e caracterização de novos compostos ativos e seu modo de ação, além de buscar o desenvolvimento de formulações que possam ser empregadas em setores agrícolas carentes de alternativas para o manejo sustentável de fitonematoides. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade nematicida de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. sobre a mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Obtenção e multiplicação do inóculo de *Meloidogyne javanica*

A população de *M. javanica* utilizada nos ensaios *in vitro* foi oriunda de tomateiros cv. Santa Clara, mantidos em casa de vegetação. Para isso, mudas de tomateiro no estágio de dois a três pares de folhas definitivas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 2 L, contendo uma mistura de solo/areia na proporção 2:1 (v v⁻¹), previamente tratada com o fumigante de solo Basamid (dazomete 908 g/kg – grupo químico: isotiocianato de metila).

Para multiplicação do inóculo, após 20 dias do transplante das mudas de tomateiros, elas foram inoculadas com, aproximadamente, 2000 J2/planta (Figura 1). As plantas foram mantidas em casa de vegetação e, após 60 dias, as raízes foram coletadas

para extração de ovos e/ou obtenção de J2, os quais foram utilizados nos ensaios descritos nos itens 3.2.3 e 3.2.4.



Figura 1. Inoculação de mudas de tomateiros cv. Santa Clara com 2000 juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* por planta.

Os ovos de *M. javanica* foram extraídos de raízes de tomateiros infectados, segundo a técnica de Boneti & Ferraz (1981). As raízes de tomateiros foram lavadas cuidadosamente em água, cortadas em fragmentos de 1 a 2 centímetros e colocadas em liquidificador doméstico com solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % de cloro ativo, trituradas na menor rotação por 20 segundos. A suspensão foi vertida em uma peneira de 200 mesh (abertura de 0,075 mm) sobreposta a uma de 500 mesh (abertura de 0,025 mm), e o resíduo da última foi recolhido em um béquer com auxílio de uma pisseta com água. A suspensão obtida foi colocada em tubos da centrífuga, com adição de uma alíquota de 5 g de caulim, e então os tubos foram centrifugados a uma rotação de 1750 rpm por 5 minutos. Decorrido o tempo, o sobrenadante foi descartado e acrescentou-se nos tubos uma solução de sacarose (454 g L⁻¹ de açúcar) por meio de jatos fortes para a

ressuspensão do resíduo contido no fundo dos tubos. Foi feita uma segunda centrifugação na mesma rotação, porém por 1 minuto. Após esse tempo, o sobrenadante foi vertido em uma peneira de 500 mesh, onde os ovos dos nematoides ficaram retidos (COOLEN & D'HERDE, 1972). Esses ovos foram recolhidos e a suspensão obtida foi quantificada com auxílio da câmara de contagem de Peters sob microscópio de fotônico.

Após a contagem, a suspensão contendo os ovos dos nematoides foi colocada em câmara de eclosão, que representa um ambiente escuro contendo solução aquosa e papel filtro, que retêm os ovos. À medida que os juvenis de segundo estágio (J2) eclodem, eles atravessam a barreira de retenção e migram para a água. Utilizou-se como câmara de eclosão um funil escuro contendo uma presilha que impede o escape da suspensão. A câmara de eclosão foi incubada em incubadora B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand – Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25 °C. Após 6 h, foi recolhida e eliminada uma pequena suspensão por causa da presença de nematoides de vida livre e juvenis de *M. javanica* em estádios avançados, para padronizar apenas ovos na câmara de eclosão. Assim, após 72 h, a suspensão contendo os J2 de *M. javanica* foi recolhida para um béquer, e os J2 quantificados em câmara de contagem de Peters sob microscópio de fotônico e calibrados para uso nos ensaios.

3.2.2 Obtenção dos compostos de *Euphorbia* sp.

Foram obtidas raízes de *Euphorbia* sp., que foram dessecadas em estufa de secagem a 40 °C por dois dias. O material seco foi triturado em liquidificador industrial e, em seguida, submetido à extração em aparelho Soxhlet por 3 h (PORTILLO et al., 2001; RODRÍGUEZ-SOLANA et al., 2014), utilizando 1,5 L de hexano, com realização em triplicata. Após a extração, o solvente foi removido em evaporador rotativo, levando à obtenção do extrato da raiz em hexano. O extrato obtido foi submetido à análise fitoquímica para identificação de compostos ativos presentes. Foram feitos os testes de Dragendorff (Jia & Tian, 2009) e de Wagner (Furr & Mahlberg, 1981) para detectar alcaloides, de Liebermann-Burchard (Silva et al., 2010) e Salkawski (Edeoga et al., 2005) para terpenos, de Keller Killian (Edeoga et al., 2005) para carboidratos, de Biureto (Layne, 1957) para proteínas e, por fim, de Shinoda (Silva et al., 2010) e Cloreto Férrico (Silva et al., 2010) para compostos fenólicos. Assim, os testes indicaram somente a presença de terpenos.

O extrato de raízes de *Euphorbia* sp. em hexano (3 g) foi fracionado por meio de uma série de separações por cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa

(Silva et al., 2010), utilizando hexano:diclorometano 1:1 (v v⁻¹), e eluídas duas vezes. Após as eluições, as placas de CCD tiveram suas laterais reveladas com solução ácida de vanilina com obtenção de 12 bandas. As bandas foram raspadas, eluídas com acetato de etila, e as três frações principais, denominadas F1: 96,4 mg, F2: 342 mg e F3: 94 mg, foram submetidas a novas etapas de fracionamento. A fração F1 foi submetida à separação por CCD preparativa, utilizando diclorometano como fase móvel, sendo obtidas duas subfrações majoritárias. As análises por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas mostraram que a fração F1.1 (15,6 mg) correspondia ao composto β -sitosterol (**C1**) e que a fração F1.2 (20 mg) correspondia a uma mistura de β -sitosterol + estigmasterol (**C1,2**). As frações F2 e F3 foram dissolvidas em etanol a quente e mantidas em repouso por 48 h. O precipitado formado foi lavado com etanol a frio e coletado. A fase líquida foi concentrada em evaporador rotativo e novamente dissolvida em etanol a quente. Esse processo foi repetido até que não fosse produzido precipitado. O sólido obtido da fração F2 foi submetido à CCD preparativa, utilizando como fase estacionária sílica gel contendo AgNO₃ a 10 % (m m⁻¹). Em cada placa, foi aplicada solução de 100 mg do precipitado em quantidade de diclorometano suficiente para dissolução. A placa foi eluída em hexano:diclorometano 1:1 (v v⁻¹), sendo obtidos acetato de lupeol (**C3**) (27,1 mg), acetato de taraxasterol (**C4**) (10,7 mg), acetato de pseudo-taraxasterol (**C5**) (10,8 mg), acetato de germanicol (**C6**) (21,9 mg) e uma mistura de acetato de α -amirina + acetato de β -amirina (**C7,8**) (26,5 mg). A amostra F3 foi reprecipitada em etanol e identificada como hexanoato de germanicol (**C9**) (29 mg).

3.2.3 Efeito dos compostos sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, in vitro

A atividade nematicida dos compostos de *Euphorbia* sp. foi avaliada em placas de 96 poços (capacidade de cada poço: 300 μ L) com fundo chato (placas do tipo Elisa). Cada poço representou uma parcela experimental e recebeu 100 μ L de suspensão aquosa, contendo, aproximadamente, 50 juvenis de segundo estágio (J2), obtidos como descrito no item 3.2.1 e 100 μ L de cada composto. A montagem dos testes nematicidas nas placas do tipo Elisa foi feita em câmara de fluxo laminar vertical (Figura 2), a fim de minimizar possíveis contaminações das amostras. Após a montagem, as placas foram seladas com plástico filme PVC e armazenadas em incubadora B.O.D. a 25 °C no escuro.

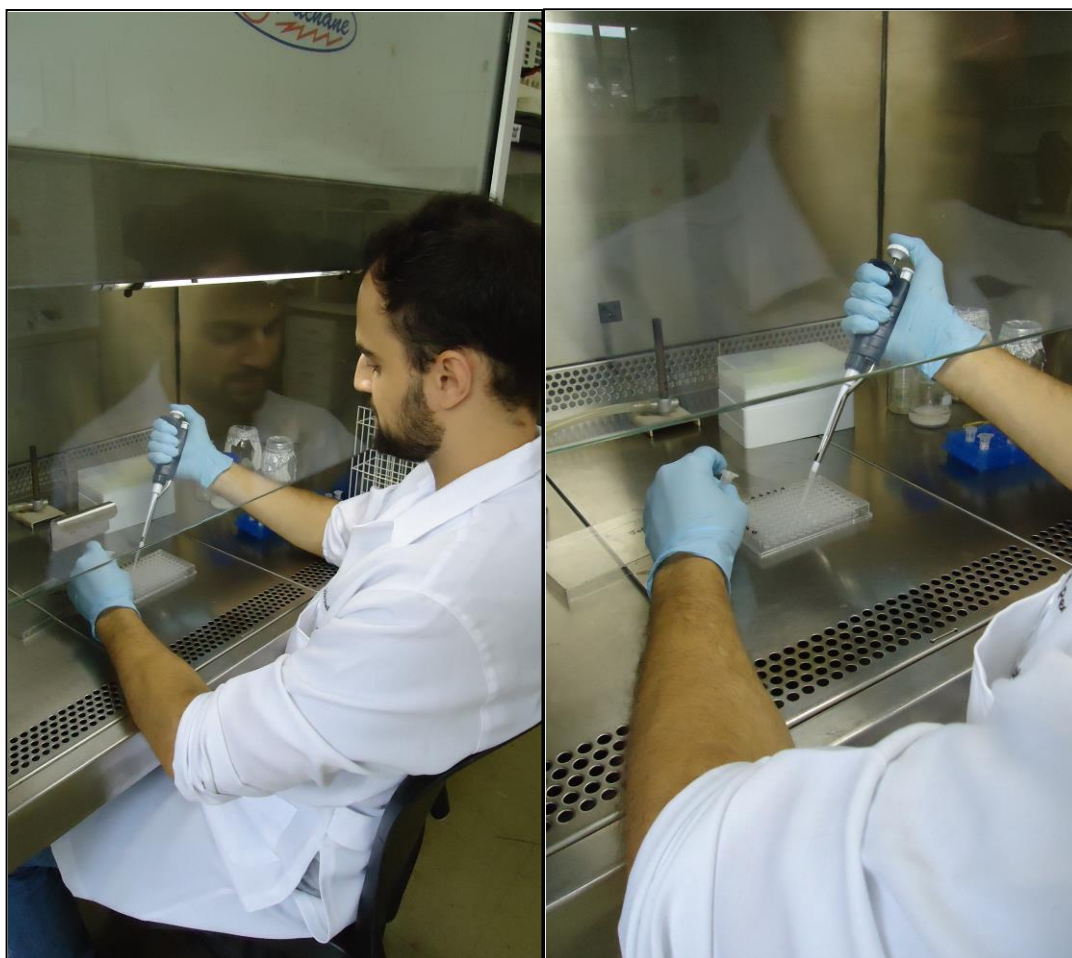


Figura 2. Montagem dos testes nematocidas em placas de 96 poços do tipo Elisa, utilizando câmara de fluxo laminar vertical.

O ensaio experimental foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa, foi avaliado o potencial nematocida de 8 compostos, Tabela 1, na concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Água destilada (autoclavada) e solução aquosa de tween 5 % (autoclavada) foram utilizadas como controles negativos, e $17,5 \text{ mg mL}^{-1}$ de Carbofuran (Sigma-Aldrich), como controle positivo. A mortalidade foi avaliada nos períodos de 24, 48 e 72 h após a aplicação dos tratamentos, utilizando uma placa do tipo Elisa para cada dia de avaliação. Foi adicionada a cada poço uma gota contendo $10 \mu\text{L}$ de solução aquosa de NaOH (1 mol L^{-1} , pH 10) para proceder à contagem dos J2 logo em seguida. Aqueles nematoides que exibiram o corpo retorcido foram considerados vivos, e os que apresentaram o corpo reto e imóvel foram classificados como mortos (CHEN & DICKSON, 2000). A avaliação foi feita com o auxílio de um microscópio de luz invertido. O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado com 11 tratamentos e 5 repetições para cada período avaliado. Todo o teste da primeira etapa foi repetido uma vez.

Tabela 1. Compostos avaliados nos testes de mortalidade e de eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, *in vitro*.

Composto	Terpeno
C1	β -sitosterol
C1,2	β -sitosterol + estigmasterol
C3	acetato de lupeol
C4	acetato de taraxasterol
C5	acetato de pseudo-taraxasterol
C6	acetato de germanicol
C7,8	acetato de α -amirina + acetato de β -amirina
C9	hexanoato de germanicol

Após, a concentração inicial de cada composto ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi diluída em quatro diferentes concentrações. Assim, a segunda etapa consistiu em avaliar diferentes concentrações dos compostos ($1,75$; $3,5$; $6,5$; $12,5$ e $25 \mu\text{g mL}^{-1}$) sobre J2 a fim de determinar as concentrações letais que matassem 50 % (CL_{50}) e 95 % (CL_{95}) da população em 24 h de incubação, seguindo a metodologia de avaliação, descrita anteriormente. Uma placa do tipo Elisa foi utilizada para cada composto com suas devidas concentrações. A solução de tween 5 % foi utilizada como controle negativo. O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 5 repetições para cada composto. Todo o teste da segunda etapa foi repetido uma vez.

3.2.4 Ensaio *in vitro* sobre a inibição da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*

Para avaliar a atividade dos compostos de *Euphorbia* sp. na inibição da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*, o ensaio experimental foi montado como descrito nos itens 3.2.3 e 3.2.5. Cada poço recebeu uma suspensão aquosa de 100 μL contendo, aproximadamente, 150 ovos extraídos segundo a técnica de Boneti & Ferraz (1981), descrita no item 3.2.1, e 100 μL de cada composto, Tabela 1, na concentração letal a 95 % (CL_{95}) dos J2, determinada como descrito no item 3.2.3.

Os controles negativos utilizados foram água destilada (autoclavada) e solução aquosa de tween 5 % (autoclavada), e o positivo foi $17,5 \text{ mg mL}^{-1}$ de Carbofuran (Sigma-Aldrich). A placa do tipo Elisa foi selada com plástico filme PVC e armazenada em incubadora B.O.D. a 25°C no escuro, durante 11 dias, com avaliação diária do número de J2 eclodidos sob um microscópio de luz invertido. O delineamento

empregado foi o inteiramente casualizado com 11 tratamentos e 5 repetições. Todo o ensaio foi repetido uma vez.

3.2.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto às premissas de homogeneidade (teste de Bartlett) e normalidade (teste de Shapiro-Wilk) para posterior análise de variância (ANOVA). Para o teste de mortalidade de J2 no período de 24 h, os dados apresentaram distribuição homogênea e normal. Assim, após a ANOVA, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5 % de significância. Contudo, as premissas não foram atendidas para os demais dados, ou seja, não apresentaram homogeneidade e normalidade. Assim, os dados de mortalidade de J2 nos períodos de 48 e 72 h e os de eclosão de J2 foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis em nível de 5 % de significância.

Para determinação das concentrações letais (CLs) de cada composto, as médias de mortalidade observadas nas diferentes concentrações foram ajustadas ao modelo de regressão da *Linear Response Plateau*. Todas as análises foram feitas no programa estatístico RStudio 1.0.136 (RSTUDIO, 2016).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Atividade dos compostos na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*

Na primeira etapa dos testes, todos os compostos terpenos foram capazes de matar mais de 95 % dos J2 de *M. javanica* em apenas 24 h de incubação, diferindo estatisticamente dos controles água destilada e tween 5 %. Apenas o acetato de taraxasterol (C4) não teve efeito equivalente ao do controle Carbofuran, mas causou mortalidade maior que 95 % (Figura 3).

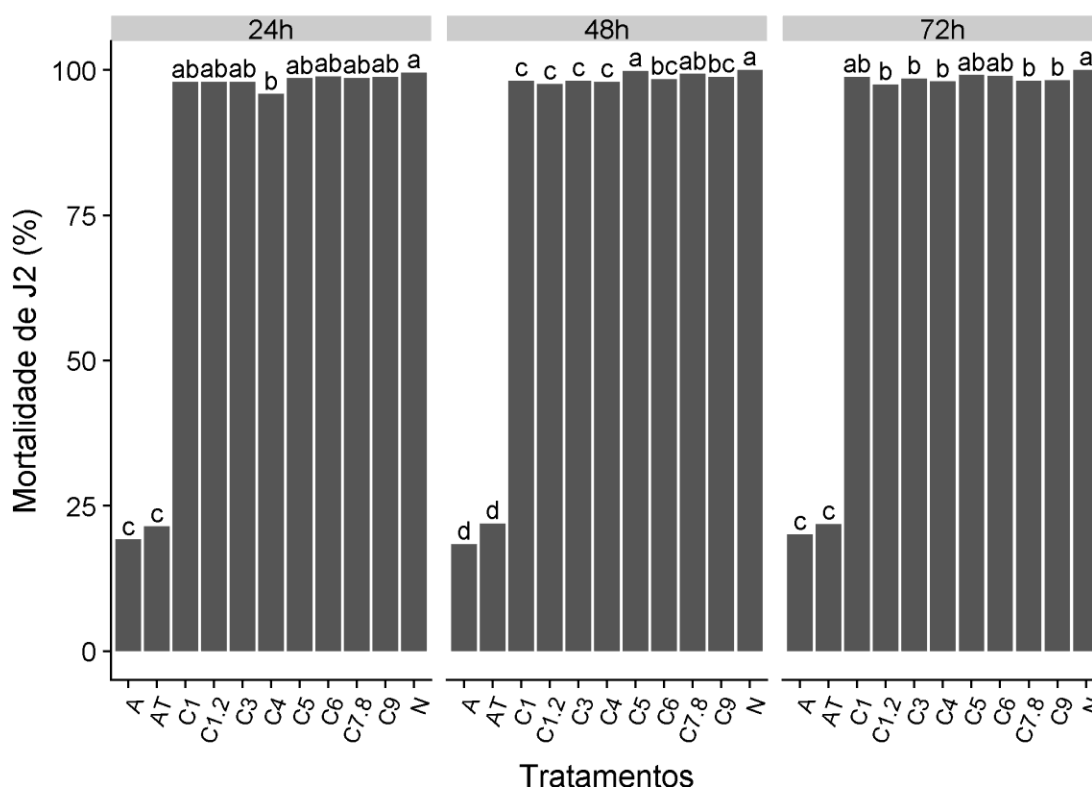


Figura 3. Atividade de terpenos purificados de *Euphorbia* sp. na mortalidade *in vitro* de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* em avaliações após 24, 48 e 72 horas após a incubação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna de 24 h não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey em 5 % de probabilidade; Médias seguidas pela mesma letra na coluna de 48 e 72 h não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis em 5 % de probabilidade; Coeficientes de variação (%) = 1,93 (24 h); 3,49 (48 h); 2,23 (72 h). A = água destilada; AT = solução de tween 5 %; N = 17,5 mg mL⁻¹ do nematicida Carbofuran; C1 = β -sitosterol; C1,2 = β -sitosterol + estigmasterol; C3 = acetato de lupeol; C4 = acetato de taraxasterol; C5 = acetato de pseudo-taraxasterol; C6 = acetato de germanicol; C7,8 = acetato de α -amirina + acetato de β -amirina; C9 = hexanoato de germanicol; Concentração de todos compostos = 25 μ g mL⁻¹.

Na literatura, são relatadas algumas pesquisas sobre avaliações de mortalidade de *Meloidogyne* spp. pela ação de terpenos. Avaliando citral, geraniol e α -terpineol, Echeverrigaray et al. (2010) relataram a inibição da mobilidade *in vitro* de J2 de *M. incognita* em mais de 80 % utilizando a concentração de 60 mg L⁻¹. Trabalhando com a mesma espécie de nematoide, Kim et al. (2014) encontraram taxas significativas de mortalidade de J2 *in vitro* causada por mentol, cânfora, borneol e α -pineno, utilizando a concentração de 100 mg L⁻¹. Em outras pesquisas, Nasiou & Giannakou (2017) relataram mais de 90 % de imobilidade de J2 de *M. javanica* após 96 h de incubação, utilizando 250 mg L⁻¹ de carvacrol. Semelhantemente, Nasiou & Giannakou (2018) encontraram mais de 98 % de imobilidade após 12 h de incubação para a mesma espécie de nematoide, porém utilizando 500 mg L⁻¹ de geraniol. Outros autores encontraram

ainda a ação nematicida sinérgica de alguns terpenos, como relatado por Ntalli et al. (2011), que encontraram potente ação *in vitro* para anetol/geraniol, anetol/eugenol, carvacrol/eugenol e geraniol/carvacrol sobre J2 de *M. incognita*. Em relação aos terpenos acetato de lupeol e β -sisterol, avaliados no presente estudo, Sultana et al. (2013) encontraram 91 % de mortalidade de J2 de *M. incognita* após 24 h de incubação, utilizando a concentração de 30 mg L⁻¹ de acetato de lupeol. Já para β -sisterol na mesma concentração, os autores relataram 69 % de mortalidade após 48 h de incubação. Assim, todos esses relatos reforçam a conhecida ação tóxica de diferentes tipos de terpenos sobre fitonematoides, confirmando o observado na presente pesquisa.

As concentrações letais (CLs) são empregadas rotineiramente em pesquisas para comparar o poder letal de compostos químicos sobre os mais diversos organismos (RATH et al., 2011). Essas concentrações representam a porcentagem de organismos que são mortos com uma concentração preestabelecida. Quanto menor seu valor, maior é a toxicidade apresentada do composto sobre o organismo. Neste estudo, foram encontradas as concentrações letais de 50 % (CL₅₀) e 95 % (CL₉₅) a J2 de *M. javanica* para todos os compostos em 24 h de incubação. Os compostos mais tóxicos aos J2 foram β -sitosterol (C1), acetato de germanicol (C6) e acetato de pseudo-taraxasterol (C5), apresentando CL₅₀ de 2,03; 2,58 e 2,85 μ g mL⁻¹, respectivamente. Porém, de maneira geral, todos os compostos terpenos avaliados apresentaram baixas CL₅₀ (Tabela 3). Após obter a função *Plateau* para cada composto, nota-se que, a partir de determinado ponto (Fx), não há mais efeito de concentração dependente, ou seja, com o aumento das concentrações, não há progresso de mortalidade dos nematoides, com tendência à estabilização da taxa de mortalidade (Tabela 2; Figura 4).

Avaliando o potencial *in vitro* de 34 terpenoides sobre a mortalidade do nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans*, Abdel-Rahman et al. (2013) relataram os terpenos carvacrol, timol, nerolidol, α -terpineno, geraniol, citrionelol, farnesol, limoneno, pseudoionone e eugenol como os mais eficazes, com concentrações letais de 50 % (CL₅₀) de 3 a 30 μ g mL⁻¹ após 24 h de incubação. Em estudos envolvendo fitonematoides, Ntalli et al. (2010) relataram *in vitro* a atividade nematicida decrescente dos terpenos L-carvone, pulegona, anetol, geraniol, eugenol, carvacrol, timol e 4-terpineol sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita*, com CL₅₀ de 115 a 392 μ g mL⁻¹ após 24 h de incubação. Em estudo com a mesma espécie de nematoide, Bai et al. (2011) encontraram distintas CL₅₀ para ascaridol e isoascaridol, com 32,79 e 1323,51 μ g mL⁻¹, respectivamente, para os J2 com 24 h de incubação *in vitro*.

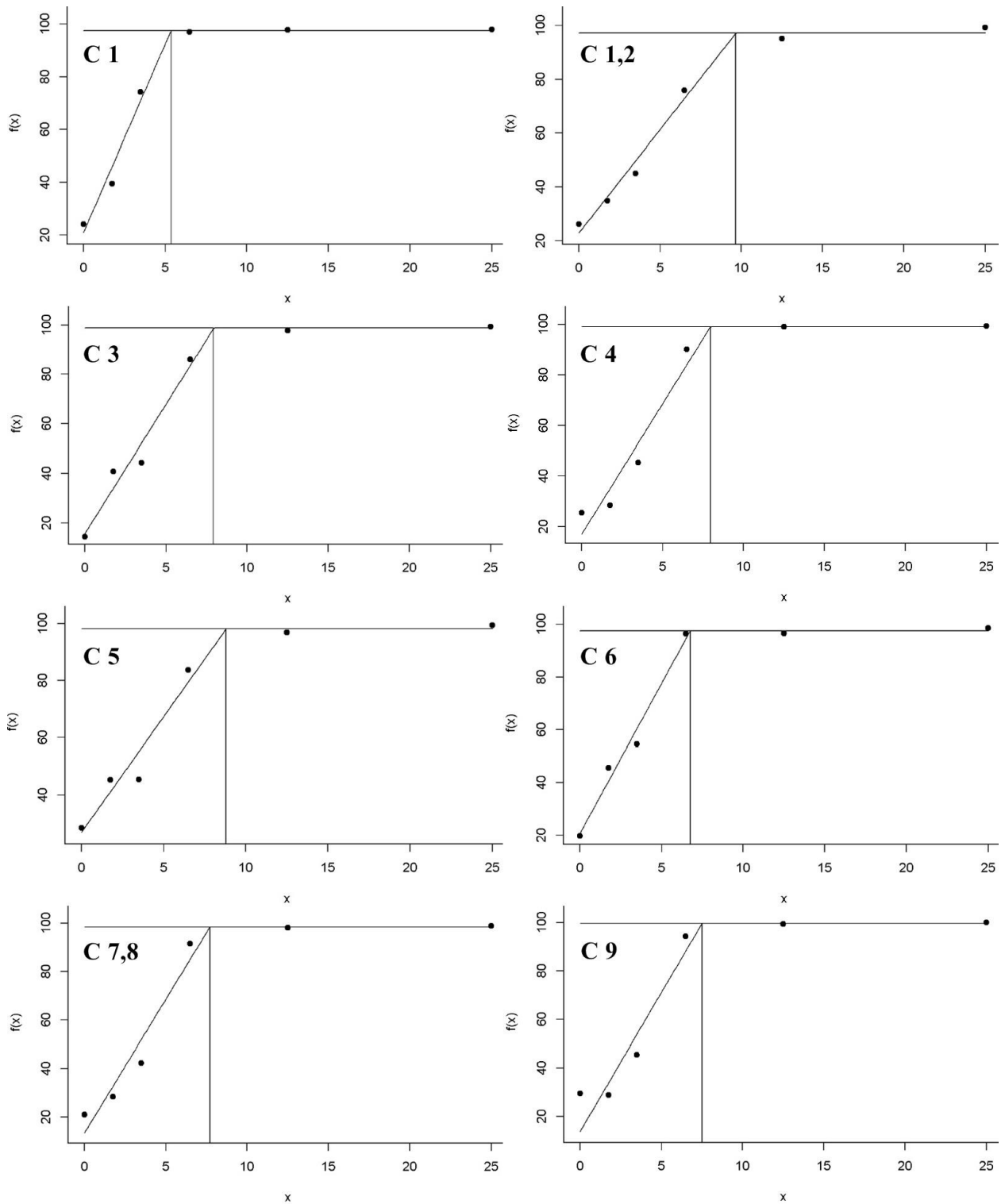


Figura 4. Análise de regressão da *Linear Response Plateau* para determinação das concentrações letais (CL_{50} e CL_{95}) a juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, após 24 horas de incubação. Concentrações usadas para dispersão dos pontos no gráfico: 0; 1,75; 3,5; 6,5; 12,5 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. C1 = β -sitosterol; C1,2 = β -sitosterol + estigmasterol; C3 = acetato de lupeol; C4 = acetato de taraxasterol; C5 = acetato de pseudo-taraxasterol; C6 = acetato de germanicol; C7,8 = acetato de α -amirina + acetato de β -amirina; C9 = hexanoato de germanicol.

Tabela 2. Dados da *Linear Response Plateau* para determinação das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₅) a juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, após 24 horas de incubação.

Compostos	X Plateau	F(X) Plateau	Função Plateau
C 1	5,36	97,61	$y = 20,9 + 14,31 \cdot x$
C 1,2	9,65	97,17	$y = 22,88 + 7,69 \cdot x$
C 3	7,92	98,51	$y = 15,71 + 10,45 \cdot x$
C 4	7,97	99,29	$y = 17,02 + 10,33 \cdot x$
C 5	8,80	98,12	$y = 26,93 + 8,09 \cdot x$
C 6	6,76	97,61	$y = 20,62 + 11,38 \cdot x$
C 7,8	7,71	98,42	$y = 13,49 + 11,02 \cdot x$
C 9	7,49	99,63	$y = 13,89 + 11,44 \cdot x$

X= concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) máxima estável do composto sobre J2 de *M. javanica*, após 24 h de incubação; F(X) = mortalidade (%) máxima estável de J2 de *M. javanica*, após 24 h de incubação; C1 = β -sitosterol; C1,2 = β -sitosterol + estigmasterol; C3 = acetato de lupeol; C4 = acetato de taraxasterol; C5 = acetato de pseudo-taraxasterol; C6 = acetato de germanicol; C7,8 = acetato de α -amirina + acetato de β -amirina; C9 = hexanoato de germanicol.

Tabela 3. Concentrações letais (CL₅₀, CL₉₅) dos terpenos purificados de *Euphorbia* sp. a juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, após incubação por 24 horas.

Compostos	CL ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CL ₉₅ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
C 1	2,03	5,18
C 1,2	3,52	9,37
C 3	3,28	7,59
C 4	3,19	7,55
C 5	2,85	8,41
C 6	2,58	6,53
C 7,8	3,31	7,4
C 9	3,16	7,1

C1 = β -sitosterol; C1,2 = β -sitosterol + estigmasterol; C3 = acetato de lupeol; C4 = acetato de taraxasterol; C5 = acetato de pseudo-taraxasterol; C6 = acetato de germanicol; C7,8 = acetato de α -amirina + acetato de β -amirina; C9 = hexanoato de germanicol.

No teste de mortalidade, foram observadas alterações internas e formações de grânulos dentro do corpo dos J2 de *M. javanica* quando tratado com os terpenos (Figura 5D; Figura 6). Essas mesmas observações foram relatadas por Li et al. (2013), que isolaram 31 saponinas triterpênicas e avaliaram *in vitro* a ação sobre J2 de *M. incognita*.

Todavia, sabe-se que o modo de ação de terpenos sobre as células eucariotas está relacionado com a citotoxicidade, danificação de organelas e membrana celular, e produção de espécies reativas de oxigênio (BAKKALI et al., 2008). Tal afirmação pode explicar a ação dos compostos utilizados nestes ensaios, visto terem afetado a estrutura da interna dos J2 de *M. javanica*.

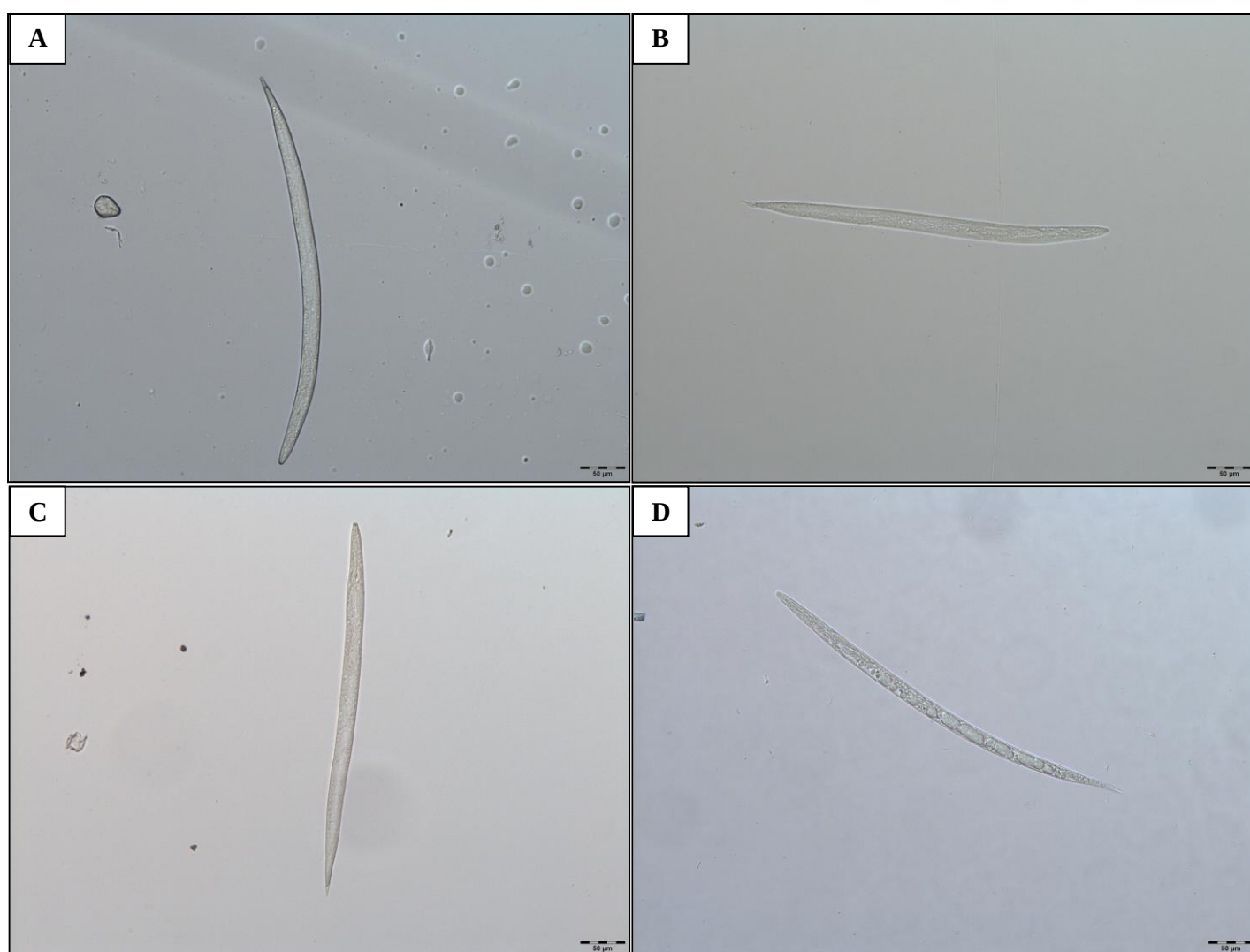


Figura 5. Estrutura do corpo dos juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* tratados, após 24 horas de incubação. **A)** Água destilada; **B)** Solução aquosa de tween 5 %; **C)** 17,5 mg mL⁻¹ de Carbofuran; **D)** 5,18 µg mL⁻¹ de β-sitosterol (C1); Barra de escala = 50 µm.



Figura 6. Alterações internas e formações de grânulos no corpo de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* quando tratados com os terpenos purificados de *Euphorbia* sp.; Barra de escala = 20 µm.

3.3.2 Atividade dos compostos na inibição da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*

Todos os compostos diminuíram a taxa de eclosão de J2 em comparação aos controles negativos. Os compostos β -sitosterol (C1), β -sitosterol + estigmasterol (C1,2), acetato de taraxasterol (C4), acetato de pseudo-taraxasterol (C5) e hexanoato de germanicol (C9) não diferiram estatisticamente do Carbofuran e tiveram elevada redução da taxa de eclosão de J2 (Tabela 4).

Tabela 4. Número cumulativo de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* eclodidos em ensaios *in vitro* utilizando terpenos purificados de *Euphorbia* sp., em avaliações cumulativas até o 11º dia de incubação.

Tratamentos	Número de J2 eclodidos		P.R. (%)	
			Água	Tween 5 %
Água	120,4	d		-
Tween 5 %	111,6	d	-	
Carbofuran	1,8	a	98,5	98,4
C 1	13,0	abc	89,2	88,4
C 1,2	9,0	abc	92,5	91,9
C 3	33,4	c	72,3	70,1
C 4	4,4	ab	96,3	96,1
C 5	20,6	abc	82,9	81,5
C 6	22,0	bc	81,7	80,3
C 7,8	22,2	bc	81,6	80,1
C 9	15,8	abc	86,9	85,8
C.V. (%)	48,06			

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis em 5 % de probabilidade; P.R. = Percentagem de redução em relação à água e à solução aquosa de tween 5 %. C.V. = Coeficiente de variação; Carbofuran = 17,5 mg mL⁻¹; C1 = 5,18 µg mL⁻¹ de β -sitosterol; C1,2 = 9,37 µg mL⁻¹ de β -sitosterol + estigmasterol; C3 = 7,59 µg mL⁻¹ de acetato de lupeol; C4 = 7,55 µg mL⁻¹ de acetato de taraxasterol; C5 = 8,41 µg mL⁻¹ de acetato de pseudo-taraxasterol; C6 = 6,53 µg mL⁻¹ de acetato de germanicol; C7,8 = 7,4 µg mL⁻¹ de acetato de α -amirina + acetato de β -amirina; C9 = 7,1 µg mL⁻¹ de hexanoato de germanicol.

Avaliando a atividade de terpenos como mentol, cânfora, borneol e α -pineno sobre a eclosão de J2 de *M. incognita*, Kim et al. (2014) encontraram redução de 82, 72, 63 e 44 % em comparação ao controle, respectivamente, utilizando a concentração de 100 mg L⁻¹ em avaliação durante 10 dias de incubação.

Outros estudos, como de Nasiou & Giannakou (2017), relataram taxas de redução da eclosão de J2 de *M. javanica* de 50, 60, 70 e 84 %, utilizando 250, 125, 500 e 1000 mg L⁻¹ de carvacrol, respectivamente, em avaliação semanal por 35 dias. Utilizando a mesma espécie de nematoide e metodologia de avaliação, Nasiou & Giannakou (2018) observaram redução de 50, 55, 68 e 78 % de eclosão de J2 para as doses de 125, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹ de geraniol, respectivamente. Todos esses resultados reforçam a constatação da ação tóxica de diferentes terpenos sobre fitonematoides, confirmando os resultados observados no presente estudo.

No ensaio de avaliação da eclosão de J2 de *M. javanica*, foram observadas irregularidades na estrutura interna, com formações de grânulos dentro do ovo do nematoide quando tratado com os terpenos (Figura 7A). Notou-se que, para alguns compostos como o acetato de taraxasterol (C4), ocorreu a morte do J2 logo após sua eclosão, com posteriores alterações no interior do seu corpo (Figura 7B). Uma vez que terpenos afetam a permeabilidade da membrana citoplasmática de microrganismos (BAKKALI et al., 2008), pode-se sugerir esta ação de inibição da eclosão de J2 de *M. javanica* pelos compostos utilizados neste trabalho.



Figura 7. Tratamento de *Meloidogyne javanica* com $7,55 \mu\text{g mL}^{-1}$ de acetato de taraxasterol (C4). **A)** Estrutura do ovo após 24 h de incubação; Barra de escala = 20 μm ; **B)** Eclosão e morte subsequente do juvenil de segundo estágio (J2); Barra de escala = 50 μm .

Os terpenos são compostos que apresentam potencial em estudos envolvendo nematicidas naturais (ZOU et al., 2012). Estes compostos químicos apresentam facilidade no processo de extração, considerável rendimento e podem servir ainda como molécula modelo para o desenvolvimento de derivados comerciais com atividade nematicida (ANDRÉS et al., 2012). Nesse sentido, mais pesquisas devem ser empreendidas na avaliação do potencial nematicida desses terpenos em condições de casa de vegetação e no desenvolvimento de formulações à base de extratos ricos nesses compostos, que possam ser empregados no manejo de *Meloidogyne* spp.

3.4 Conclusão

Todos os compostos terpenos purificados de *Euphorbia* sp. analisados têm efeito nematicida nas condições *in vitro*.

3.5 Referências bibliográficas

ABEL-RAHMAN, F. H.; ALANIZ, N. M.; SALEH, M. A. Nematicidal activity of terpenoids. **Journal of Environmental Science and Health: Part B**, v. 48, n. 1, p. 16-22, 2013.

ABU-ROMMAN, S.; SHATNAWI, M.; SHIBLI, R. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 7, n. 3, p. 298-302, 2010.

ANDRÉS, M. F.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; SANZ, J.; BURILLO, J.; SAINZ, P. Nematicidal activity of essential oils: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 4, p. 371-390, 2012.

BAI, C. Q.; LIU, Z. L.; LIU, Q. Z. Nematicidal constituents from the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* aerial parts. **E-Journal of Chemistry**, v. 8, p. 143-148, 2011.

BARROS, J. D. S. Contribuições da matéria orgânica do solo para mitigar as emissões agrícolas de gases de efeito estufa. **Polêmica**, v. 12, n. 2, p. 342-351, 2013.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BELOT, L. J.; GALBIERI, R. Os nematoides fitoparasitas no cultivo algodoeiro. In: GALBIERI, R.; BELOT, L. J. (Eds.). **Nematoides Fitoparasitas do Algodoeiro nos Cerrados Brasileiros: biologia e medidas de controle**. Cuiabá: IMAmt, 2016, p. 9-10. (Boletim de P&D).

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

BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, M. F. Biologia de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. cap. 1, p. 1-36.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique of determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, n. 1, p. 117-121, 2000.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue**. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77 p.

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.

DHOLE, J. A.; DHOLE, N. A.; LONE, K. D.; BODKE, S. S. Preliminary phytochemical analysis and antimicrobial activity of some weeds collected from Marathwada region. **Journal of Research in Biology**, v. 1, n. 2, p. 19-23, 2011.

ECHEVERRIGARAY, S.; ZACARIA, J.; BELTRÃO, R. Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**, v. 100, n. 2, p. 199-203, 2010.

EDEOGA, H. O.; OKWU, D. E.; MBAEBIE, B. O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 685-688, 2005.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de Plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.

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

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides. In: AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. v. 1, cap. 13, p. 195-211.

FURR, M.; MAHLBERG, P. G. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products**, v. 44, n.2, p. 153-159, 1981.

GIRALDELI, A. L.; SAN GREGORIO, J. P. R.; MONQUERO, P. A.; AGUILLERA, M. M.; RIBEIRO, N. M. Weeds hosts of nematoides in sugarcane culture. **Revista Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, v. 35, 2017.

JIA, Z.; TIAN, C. Quantitative determination of polyethylene glycol with modified dragendorff reagent method. **Desalination**, v. 247, n. 1-3, p. 423-429, 2009.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.

KIM, S-II.; LEE, J-K.; NA, Y-E.; YOON, S. T.; OH, Y. J.; Nematicidal and ovicidal activities of *Dryobalanops aromatica* and *Mentha haplocalyx* var. *piperascens*-derived materials and their formulations against *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles and eggs. **Nematology**, v. 16, n. 2, p. 193-200, 2014.

LAYNE, E. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. (Eds.). **Methods in Enzymology**. New York: Academic Press, 1957. v. 3, cap. 73, p. 447-454.

LI, W.; SUN, Y. N.; YAN, X. T.; YANG, S. Y.; LEE, S. J.; BYUN, H. J.; MOON, C. S.; HAN, B. S.; KIM, Y. H. Isolation of nematocidal triterpenoid saponins from *Pulsatilla koreana* root and their activities against *Meloidogyne incognita*. **Molecules**, v. 18, n. 5, p. 5306-5316, 2013.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (Eds.). **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. cap. 1, p. 1 – 13.

LIU, X. C.; ZHOU, L.; LIU, Z. L. Evaluation of nematocidal activity of etanol extracts of Euphorbiaceae plants and constituents from *Euphorbia fischeriana* to *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 2, n. 4, p. 311-317, 2014.

MACHADO, A. C. Z. Praga custa R\$ 35 bilhões ao agronegócio brasileiro. **Revista Agrícola**, p. 12-13, 2015,

MOOSAVI, M. R.; ZARE, R. Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. In: MÉRILLON, J. M.; KISHAN, G. R. (Eds.). **Plant Defense: Biological Control**. Dordrecht/Heidelberg/London New/York: Springer, 2012. p. 67-107.

NALULE, A. S.; MBARIA, J. M.; KIMENJU, J. W. *In vitro* anthelmintic potencial and phytochemical composition of ethanolic and water crude extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 43, p. 3202-3210, 2013.

NASIOU, E.; GIANNAKOU, I. O. Effect of geraniol, a plant-based alcohol monoterpene oil, against *Meloidogyne javanica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 152, n. 3, p. 701-710, 2018.

NASIOU, E.; GIANNAKOU, I. O. The potencial use of carvacrol for the control of *Meloidogyne javanica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, n. 2, p. 415-424, 2017.

NTALLI, N. G.; CABONI, P. Botanical nematicides: a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 60, n. 40, p. 9929-9940, 2012.

NTALLI, N. G.; FERRARI, F.; GIANNAKOU, I.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U. Phytochemistry and nematocidal acitivity of the essential oils from 8 greek Lamiaceae aromatic plants and 13 terpene components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7856-7863, 2010.

NTALLI, N. G.; FERRARI, F.; GIANNAKOU, I.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematocidal activity of essential oils from seven plants indiginous to Greece. **Pest Management Science**, v. 67, n. 3, p. 341-351, 2011.

OLABIYI, T. I.; OYEDUNMADE, E. E. A.; IBIKUNLE, G. J.; OJO, O. A. Chemical composition and bio-nematicidal potential of some weeds extracts on *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. **Journal of Plant Science and Research**, v. 1, n. 2, p. 30-35, 2008.

ONONUJU, C. C.; NZENWA, P. O. Nematicidal effects of some plants extracts on egg hatchability and control of *Meloidogyne* spp. in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 3, p. 176-182, 2011.

PINHEIRO, J. B. **Nematoides em Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2017. 194 p.

PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAR, S. Antifungal activity of paraguay plants used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 1, p. 93-98, 2001.

RODRÍGUEZ-SOLANA, R.; SALGADO, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M.; CORTÉS-DIÉGUEZ, S. Characterization of fennel extracts and quantification of estragole: optimization and comparison of accelerated solvent extraction and soxhlet techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 528-536, 2014.

RATH, S.; SAHU, M. C.; DUBEY, D.; DEBATA, N. K.; PADHY, R. N. Which value should be used as the lethal concentration 50 (LC₅₀) with bacteria? **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, v. 3, n. 2, p. 138-143, 2011.

RSTUDIO, T. **RStudio: integrated development environment for R**. Boston: MARStudio, Inc., 2016. Disponível em: <<http://www.rstudio.com/>>.

SALGADO, S. M. L.; BORGES, J. Controle alternativo de fitonematoides. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Avanços no Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG, 2008. cap. 10, p. 179-206.

SANTOS JÚNIOR, H. M.; TIRELLI, A. A.; CARVALHO, H. W. P.; OLIVEIRA, D. F.; PRADO, N. R. T.; CAMPOS, V. P. Purificação do flavonoide trans-tilirosídeo do extrato metanólico das folhas de *Gochnatia barrosii* Cabrera (Asteraceae) e avaliação da sua atividade nematicida. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1224-1231, 2010.

SEID, A.; FININSA, C.; MAKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL, W. M. L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) – century-old battle. **Nematology**, v. 17, n. 9, p. 995-1009, 2015.

SHAH, M. M.; MAHAMOOD, M. Introductory chapter: nematodes – a lesser known group of organisms. In: SHAH, M. M.; MAHAMOOD, M. (Eds.). **Nematology – concepts, diagnosis and control**. Croatia: InTech, 2017. cap. 1, p. 3-18.

SILVA, U. P.; FURLANI, G. M.; DEMUNER, A. J.; SILVA, O. L. M.; VAREJÃO, E. V. V. Allelopathic activity and chemical constituents of extracts from roots of *Euphorbia heterophylla* L. **Natural Products Research**, v. 1, p. 1-4, 2018.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamun, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, p. 1-17, 2010.

SULTANA, N.; AKHTER, M.; SAIFY, Z. S.; KHATOON, Z.; MAHMOOD-UI-HASAN; QAZI, M. S.; ALI, Y. Isolation and structure determination of nematicidal iridoid sweroside from *Alstonia scholaris*. **Journal of Entomology and Nematology**, v. 5, n. 2, p. 19-23, 2013.

TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D. F.; FRANCHINI, L. H. M.; BRAZ, G. B. P.; RIOS, F. A.; GHENO, E. A.; GEMELLI, A. Efeito da adição do 2,4-D ao glyphosate para o controle de espécies de plantas daninhas de difícil controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n.1, p. 1-13, 2013.

ZHOU, L. WANG, J.; WANG, K.; XU, J.; ZHAO, J.; SHAN, T.; LUO, C. Secondary metabolites with antinematodal activity from higher plants. In: RAHMAN, A. (Ed.). **Studies in Natural Products Chemistry**. Oxford: Elsevier, 2012. v. 37, cap. 3, p. 67-114.