

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

CARLA ROSANE KOSMANN

**CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO COM
EXTRATO DE SEMENTE DE ABACATE**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

CARLA ROSANE KOSMANN

**CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO COM
EXTRATO DE SEMENTE DE ABACATE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientador: Dr. José Renato Stangarlin

Coorientador: Dr. Odair José Kuhn

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

K86c

Kosmann, Carla Rosane

Controle de *Meloidogyne incognita* em genótipos de tomateiro com extrato de semente de abacate. Carla Rosane Kosmann. Marechal Cândido Rondon, 2016.

47 p.

Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

Coorientador: Prof. Dr. Odair José Kuhn

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Agronomia

1. Controle alternativo. 2. Hidrogel. 3. Motilidade. 4. Mortalidade. 5. Nematóide de galhas. 6. *Persea americana*. I. Stangarlin, José Renato. II. Kuhn, Odair José. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 632.65182

CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

CARLA ROSANE KOSMANN

**CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO
COM EXTRATO DE SEMENTE DE ABACATE**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual do Oeste do
Paraná, como parte das exigências
do Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, para obtenção do título
de Magister Scientiae.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2016

Prof. Dr. Odair José Kuhn
(Coorientador)
(UNIOESTE)

Prof. Dr. Roberto Luis Portz
(UFPR)

Prof. Dr. José Renato Stangarlin
(Orientador)
(UNIOESTE)

Dedico este trabalho aos meus pais Helga e Agostinho,
à minha irmã Daniela, e ao meu orientador Dr. José Renato Stangarlin.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades encontradas.

À minha família, minha mãe Helga, meu pai Agostinho e minha irmã Daniela, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu professor e orientador Dr. José Renato Stangarlin pela oportunidade, ensinamentos, incentivo e amizade. Agradeço-lhe a confiança demonstrada e suas preciosas críticas e sugestões.

Ao professor Dr. Odair José Kuhn pela coorientação, contribuição para a realização deste trabalho e pelos seus conhecimentos repassados durante toda a minha jornada.

Às minhas colegas e amigas Daiana Karolina Kaiser, Katia Kabroski Andrioli e Laura Cristina Nascimento de Freitas, que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho e estiveram sempre presentes, compartilhando todos os momentos, sejam eles felizes ou tristes.

Aos meus amigos de mestrado, em especial Marcelo Gonçalves dos Santos, Jaqueline Vanelli, Pablo Wenderson Ribeiro Coutinho e Aline Kelly Pomini de Souza, com os quais tive uma maior convivência. Agradeço-lhes a amizade e o companheirismo.

Aos amigos (as) e colegas dos laboratórios de Nematologia e Fitopatologia da UNIOESTE, Marta Bianchini, Tulya Fernanda Webler, Eloisa Lorenzetti, Bruna Broti Rissato, Danielle Mattei, Nicanor Pilarski Henkemeier, Emanuele Guandalin Dal'Maso, Anderson Luis Heling, Jeferson Carlos Carvalho, Luciano Stefanello, Sidiane Coltro-Roncato, Edilaine Della Valentina Gonçalves e Omari Dangelo Forlin Dildey, e a todos que de alguma forma estiveram presentes nestes dois anos.

Aos professores da UNIOESTE pelos ensinamentos ministrados, me proporcionando um maior conhecimento.

À CAPES pela bolsa de estudos concedida.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

KOSMANN, Carla Rosane, M. Sc., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Fevereiro – 2016. **Controle de *Meloidogyne incognita* em genótipos de tomateiro com extrato de semente de abacate.** Orientador: Dr. José Renato Stangarlin. Coorientador: Dr. Odair José Kuhn.

Os nematoides das galhas são patógenos de grande importância econômica para várias culturas, como o tomateiro, por promoverem redução da produtividade. Métodos de controle com a utilização de extratos vegetais vem ganhando ênfase por apresentarem compostos nematocidas e indutores de resistência. O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiros suscetível e resistente, tratados com extratos de sementes de abacate (*Persea americana* Mill.), veiculado em hidrogel. Para a obtenção do extrato, sementes de abacate foram cortadas e deixadas em metanol por 24 h, e passadas por duas filtragens à vácuo. A solução obtida foi roto-evaporada e ressuspensa em água destilada contendo Tween 80 (0,6%), obtendo-se as concentrações de 100, 200, 400, 800 e 1.000 mg L⁻¹ dos extratos de coloração vermelha (EV) e marrom (EM). O tratamento controle foi representado por água destilada + Tween 80 (0,6%). Foram avaliadas a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) e a motilidade e mortalidade de J2. A partir dos resultados *in vitro*, selecionou-se a concentração mais eficiente no controle do nematoide, incorporando-a em hidrogel, que foi posteriormente seco em estufa. Após, diferentes doses deste material (0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 g cova⁻¹) foram adicionadas às covas realizadas para o transplante dos tomateiros. Três dias após o transplante ocorreu a inoculação com 2.067 ovos e J2 de *M. incognita*. Após 30 dias da inoculação foram avaliados: teor relativo de clorofila (índice SPAD), volume total de raiz, número de galhas e de massas de ovos, viabilidade das massas de ovos, número de ovos e J2 por sistema radicular e por 100 cm³ de solo. Com os dados obtidos deste ensaio em casa de vegetação, um novo experimento foi realizado, a partir da dose que proporcionou o melhor controle do nematoide. Esta foi então adicionada às covas contendo diferentes concentrações do extrato (0, 1.000, 2.000, 4.000, 6.000, e 8.000 mg L⁻¹) no hidrogel. Passados 30 dias da inoculação com 2.184 ovos e J2 de *M. incognita*, foram realizadas as mesmas avaliações descritas anteriormente. Para os ensaios *in vitro*, o aumento da concentração dos extratos

promoveu uma diminuição dos J2 eclodidos, sendo a concentração de 1.000 mg L⁻¹ do EV, a mais efetiva nesta redução. Quanto à motilidade e mortalidade de J2, estas não foram afetadas pelas diferentes concentrações dos extratos. *In vivo*, referente ao primeiro ensaio, a dose de 1,0 g cova⁻¹ proporcionou maior redução deste fitonematoide em plantas suscetíveis, sendo, portanto, a escolhida para a incorporação nas covas dos tomateiros do segundo ensaio. Neste, a concentração de 8.000 mg L⁻¹ foi a que proporcionou o controle mais eficaz de *M. incognita*.

Palavras-chave: Controle alternativo. Hidrogel. Motilidade. Mortalidade. Nematóide das galhas. *Persea americana*.

ABSTRACT

KOSMANN, Carla Rosane, M. Sc., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, February – 2016. **Control of *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes with avocado seed extract.** Advisor: Dr. José Renato Stangarlin. Co-Advisor: Dr. Odair José Kuhn.

The root-knot nematodes are pathogens of great economic importance for many crops, as tomato, for promoting a reduction in crop productivity. Thus, control methods are required and the use of plant extracts is gaining emphasis due their compounds with nematicide and resistance induction properties. The objective of this work was evaluate the control of *Meloidogyne incognita* in susceptible and resistant tomato plants treated with avocado seed extract (*Persea americana* Mill.) incorporated into the hydrogel. To obtain the extract, avocado seeds were cut and left in methanol for 24 h and passed through two vacuum filtering. The obtained solution was evaporated on a rotary evaporator and resuspended in distilled water containing Tween 80 (0.6%) to give concentrations of 100, 200, 400, 800 and 1.000 mg L⁻¹ of red color (RE) and brown color (BE) extract. The control treatment was distilled water + Tween 80 (0.6%). Hatching of juvenile second stage (J2) and motility and mortality of J2 were evaluated. From the *in vitro* results, we selected the most efficient concentration in controlling nematode, incorporating the hydrogel and dried in an oven. Then, this material at different doses (0; 0.1; 0.25; 0.5; 0.75 and 1.0 g pit⁻¹) were added to the soil before the transplantation of the tomato. Three days after transplanting was made the inoculation with 2.067 eggs and J2 of *M. incognita*. Thirty days after inoculation were evaluated: relative chlorophyll content (SPAD index), total volume of root, number of galls and eggs mass, viability of the egg mass, number of eggs and J2 per root and 100 cm³ of soil. With the data obtained from this test in a greenhouse, a new experiment was carried out from the dose that provided the best control of the nematode. This was then added to extract pits containing different concentrations (0, 1.000, 2.000, 4.000, 6.000, and 8.000 mg L⁻¹) in the hydrogel. After 30 days of inoculation with 2.184 eggs and J2 of *M. incognita*, there were the same described above ratings. For *in vitro* assays, the extracts promoted a reduction of J2 hatched, with the concentration of 1.000 mg L⁻¹ of RE, the most effective in this

reduction. The mobility and mortality of J2 were not affected by different concentrations of the extracts. *In vivo*, referring to the first assay, the dose of 1.0 g pit⁻¹ controlled the nematode in susceptible plants, and therefore was chosen for use in the second assay. In this latter, the concentration of 8.000 mg L⁻¹ was the most effective to control *M. incognita*.

Keywords: Alternative control. Hydrogel. Motility. Mortality. Root-knot nematode. *Persea americana*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Cortes das regiões perineais de fêmeas maduras de *Meloidogyne incognita*, observados em microscópio óptico. Fonte: a autora.....10
- Figura 2 - Ecloração de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* nas diferentes concentrações dos extratos de abacate, após 15 dias de incubação. EV: extrato de coloração vermelha (○); EM: extrato de coloração marrom (◇).....18
- Figura 3 - Efeito das diferentes doses do hidrogel contendo o extrato de abacate de coloração vermelha (EV), em tomateiros suscetível (◇) (Santa Cruz Kada) e resistente (○) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*. Variáveis analisadas: número de galhas (NG) (A); número de massas de ovos (NMO) (B); viabilidade das massas de ovos avaliada por meio do número de juvenis de segundo estágio (J2) eclodidos (C); número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) em 100 cm³ de solo (D).....22
- Figura 4 - Efeito das diferentes concentrações do extrato de abacate de coloração vermelha (EV) contido no hidrogel, usado na dose de 1,0 g cova⁻¹, em tomateiros suscetível (◇) (Santa Cruz Kada) e resistente (○) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*. Variáveis analisadas: número de galhas (NG) (A); número de massas de ovos (NMO) (B); número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) no sistema radicular (SR) (C) e em 100 cm³ de solo (D).....26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Eclosão *in vitro* de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em diferentes concentrações de dois tipos de extratos de abacate.....18

Tabela 2 - Médias das variáveis número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), viabilidade das massas de ovos avaliada por meio do número de juvenis de segundo estágio (J2) eclodidos, e número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) em 100 cm³ de solo, sob a influência das duas variedades de tomateiros suscetível (S) (Santa Cruz Kada) e resistente (R) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*, quando submetidas às diferentes doses do hidrogel contendo os extratos da semente de abacate.....23

Tabela 3 - Médias das variáveis número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), e número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) no sistema radicular (SR) e em 100 cm³ de solo, sob a influência das duas variedades de tomateiros suscetível (S) (Santa Cruz Kada) e resistente (R) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*, quando submetidas às diferentes concentrações do extrato da semente de abacate contidas no hidrogel.....27

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1	CULTURA DO TOMATEIRO.....	3
2.2	NEMATOIDES DO GÊNERO <i>MELOIDOGYNE</i>	3
2.3	CONTROLE DE NEMATOIDES.....	5
2.3.1	Uso de Extratos Vegetais Como Controle Alternativo de Nematoides.....	6
2.3.1.1	<i>Persea americana</i> (Mill)	7
2.4	VEÍCULOS	8
3.	MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1	LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	9
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	9
3.3	OBTENÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE <i>M. INCOGNITA</i>	10
3.4	MULTIPLICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE <i>M. INCOGNITA</i>	10
3.5	PREPARO DO INÓCULO	11
3.6	ENSAIOS <i>IN VITRO</i>	11
3.6.1	Obtenção Dos Extratos Brutos da Semente de Abacate	11
3.6.2	Eclosão de Juvenis de <i>M. incognita</i> em Função Das Diferentes Concentrações Dos Extratos	12
3.6.3	Motilidade e Mortalidade de Juvenis de <i>M. incognita</i> em Função Das Diferentes Concentrações Dos Extratos	12
3.7	ENSAIO 1 EM CASA DE VEGETAÇÃO	13
3.7.1	Preparo do Hidrogel Contendo o Extrato de Abacate.....	13
3.7.2	Semeadura e Inoculação de <i>M. incognita</i> em Tomateiros.....	14
3.7.3	Avaliação Dos Tomateiros em Função Das Diferentes Doses do Hidrogel Contendo os Extratos	14
3.7.3.1	Avaliação do Teor Relativo de Clorofila	14
3.7.3.2	Avaliação do Sistema Radicular.....	15
3.7.3.3	Viabilidade Das Massas de Ovos.....	15
3.7.3.4	Determinação da População de <i>M. incognita</i>	15
3.8	ENSAIO 2 EM CASA DE VEGETAÇÃO	16
3.8.1	Preparo do Extrato de Abacate Contido no Hidrogel.....	16

3.8.2	Semeadura e Inoculação de <i>M. incognita</i> em Tomateiros.....	16
3.8.3	Avaliação Dos Tomateiros em Função Das Diferentes Concentrações do Extrato Contido no Hidrogel	16
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1	ENSAIOS <i>IN VITRO</i>	18
4.2	ENSAIO 1 EM CASA DE VEGETAÇÃO	20
4.3	ENSAIO 2 EM CASA DE VEGETAÇÃO	25
5.	CONCLUSÕES	30
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Meloidogyne*, conhecido como nematoide das galhas, é tido como um dos grupos de patógenos mais importantes para diversas culturas de interesse econômico (LOPES; SANTOS, 1994).

Essa importância se deve aos inúmeros danos que podem causar em seu hospedeiro, destacando-se a formação de um grupo de células denominadas nutridoras, as quais são essenciais para a sua alimentação e desenvolvimento. Durante a colonização ocorre ainda a liberação de toxinas no local de penetração para promover a formação das galhas no sistema radicular da planta, obstruindo dessa forma, os vasos condutores de xilema e floema, e, como consequência, comprometendo a absorção de água e nutrientes (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). Como resultado disso, surgem sintomas de clorose e murcha na parte aérea, além da redução e deformação do sistema radicular (VALE et al., 2004).

Para o controle deste patógeno são empregados métodos visando a diminuição do inóculo, já que sua erradicação torna-se difícil. Dessa forma, o uso de nematicidas sintéticos, rotação de culturas, inundação, solarização, resistência genética e controles biológico e alternativo com indução de resistência podem ser utilizados (DIAS-ARIEIRA et al., 2013).

Como controle alternativo, a utilização de extratos vegetais contendo metabólitos secundários vem sendo amplamente estudada a fim de verificar seus efeitos sobre diversos patógenos, como os fitonematoides (FERREIRA; SILVA; NASCIMENTO, 2013; MÜLLER et al., 2014; NEVES et al., 2008; SALGADO; CAMPOS, 2003a).

Diversas são as plantas que apresentam esses compostos nematotóxicos, porém, em muitas, isto ainda não foi estudado, como é o caso do abacate (*Persea americana* Mill.).

Segundo Daiuto et al. (2014), as sementes de abacate possuem grande quantidade de compostos fenólicos em comparação aos encontrados na polpa do fruto, podendo estar envolvidos na defesa da planta contra fitopatógenos.

Além do mais, considerando que as sementes representam uma grande porção dos frutos do abacateiro, tem-se a necessidade da realização de estudos

para obter formas de reaproveitamento deste volumoso subproduto gerado nas indústrias (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações dos extratos brutos das sementes de abacate sobre a eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* e o controle deste nematoide em tomateiro suscetível e resistente ao patógeno, utilizando extrato formulado em hidrogel.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DO TOMATEIRO

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é originário das regiões andinas do Peru, Bolívia e Equador (DUSI et al., 1993), e posteriormente domesticado pelos povos Incas no sul do México. A partir dali, foi difundido pelo mundo através dos espanhóis e portugueses (ALVARENGA, 2004).

Atualmente, se desenvolve em um amplo espectro de latitude, tipos de solo, métodos de cultivo e temperaturas, e é classificada como uma planta perene com porte arbustivo. Porém, ambientes com boa iluminação e drenagem (ALVARENGA, 2004) e temperaturas em torno de 18 a 25 °C são ideais para a sua germinação e desenvolvimento vegetativo (DUSI et al., 1993).

O tomateiro, segundo Padovani (1989), é uma das culturas mais suscetíveis ao ataque de pragas e doenças, causando perdas consideráveis na agricultura, de acordo com as práticas culturais adotadas pelos produtores (VALE et al., 2004). Dentre os patógenos que provocam as maiores perdas na tomaticultura no Brasil, segundo Lopes e Santos (1994), estão os nematoides do gênero *Meloidogyne*, causadores das galhas.

Essa suscetibilidade verificada na cultura se intensificou com a implantação da monocultura em extensas áreas agricultáveis, permitindo um crescimento mais rápido destes patógenos em relação aos predadores naturais. Além disso, devido ao uso constante de produtos químicos, muitas vezes, os microrganismos benéficos são eliminados e os prejudiciais se multiplicam cada vez mais (PADOVANI, 1989).

2.2 NEMATOIDES DO GÊNERO *MELOIDOGYNE*

Os nematoides pertencem ao filo Nematoda e são encontrados nos mais variados habitats, como água, solo, película de água no solo, parasitando organismos animais, os chamados zooparasitas, e plantas, os fitoparasitas (BLUM; CARES; UESUGI, 2006).

Dentre os fitoparasitas tem-se o gênero *Meloidogyne*, o qual foi descrito em 1877 em raízes de cafeeiros cultivados na Província do Rio de Janeiro, a partir de

observações de pequenos engrossamentos nas raízes e presença de ovos e vermes minúsculos associados a essas más formações. Estas observações foram iniciadas por Clément Jobert, e anos mais tarde, Emílio Augusto Goeldi concluiu o estudo, apontando ser um nematoide o causador do problema, denominando-o de *Meloidogyne exigua* (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Este gênero apresenta um ciclo de vida que compreende quatro estádios larvais ou juvenis e a fase adulta, processo esse que se completa em 28 dias, caso as condições climáticas sejam ideais para o seu desenvolvimento (VALE et al., 2004).

Ainda no ovo, o primeiro estágio juvenil (J1) é formado, e após a primeira ecdise, se transforma em juvenil de segundo estágio (J2), que é a forma infectante do nematoide, aquela que vai penetrar no hospedeiro para a absorção de nutrientes. Durante esta ecdise ocorrem as trocas de cutícula e da parte cônica do estilete. Após a forma de J2, este se transforma em juvenil de terceiro estágio (J3) e em seguida, juvenil de quarto estágio (J4) até chegarem à fase adulta. Quando adultos, os machos migratórios possuem o corpo vermiforme e as fêmeas são sedentárias com o corpo em forma de pera (BLUM; CARES; UESUGI, 2006; FERRAZ et al., 2012).

Estes J2 se movem no solo de forma aleatória e quando recebem um estímulo químico atrativo, passam a se mover em sua direção. Quando entram em contato com as raízes do hospedeiro, perfuram suas células com o estilete e por meio de substâncias produzidas pelas glândulas esofagianas, o conteúdo celular é predigerido e logo após é sugado (FERRAZ et al., 2012). Neste local de penetração, este grupo de células responsáveis pela alimentação e desenvolvimento dos nematoides são denominadas células nutridoras (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Além disso, estes patógenos liberam toxinas, induzindo assim a formação de estruturas denominadas galhas no sistema radicular da planta, promovendo a obstrução dos vasos condutores de xilema e floema (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Esta obstrução compromete a absorção de água e nutrientes, além de ocasionar clorose, redução e deformação do sistema radicular, servindo como porta de entrada para patógenos oportunistas que habitam o solo, como fungos e bactérias, aumentando dessa forma os danos ocasionados pelos nematoides, o que resulta em uma menor produtividade da cultura (VALE et al., 2004).

Além desses sintomas, os nematoides das galhas podem causar às plantas infectadas os chamados sintomas diretos e indiretos. Os primeiros são observados na própria raiz da planta, como as galhas, raízes digitadas, rachadura, redução no volume radicular e descolamento cortical. Já os sintomas indiretos são aqueles observados na parte aérea, como murcha, desfolha, falta de minerais, diminuição da produção e formação de reboleiras (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Dentro do gênero, são várias as espécies descritas, como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, as quais são grandes causadoras da diminuição da produtividade de diversas culturas de interesse econômico, como o tomateiro, sendo as duas primeiras as que provocam os maiores danos por apresentarem maior distribuição geográfica (VALE et al., 2004).

2.3 CONTROLE DE NEMATOIDES

O controle desses patógenos é bastante difícil por apresentarem características de sobrevivência, permanecendo longos períodos de forma viável no solo. A partir disso, torna-se necessário a aplicação de um conjunto de medidas visando o seu controle, como o uso de mudas saudáveis, a rotação de culturas, o uso de variedades resistentes, a inundação e solarização do solo e em alguns casos a aplicação de produtos químicos como os nematicidas (BEDENDO, 2011; DIAS-ARIEIRA et al., 2013).

A rotação de culturas é realizada por meio do emprego de espécies vegetais não hospedeiras a fim de diminuir o inóculo existente no local (BEDENDO, 2011). No entanto, de acordo com Moreira et al. (2013), a polifagia do nematoide das galhas é um dos fatores que limitam a escolha dessas culturas para inclusão no esquema de rotação.

Devido a isso, muitos produtores preferem a utilização de variedades resistentes, mesmo esta medida elevando os custos de produção. Todavia, a indisponibilidade de muitos genótipos resistentes não permite que essa forma de manejo seja amplamente adotada (FERRAZ et al., 2012).

Com a falta dessa alternativa, o emprego dos procedimentos de inundação e solarização do solo, em alguns casos, tornam-se necessários para promover a redução da quantidade de inóculo presente na área.

A inundação, portanto, mantém a área infestada submersa em água, entretanto, este método acaba se tornando oneroso devido à elevada demanda de água e necessidade de um longo período de tempo para eliminar a grande quantidade de nematoides, além de eliminar os organismos benéficos do solo devido à falta de oxigênio (FERRAZ et al., 2012).

A solarização é um processo que consiste em cobrir o solo úmido com um plástico transparente, promovendo assim a desinfestação por meio da energia solar. A utilização deste método por um período de quatro a seis semanas eleva a temperatura deste solo a aproximadamente 50 °C, o que é suficiente para promover a morte dos nematoides (FERRAZ et al., 2012).

A utilização na agricultura de nematicidas sintéticos, altamente tóxicos, promove a contaminação do ambiente e do próprio ser humano, elevando suas concentrações em corpos de água, solo e nos alimentos cultivados (PADOVANI, 1989).

Dessa forma, a partir das limitações desses métodos, torna-se necessária a experimentação e utilização de métodos alternativos para o controle desses patógenos.

2.3.1 Uso de Extratos Vegetais Como Controle Alternativo de Nematoides

As plantas produzem vários compostos orgânicos, os chamados metabólitos secundários, os quais não possuem função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Eles são sintetizados para exercerem atividades de atração de polinizadores, adaptação ambiental e fitoproteção contra diversos patógenos (TAIZ; ZEIGHER, 2013), como os nematoides.

A partir destes compostos, novos produtos estão sendo estudados a fim de diminuir o impacto ao meio ambiente (SALGADO; CAMPOS, 2003a), visto que a utilização de extratos vegetais, óleos essenciais e demais produtos naturais para o controle de fitonematoides apresentam vantagens em relação aos produtos sintéticos, como relatado por Ferraz et al. (2012): apresentam uma menor toxicidade, rápida biodegradação, possuem amplo modo de ação e são derivados de recursos renováveis.

Devido a isso, uma grande quantidade de plantas medicinais e aromáticas vem sendo estudadas, por apresentarem, muitas vezes, grandes quantidades de componentes com propriedades nematocidas, tais como alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos, compostos fenólicos, dentre outros (CHITWOOD, 2002).

2.3.1.1 *Persea americana* (Mill)

O abacateiro (*Persea americana* Mill.) é uma planta pertencente à família Lauraceae e tem origem na América Central, incluindo o México, Guatemala e Antilhas, adaptando-se facilmente nas demais regiões tropicais (LEITE et al., 2009).

A polpa desses frutos tem grande valor comercial e nutricional, sendo comercializada para a produção de óleo, guacamole e pastas. Todavia, grande porção desses frutos é composta pela semente e pela casca, as quais são descartadas pelas indústrias como resíduos (DAIUTO et al., 2014).

Tango, Carvalho e Soares (2004) realizaram a caracterização de 24 diferentes variedades de frutos de abacateiro, encontrando para o conteúdo da polpa, valores entre 52,9% e 81,3% em relação à massa do fruto. Além do mais, a casca representou de 8,6% a 22,9% e a semente de 10,1% a 25,1% desses frutos analisados. A partir desses resultados, os autores apontam a necessidade de se buscar formas de reaproveitamento destas sementes, uma vez que, de acordo com estudos de Daiuto et al. (2014), apresentam grande quantidade de compostos fenólicos quando comparada à polpa do abacate.

Esses compostos fenólicos abrangem grande quantidade de substâncias que apresentam um anel aromático com pelo menos uma hidroxila (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008), podendo ser citadas as catequinas, ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos, flavonóis e procianidinas, as quais estão presentes na semente de abacate em grandes quantidades (RODRÍGUEZ-CARPENA et al., 2011).

Estas substâncias, portanto, proporcionam uma maior atividade antioxidante à semente, e podem estar envolvidas na defesa da planta contra fitopatógenos (SOARES, 2002).

2.4 VEÍCULOS

Os extratos vegetais contendo compostos antioxidantes geralmente são sensíveis à radiação ultravioleta, e por este motivo, devem ser veiculados em formulações, a fim de preveni-los dos danos ocasionados pela radiação (SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013).

Um polímero que pode ser utilizado como veículo é o hidrogel, o qual é composto por redes poliméricas tridimensionais que possuem a capacidade de retenção de água dentro de sua própria estrutura, promovendo seu inchaço, sem ocorrer a sua dissolução (BYRNE; PARK; PEPPAS, 2002).

Devido a esta característica, de acordo com Byrne, Park e Peppas (2002), a taxa de liberação da substância de interesse depende da difusão da água e do relaxamento da cadeia polimérica, portanto, quando o extrato vegetal é veiculado ao hidrogel, apresenta como principal vantagem a lenta liberação dos compostos tóxicos presentes no extrato, conforme a necessidade de umidade pela planta, controlando desta forma os patógenos presentes na solução do solo.

Este método pode ser considerado como uma opção viável, visto que o polímero já vem sendo empregado como veículo para a liberação controlada de fármacos, peptídeos e proteínas (BYRNE; PARK; PEPPAS, 2002; HOFFMAN, 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

Os testes *in vitro* foram conduzidos nos laboratórios de Nematologia e Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon, e os experimentos *in vivo* realizados em casa de vegetação na Estação de Horticultura e Cultivo protegido “Prof. Dr. Mário César Lopes”, da mesma instituição.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado.

Para os ensaios *in vitro*, como a eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2), foi utilizado o esquema fatorial 2x7, considerando-se dois tipos de extratos de abacate (extrato de coloração vermelha e extrato de coloração marrom) e sete concentrações (0; 100; 200; 400; 600; 800 e 1.000 mg L⁻¹), com cinco repetições, cada uma representada por um frasco plástico (70 mL) com tampa.

Em casa de vegetação, foram realizados dois experimentos, ambos em esquema fatorial 2x6. Cada tratamento foi composto por cinco repetições, cada qual representada por um vaso de 2 L contendo uma planta de tomateiro.

Para o primeiro experimento (ensaio 1) foram utilizadas duas variedades de tomateiro (Santa Cruz Kada e Ivety) e seis doses do hidrogel (0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 g cova⁻¹) contendo o extrato de abacate que se mostrou mais eficiente no controle de *M. incognita*, no experimento *in vitro*.

Para o segundo experimento (ensaio 2) utilizou-se a dose do hidrogel contendo o extrato que proporcionou a maior redução da quantidade do nematoide, proveniente do ensaio 1, adicionando diferentes concentrações do extrato de abacate (0; 1.000; 2.000; 4.000; 6.000 e 8.000 mg L⁻¹), e utilizando duas variedades de tomateiro (Santa Cruz Kada e Ivety).

3.3 OBTENÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *M. incognita*

As populações do nematoide foram obtidas de plantas de quiabo apresentando sintomas de galhas, cedidas por um produtor do município de Toledo, Paraná.

Após a coleta, as plantas foram levadas ao laboratório e realizada a identificação da espécie de *Meloidogyne* spp., por meio da técnica de configuração perineal (Figura 1) proposta por Hartman e Sasser (1985). Portanto, fêmeas maduras presentes nas raízes infectadas foram retiradas das galhas e colocadas em uma lâmina contendo uma gota de ácido láctico a 45%, para a realização dos cortes das regiões perineais, em microscópio estereoscópio.

Após, foram confeccionadas lâminas semipermanentes contendo uma gota de glicerina e dez cortes perineais para a observação e identificação da espécie em microscópio óptico. A identificação foi feita com base na comparação das regiões perineais obtidas com as descritas na literatura para as diferentes espécies de *Meloidogyne*.

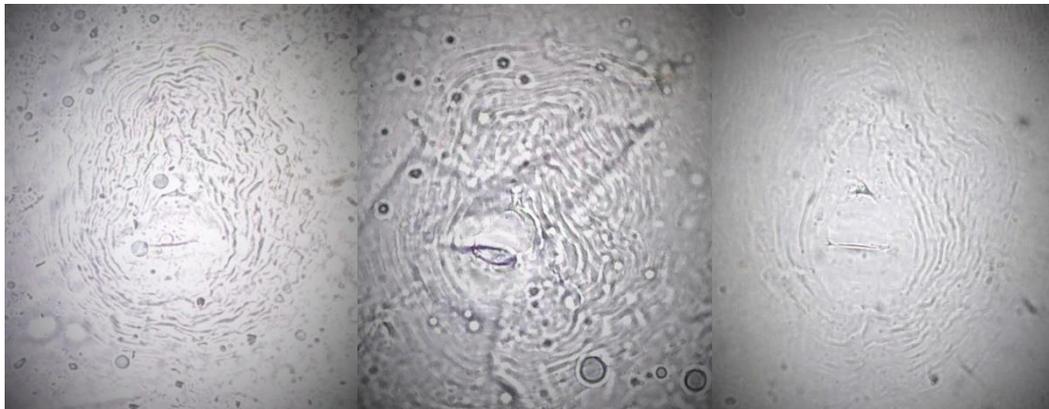


Figura 1 - Cortes das regiões perineais de fêmeas maduras de *Meloidogyne incognita*, observados em microscópio óptico. Fonte: a autora.

3.4 MULTIPLICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *M. incognita*

A partir da identificação da espécie, esta população foi multiplicada em plantas de tomate Santa Cruz Kada e mantidas em casa de vegetação, por 60 dias, para a posterior utilização do inóculo.

3.5 PREPARO DO INÓCULO

O inóculo utilizado foi preparado a partir das raízes infectadas com *M. incognita*, por meio da metodologia de centrifugação em solução de sacarose, proposta por Coolen e D'Herde (1972). As raízes foram coletadas e lavadas para a retirada do substrato, e posteriormente cortadas em pedaços de aproximadamente 1 cm e trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,5%, por 30 segundos.

Esta suspensão passou por um conjunto de peneiras sobrepostas, de 20, 48 e 400 Mesh, sendo recolhido o conteúdo em um béquer e transferido posteriormente para tubetes para a centrifugação por 5 min a 1.894g. O sobrenadante resultante desta centrifugação foi descartado e adicionado solução de sacarose (densidade = 1,15 g cm⁻³). Uma nova centrifugação foi realizada a 1.263g por 1 min, e o sobrenadante passado pela peneira de 400 Mesh e recolhido em um béquer para a posterior quantificação de ovos e juvenis presentes na suspensão. Essa leitura foi realizada em lâmina de Peters e observada em microscópio óptico.

3.6 ENSAIOS *IN VITRO*

3.6.1 Obtenção Dos Extratos Brutos da Semente de Abacate

Os extratos brutos foram preparados a partir de sementes frescas de abacate. Para o preparo de cada extrato, utilizou-se uma semente de abacate, com cerca de 75 g cada. As sementes foram cortadas em pedaços de dois tamanhos para obtenção de dois tipos de extratos: em um foram cortados pedaços menores (0,5 cm³), mostrando-se com uma coloração vermelha após o corte, sendo denominado de extrato de coloração vermelha (EV), e em outro, os pedaços eram maiores (1,5 cm³) e apresentavam coloração marrom, denominando-o de extrato de coloração marrom (EM).

Esses pedaços de semente foram acondicionados em frascos contendo 100 mL de metanol P.A., de forma a cobrir toda a semente. Os frascos foram vedados e protegidos da luz, permanecendo sob agitação por 24 h, a 150 rpm. Após esse período, a solução passou por duas filtragens, sendo primeiramente em papel filtro

(8 μm de diâmetro de poro) e em seguida em membrana filtrante (0,45 μm de diâmetro de poro), ambas com o auxílio de um kitassato acoplado a uma bomba à vácuo.

A solução obtida na segunda filtração foi evaporada em um evaporador rotativo, a 45 °C e 60 rpm, por 4 h, para a obtenção dos extratos brutos. Para cada extrato adicionou-se Tween 80 (0,6%), para promover a homogeneização das soluções. A partir deste, foram preparadas as diferentes concentrações: 100, 200, 400, 600, 800 e 1.000 mg L^{-1} dos extratos brutos das sementes de abacate. Como controle foi utilizado água destilada contendo Tween 80 (0,6%).

3.6.2 Eclosão de Juvenis de *M. incognita* em Função Das Diferentes Concentrações Dos Extratos

Para o ensaio de eclosão de juvenis de *M. incognita*, os ovos foram obtidos das plantas de tomateiros, por meio da técnica de centrifugação em solução de sacarose (COOLEN; D'HERD, 1972), descrita anteriormente (item 3.5). Após, a suspensão obtida foi quantificada e calibrada em 500 ovos de *M. incognita* mL^{-1} , com o auxílio de lâmina de Peters.

Foram adicionados em cada recipiente plástico (70 mL) com tampa, 1 mL da suspensão contendo 500 ovos e 5 mL dos tratamentos (as diferentes concentrações do extrato ou o controle), e incubados por 15 dias a 25 °C, no escuro. Após esse período, realizou-se a avaliação, em microscópio óptico, contando-se os 100 primeiros ovos, e determinando assim, a porcentagem de juvenis eclodidos (COSTA et al., 2001).

3.6.3 Motilidade e Mortalidade de Juvenis de *M. incognita* em Função Das Diferentes Concentrações Dos Extratos

Para os ensaios de motilidade e mortalidade, os juvenis foram obtidos através de uma câmara de eclosão por meio da metodologia do funil de Baermann (BAERMANN, 1917), recolhendo a suspensão de juvenis que passaram pelo papel filtro, cinco dias após a montagem. Passado esse período, os juvenis foram

quantificados e calibrados em 500 juvenis de *M. incognita* mL⁻¹, em lâmina de Peters.

Em cada recipiente plástico foram colocados 5 mL dos tratamentos (extrato bruto nas diferentes concentrações ou o controle) e 1 mL da suspensão contendo 500 juvenis de *M. incognita*. A avaliação da motilidade, conduzida para verificar a atividade nematostática dos extratos, foi realizada após 24 horas, mensurando-se a porcentagem de juvenis aparentemente imóveis. Em seguida, os juvenis foram transferidos para a peneira de 400 Mesh, substituindo os tratamentos por água destilada, e recolhendo-se a suspensão. Esta permaneceu nos recipientes por mais 24 h. Os juvenis que permaneceram imóveis, retílineos ou levemente retorcidos foram considerados mortos, comprovando assim a atividade nematicida dos extratos. As avaliações dos ensaios foram realizadas em lâminas de Peters e observadas ao microscópio óptico (ROCHA; CAMPOS; SOUZA, 2005).

3.7 ENSAIO 1 EM CASA DE VEGETAÇÃO

3.7.1 Preparo do Hidrogel Contendo o Extrato de Abacate

Com os resultados das análises *in vitro* (eclosão, motilidade e mortalidade dos juvenis), determinou-se a concentração de um dos extratos que se mostrou mais eficiente para o controle de *M. incognita*, sendo utilizada para a realização dos testes referentes ao ensaio 1, em casa de vegetação. Neste ensaio, o hidrogel contendo o extrato da semente de abacate foi incorporado nas covas realizadas para o transplante das mudas de tomateiro.

Para o preparo desta mistura, foram utilizados 6 L do extrato escolhido e 6 g do hidrogel. Após a homogeneização, esta mistura permaneceu em estufa a 50 °C, por cinco dias, até a completa secagem do material. Este hidrogel seco e impregnado do extrato foi triturado com o auxílio de um gral e um pistilo para a obtenção de um pó. Logo em seguida, foram preparadas as diferentes doses desse hidrogel contendo o extrato: 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 g cova⁻¹. Como controle utilizou-se apenas o hidrogel sem incorporação do extrato.

3.7.2 Semeadura e Inoculação de *M. incognita* em Tomateiros

Sementes de tomate suscetível (Santa Cruz Kada) e resistente (Ivety) foram semeadas em bandejas de 128 células contendo substrato comercial. Após 25 dias, as plântulas foram transplantadas para vasos de 2 L contendo uma mistura de solo, areia e material orgânico (2:2:1, v:v:v), previamente autoclavado a 120 °C e 1 atm por 1 h.

No momento do transplante, em cada cova realizada, foram colocadas as diferentes doses do hidrogel contendo o extrato da semente de abacate, conforme descrito anteriormente. Após três dias do transplante, as mudas foram inoculadas com uma suspensão contendo 2.067 ovos e juvenis (População inicial - Pi) por planta, em três orifícios realizados em torno da muda, a 1,5 cm de distância entre si e 2,0 cm de profundidade. Estas plantas foram irrigadas diariamente, tendo-se o cuidado de não lavar o inóculo depositado no solo, conforme descrito por Tihohod (1989).

As plantas de tomateiros suscetível e resistente à *M. incognita* permaneceram em casa de vegetação por 30 dias para posterior coleta e avaliação dos sintomas.

3.7.3 Avaliação Dos Tomateiros em Função Das Diferentes Doses do Hidrogel Contendo os Extratos

3.7.3.1 Avaliação do Teor Relativo de Clorofila

Aos 30 dias após a inoculação, foi avaliado o teor relativo de clorofila (índice SPAD) nas folhas de tomateiros suscetível e resistente à *M. incognita*, utilizando o medidor portátil SPAD 502 *Plus Daminolta*. Foram realizadas cinco leituras em cada repetição e posteriormente feitas as médias, as quais foram expressas em teor de clorofila cm³.

3.7.3.2 Avaliação do Sistema Radicular

As plantas de tomateiros foram retiradas dos substratos e as raízes foram lavadas em água corrente e secas em papel absorvente. Em seguida, obteve-se o volume total de raiz (VTR), além das contagens do número de galhas (NG) e de massas de ovos (NMO) no sistema radicular.

Para a determinação do volume total de raiz (VTR), esta foi colocada em uma proveta graduada contendo um volume de água destilada conhecido (450 mL), medindo-se desta forma, o deslocamento da coluna de água. Através da diferença obtida, o volume de raízes foi expresso em cm^3 , sendo que 1 mL equivale a 1 cm^3 .

Para a determinação do número de massas de ovos (NMO), seguiu-se a metodologia descrita por Taylor e Sasser (1978), utilizando 0,015 mg de floxina B em 1L de água. As raízes permaneceram nesta solução, e após 20 min foram lavadas para a retirada do excesso do corante, com posterior contagem das massas de ovos presentes nos sistemas radiculares.

3.7.3.3 Viabilidade Das Massas de Ovos

Após a realização das contagens de número de galhas e massas de ovos, procedeu-se o teste para a comprovação da viabilidade desses ovos. Para isso, as massas foram retiradas e depositadas em poços contendo 250 μL de água destilada, em placas de ELISA. Estas foram vedadas com filme plástico, mantendo-as no escuro, a 25 °C, por 15 dias. A viabilidade foi determinada pela avaliação do número de juvenis eclodidos. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições, cada qual em duplicata.

3.7.3.4 Determinação da População de *M. incognita*

O número de ovos e juvenis foi quantificado no sistema radicular (COOLEN; D'HERDE, 1972) dos tomateiros suscetível e resistente ao nematoide, e em 100 cm^3 de solo. Este último foi realizado conforme procedimento descrito por Jenkins (1964).

3.8 ENSAIO 2 EM CASA DE VEGETAÇÃO

3.8.1 Preparo do Extrato de Abacate Contido no Hidrogel

Com os resultados das análises do ensaio 1 realizado em casa de vegetação, determinou-se a dose do hidrogel contendo o extrato, incorporada nas covas, que proporcionou a maior redução do nematoide, utilizando-a neste experimento. Para isso, foram adicionadas diferentes concentrações do extrato de abacate (0; 1.000; 2.000; 4.000; 6.000 e 8.000 mg L⁻¹) nessa dose de hidrogel, sendo posteriormente levados à estufa para secagem, conforme descrito no item 3.7.1.

3.8.2 Semeadura e Inoculação de *M. incognita* em Tomateiros

As variedades de tomate e os procedimentos realizados para a obtenção das mudas foram os mesmos que o descrito no item 3.7.2.

No momento do transplante, em cada cova realizada, foi colocada a dose do hidrogel que proporcionou a maior redução do nematoide, conforme resultados do ensaio 1, contendo as diferentes concentrações do extrato da semente de abacate. Após três dias do transplante, as mudas foram inoculadas com uma suspensão contendo 2.184 ovos e juvenis (População inicial - Pi) por planta, em três orifícios realizados em torno da muda, a 1,5 cm de distância entre si e 2,0 cm de profundidade. Estas plantas foram irrigadas diariamente, tendo-se o cuidado de não lavar o inóculo depositado no solo, conforme descrito por Tihohod (1989).

As plantas de tomateiros suscetível e resistente à *M. incognita* permaneceram em casa de vegetação por 30 dias para a sua posterior coleta e avaliação dos sintomas.

3.8.3 Avaliação Dos Tomateiros em Função Das Diferentes Concentrações do Extrato Contido no Hidrogel

As avaliações realizadas nas plantas de tomateiro suscetível e resistente foram as mesmas que as descritas nos itens 3.7.3.1 (Avaliação do teor relativo de

clorofila); 3.7.3.2 (Avaliação do sistema radicular) e 3.7.3.4 (Determinação da população de *M. incognita*).

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos dos ensaios *in vitro* e dos dois experimentos em casa de vegetação foram submetidos à análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, com o auxílio do programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011). Verificando-se interação significativa entre os fatores, procederam-se os desdobramentos, sendo realizada, para os tipos de extratos ou as variedades, a comparação de média pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, e para as concentrações ou doses realizou-se análise de regressão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIOS *IN VITRO*

Para a variável eclosão de juvenis, houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os extratos de abacate e as diferentes concentrações. Com o aumento da concentração observa-se um decréscimo linear na eclosão de juvenis, sendo a concentração de 1.000 mg L^{-1} mais efetiva nesta redução em relação as demais, independentemente do tipo de extrato utilizado (Figura 2).

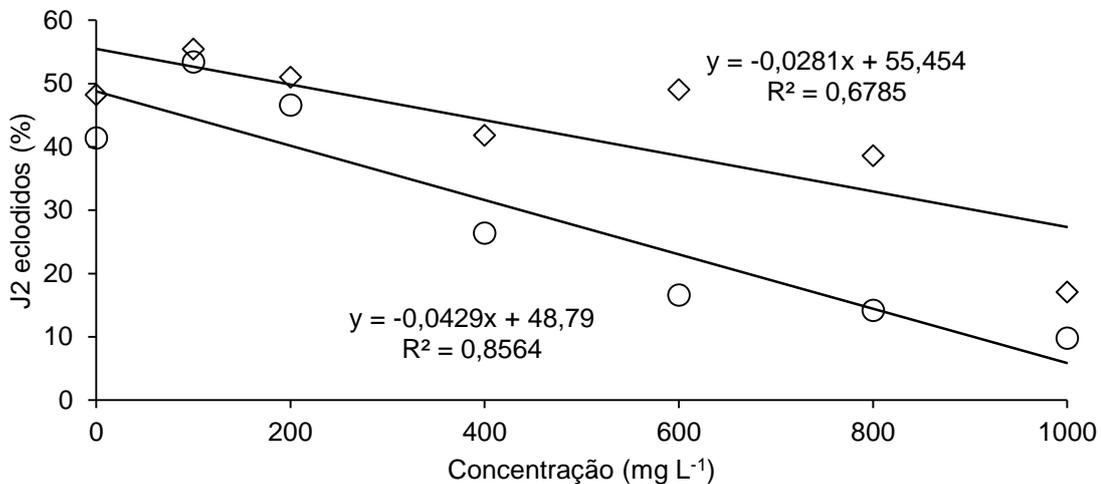


Figura 2 - Eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* nas diferentes concentrações dos extratos de abacate, após 15 dias de incubação. EV: extrato de coloração vermelha (○); EM: extrato de coloração marrom (◇).

Com relação aos extratos (Tabela 1), notam-se diferenças estatísticas apenas no intervalo das concentrações de 400 e 800 mg L^{-1} , evidenciando menor eclosão de juvenis no EV quando comparado ao EM no mesmo período.

Tabela 1 - Eclosão *in vitro* de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em diferentes concentrações de dois tipos de extratos de abacate.

Extrato	Concentração (mg L^{-1})							Média
	0	100	200	400	600	800	1.000	
EV	41,40a	53,40a	46,60a	26,40a	16,60a	14,20a	9,80a	29,77a
EM	48,20a	55,40a	51,00a	41,80b	49,00b	38,60b	17,06a	43,09b

As médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores médios obtidos de cinco repetições de cada tratamento, expresso em porcentagem. EV: extrato de coloração vermelha; EM: extrato de coloração marrom.

Vale destacar ainda, mesmo que numericamente, que as taxas de redução na eclosão de juvenis, na concentração de 1.000 mg L⁻¹, foram de 76,33% para o EV, e de 64,6% para o EM, em relação à testemunha, permitindo supor que EV possui um efeito tóxico mais eficaz sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*, em comparação com o EM, controlando de forma mais eficiente este patógeno.

Apesar da alta inativação da eclosão de juvenis, nas concentrações mais elevadas dos extratos de abacate, uma pequena taxa de eclosão ainda pôde ser observada, a qual, segundo Salgado e Campos (2003a) é decorrente da saída de alguns juvenis já formados, de dentro do ovo, ainda nos primeiros dias de incubação, como ocorreu com o extrato de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), da mesma família do abacate, para o controle *in vitro* de *Meloidogyne exigua*.

Essa toxicidade apresentada pelos extratos pode ser devida à presença de substâncias que inibem a eclosão ou afetam as fases de multiplicação celular, desenvolvimento embrionário e troca de cutícula (SALGADO; CAMPOS, 2003a), apresentando diferentes resultados conforme as concentrações dos extratos.

Estas substâncias ainda são pouco conhecidas, porém, em estudos realizados por Maistrello, Vaccari e Sasanelli (2010), foi observada redução da eclosão de *M. javanica*, *in vitro*, à medida que a concentração de uma solução de tanino era aumentada.

Além disso, sabe-se que a semente de abacate é rica em compostos fenólicos, o que lhe confere maior poder antioxidante (RODRÍGUEZ-CARPENA et al., 2011).

Essa atividade antioxidante foi avaliada por Wang, Bostic e Gu (2010) e Daiuto et al. (2014), os quais encontraram valores mais elevados para a semente e a casca, quando comparados à polpa do abacate, devido a maior quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras analisadas.

A diferença de inibição da eclosão de juvenis verificada entre os extratos, provavelmente se deve ao tamanho dos cortes feitos em cada uma das sementes. Após o corte, segundo Soares (2002), inicia-se um processo de oxidação de lipídios levando a peroxidação dos ácidos graxos, presentes na semente de abacate, e a formação de compostos potencialmente tóxicos. Devido a isso, são utilizados antioxidantes, como por exemplo, os compostos fenólicos, para a prevenção dessa oxidação.

Com base nisso, o EV que foi obtido a partir de pedaços menores da semente, apresentava uma maior área de superfície exposta para a ocorrência do processo oxidativo, e, conseqüentemente, maior seria a quantidade de compostos fenólicos liberados a fim de sequestrar os radicais livres, inibindo assim, a oxidação. Já para o EM, obtido a partir de pedaços maiores da semente, uma menor quantidade de compostos fenólicos podem ter sido liberados por causa da menor área sujeita à oxidação.

Com relação à motilidade e mortalidade dos juvenis, nenhum dos fatores foi significativo ($p > 0,05$), evidenciando que independentemente do tipo de extrato e concentração utilizadas, essas variáveis não foram alteradas.

Com base nestes resultados é possível inferir que não exista um efeito nematostático e nematicida do extrato da semente de abacate sobre o intervalo de concentrações testadas, o que pode estar relacionado, de acordo com Salgado e Campos (2003a), ao fato destas concentrações não apresentarem efeito deletério sobre o juvenil já formado.

Além do mais, a cutícula do nematoide apresenta impermeabilidade a muitas moléculas orgânicas, como os compostos fenólicos, podendo, portanto, impedir a penetração do extrato de abacate para o controle de *M. incognita* (CHITWOOD, 2002).

4.2 ENSAIO 1 EM CASA DE VEGETAÇÃO

Com os resultados obtidos das avaliações *in vitro*, a concentração de 1.000 mg L⁻¹ obtida do extrato da semente de abacate de coloração vermelha, se mostrou mais eficiente no controle de *M. incognita*, sendo portanto, a escolhida para ser incorporada ao hidrogel.

Para a variável teor de clorofila (índice SPAD), houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas para as variedades de tomateiro, não sendo estas, portanto, influenciadas pelas diferentes concentrações do hidrogel contendo o extrato. Neste caso, as médias encontradas para as variedades suscetível e resistente, foram, respectivamente, 35,46 e 39,05 cm³. Este resultado já era esperado devido ao fato da variedade suscetível direcionar uma maior quantidade de seus fotoassimilados para a formação das galhas no sistema radicular, em comparação à resistente, a

qual, no presente estudo, apresentou uma quantidade de galhas bem inferior em relação à suscetível.

Em relação à variável volume total de raiz, nenhum dos fatores se mostraram significativos ($p > 0,05$), indicando que independente da variedade e concentração do extrato utilizado, o volume de raiz não é interferido.

Mateus et al. (2014), trabalhando com tomateiros suscetíveis da cultivar Santa Clara, não encontraram diferenças significativas em relação à testemunha, avaliando a massa fresca da raiz, após aplicação no solo de diferentes extratos vegetais na concentração de 100 g L^{-1} , para o controle de *M. incognita*.

Outro trabalho, realizado por Salgado e Campos (2003b), utilizando extratos vegetais de canela, urucum e cravo-da-índia para o controle de *M. incognita* em feijoeiro, também verificaram resultados semelhantes, os quais podem ser explicados pelo tempo de experimento que possa não ter sido suficiente para a recuperação vegetativa das plantas, após a aplicação dos extratos e redução dos nematoides. Os autores realizaram a avaliação após 35 dias da inoculação do nematoide, sendo semelhante ao do presente estudo, no qual a avaliação ocorreu após 30 dias.

Para as variáveis número de galhas e de massas de ovos, a interação entre os fatores se mostrou significativa ($p < 0,05$), evidenciando que o aumento da dose do hidrogel contendo o extrato promove uma redução destas variáveis, em raízes de tomateiros suscetíveis ao nematoide, sendo a dose de $1,0 \text{ g cova}^{-1}$ a que apresentou o menor número de galhas e de massas de ovos. Este fato, entretanto, não foi observado em plantas de tomateiro resistentes (Figuras 3A e 3B).

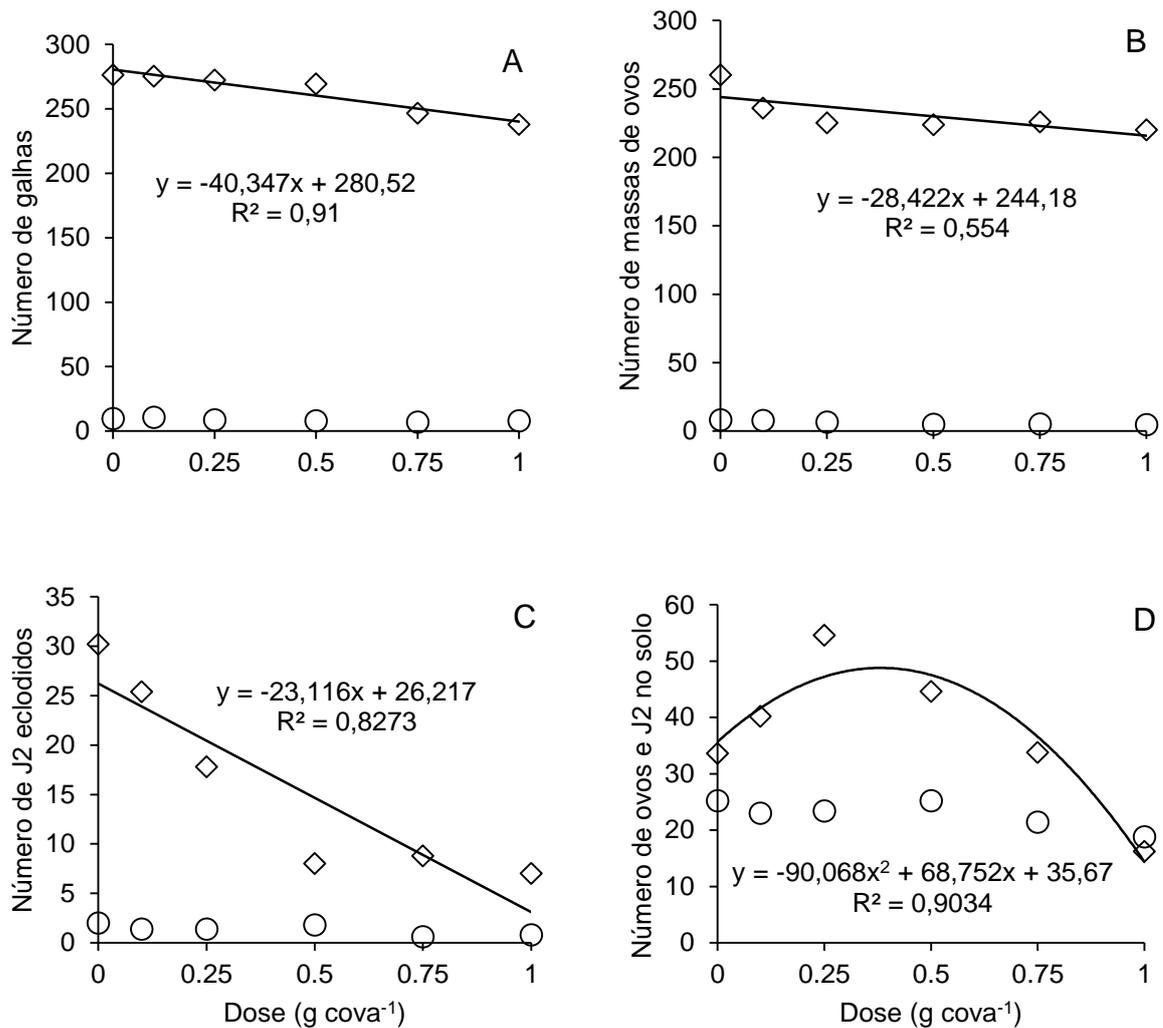


Figura 3 - Efeito das diferentes doses do hidrogel contendo o extrato de abacate de coloração vermelha (EV), em tomateiros suscetível (◇) (Santa Cruz Kada) e resistente (○) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*. Variáveis analisadas: número de galhas (NG) (A); número de massas de ovos (NMO) (B); viabilidade das massas de ovos avaliada por meio do número de juvenis de segundo estágio (J2) eclodidos (C); número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) em 100 cm³ de solo (D).

A avaliação do número de juvenis eclodidos para a verificação da viabilidade das massas de ovos seguiu a mesma tendência das variáveis citadas acima (Figura 3C).

Com relação às variedades (Tabela 2), para as variáveis número de galhas, de massas de ovos e juvenis eclodidos, notam-se diferenças estatísticas em todas as doses, com valores mais elevados para a suscetível, evidenciando que a variedade resistente possui mecanismos de defesa mais eficazes que a suscetível, impedindo ou retardando a entrada do nematoide em seus sistemas radiculares.

Tabela 2 - Médias das variáveis número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), viabilidade das massas de ovos avaliada por meio do número de juvenis de segundo estágio (J2) eclodidos, e número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) em 100 cm³ de solo, sob a influência das duas variedades de tomateiros suscetível (S) (Santa Cruz Kada) e resistente (R) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*, quando submetidas às diferentes doses do hidrogel contendo os extratos da semente de abacate.

Dose (g cova ⁻¹)	NG ¹		NMO ¹		J2 eclodidos ¹		Ovos e J2 – solo ¹	
	S	R	S	R	S	R	S	R
Testemunha	276,4 b	9,8 a	260,2 b	8,2 a	30,2 b	2,0 a	33,6 b	25,2 a
0,1	275,4 b	10,6 a	236,0 b	7,8 a	25,4 b	1,4 a	40,2 b	23,0 a
0,25	272,4 b	8,8 a	225,2 b	6,6 a	17,8 b	1,4 a	54,6 b	23,4 a
0,5	269,4 b	8,0 a	223,8 b	5,0 a	8,0 b	1,8 a	44,6 b	25,2 a
0,75	246,6 b	7,0 a	226,0 b	5,2 a	8,8 b	0,6 a	33,8 b	21,4 a
1,0	238,0 b	7,8 a	220,0 b	4,8 a	7,0 b	0,8 a	16,2 a	18,8 a
CV (%)	5,05		6,56		22,02		17,93	

As médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas, para cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

¹Valor médio obtido de cinco repetições de cada tratamento, para cada variável. Hidrogel incorporado com extrato de semente de abacate em concentração de 1.000 mg L⁻¹ de água.

S: variedade suscetível; R: variedade resistente.

Vale destacar ainda que, no presente estudo, nem todas as galhas radiculares apresentaram massas de ovos. Isto foi também evidenciado por Maciel e Ferraz (1996), trabalhando com diferentes extratos vegetais para controle de *M. incognita* raça 2 e *M. javanica*. Os autores realizaram a dissecação das galhas e verificaram que não havia nenhum dos estádios de desenvolvimento do nematoide, concluindo, portanto, que houve uma morte prematura dos juvenis, devido a estes não serem capazes de formarem as células nutridoras após sua penetração e formação das galhas nos sistemas radiculares.

A redução das variáveis mencionadas pode ser devido à maior concentração de taninos presentes nas sementes de abacate, à medida que se aumenta as concentrações do extrato (SOARES; MIRANDA; MANCINI FILHO, 2012).

A aplicação de soluções repelentes antes do transplante ou no momento do plantio, como os taninos, pode ter como função a desorientação dos fitonematoides, dificultando dessa forma a localização dos sistemas radiculares, e, como consequência, tem-se a diminuição da penetração e redução dos danos causados às plantas (MAISTRELLO; VACCARI; SASANELLI, 2010).

Sendo assim, no presente estudo, o aumento das concentrações do extrato sugere um possível aumento da quantidade de taninos presentes, diminuindo a penetração de *M. incognita* e a posterior formação das galhas.

Esses taninos, extraídos da madeira da castanheira, foram testados por Maistrello, Vaccari e Sasanelli (2010), utilizando doses crescentes da solução de taninos (100, 250 e 450 g m² no solo) para controle de *M. javanica*. Eles verificaram uma diminuição do número de galhas, de ovos e juvenis no sistema radicular e no solo, além do fator de reprodução.

Associado a isso, Ritzinger e Fancelli (2006) mencionam a presença de matéria orgânica na solução do solo, que pode suprimir os fitonematoides devido à liberação de metabólitos tóxicos, provenientes da sua decomposição, como os compostos fenólicos. Além do mais, os autores mencionam o aumento da população de microrganismos parasitas e/ou predadores dos nematoides. A soma desses fatores resulta em uma menor penetração de *M. incognita*, reduzindo mais ainda conforme a concentração é aumentada.

Entretanto, no presente estudo, o número de ovos e juvenis por sistema radicular não foi influenciado pelas diferentes doses, apenas o fator variedade se mostrou significativo ($p > 0,05$), apresentando médias de 560,5 e 8,4 ovos e juvenis por sistema radicular, para as variedades suscetível e resistente, respectivamente.

Com relação ao número de ovos e juvenis no solo, a interação entre os fatores se mostrou significativa ($p < 0,05$), sendo somente a variedade suscetível influenciada pelas diferentes doses do hidrogel contendo o extrato. Portanto, com o aumento desta, ocorre uma elevação do número de ovos e juvenis até uma determinada concentração, seguido de uma diminuição destes nematoides no solo até a dose de 1,0 g cova⁻¹, onde nesta, a planta suscetível se comporta de maneira semelhante à resistente, não apresentando diferença significativa entre elas (Figura 3D e Tabela 2).

Este ligeiro aumento nas doses iniciais testadas pode ser devido à presença de minerais ou algum composto presente no extrato de abacate que seja favorável ao nematoide. De acordo com Salgado e Campos (2003b), alguns minerais presentes nos extratos vegetais podem ser liberados após sua aplicação ao solo, promovendo o aumento da população do nematoide. Este fato pode ter ocorrido, visto que a semente de abacate possui cerca de 2,81% de minerais, conforme estudos realizados por Daiuto et al. (2014).

Seguido deste aumento, tem-se uma queda acentuada do número de ovos e juvenis no solo, a partir de uma dose do extrato entre 0,3 e 0,4 g cova⁻¹, devido

provavelmente a uma maior concentração e liberação das substâncias tóxicas presentes no extrato de abacate, como mencionado nos ensaios *in vitro* (MAISTRELLO; VACCARI; SASANELLI, 2010; SALGADO; CAMPOS, 2003a).

4.3 ENSAIO 2 EM CASA DE VEGETAÇÃO

A partir dos dados resultantes do ensaio 1, a dose de 1,0 g cova⁻¹ do hidrogel contendo o extrato de abacate, incorporado nas covas dos tomateiros, foi a que apresentou a maior redução de *M. incognita*, em comparação com as demais doses testadas, sendo portanto, a escolhida para a realização do ensaio 2.

Com relação à variável teor de clorofila (índice SPAD), apenas as variedades de tomateiro mostraram-se significativas ($p < 0,05$), não havendo influência das diferentes concentrações do extrato contido no hidrogel. Neste caso, semelhante aos resultados encontrados no ensaio 1, a variedade suscetível apresentou média inferior à da resistente, sendo, respectivamente, 39,60 e 42,62 cm³ de teor de clorofila.

Em relação à variável volume total de raiz, nenhum dos fatores se mostraram significativos ($p > 0,05$).

Para as variáveis número de galhas e de massas de ovos, houve interação significativa entre os fatores ($p < 0,05$), onde com o aumento das concentrações do extrato de abacate contidas no hidrogel, e incorporadas nas covas dos tomateiros suscetíveis ao nematoide, há um decréscimo linear destas variáveis, sendo a concentração de 8.000 mg L⁻¹ a mais eficiente nesta redução. Com relação às raízes de tomateiro resistente não houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados no estudo, portanto, indiferente da concentração utilizada para esta variedade, as variáveis mencionadas não são afetadas (Figuras 4A e 4B).

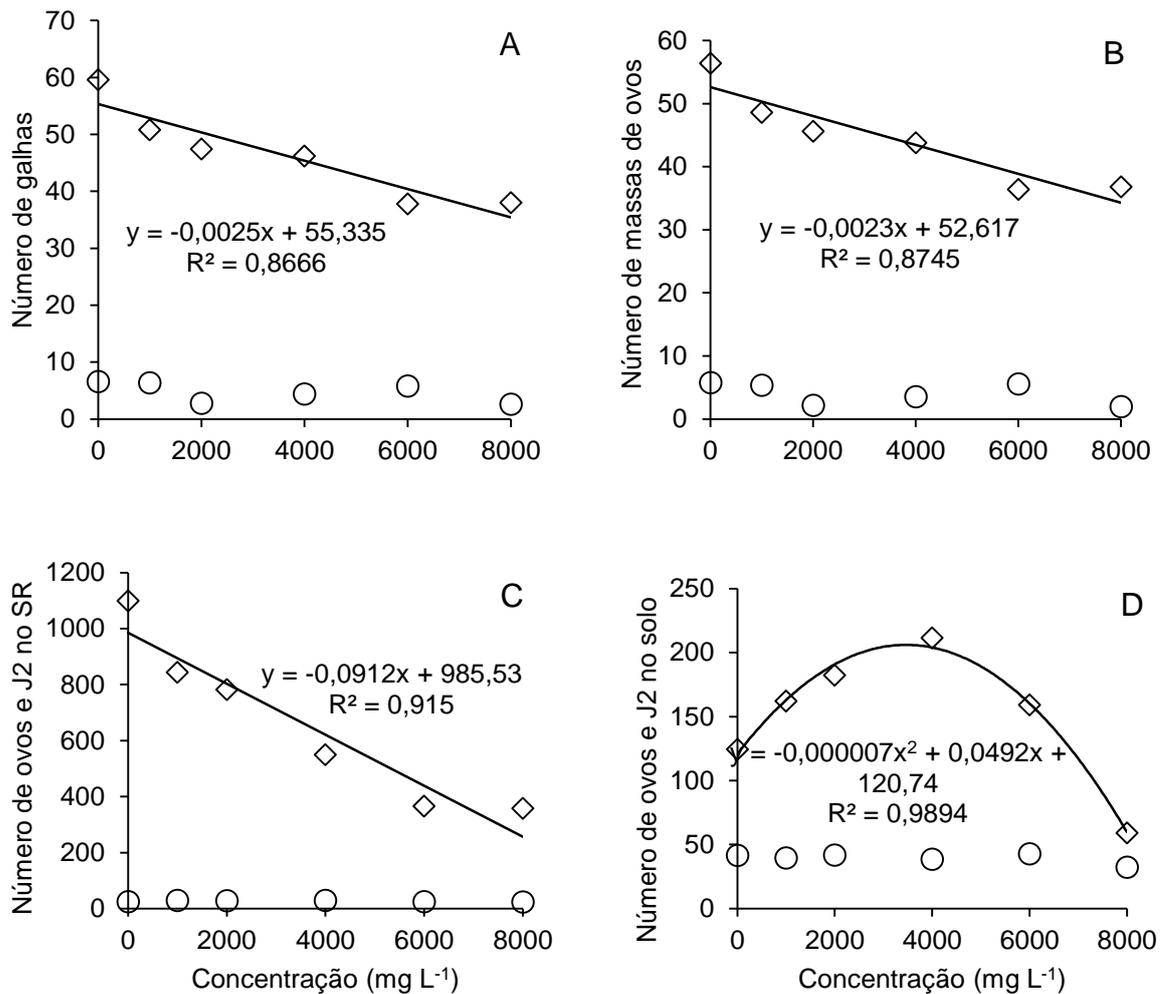


Figura 4 - Efeito das diferentes concentrações do extrato de abacate de coloração vermelha (EV) contido no hidrogel, usado na dose de 1,0 g cova⁻¹, em tomateiros suscetível (◇) (Santa Cruz Kada) e resistente (○) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*. Variáveis analisadas: número de galhas (NG) (A); número de massas de ovos (NMO) (B); número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) no sistema radicular (SR) (C) e em 100 cm³ de solo (D).

Para o número de galhas a redução dessa variável verificada na maior concentração do extrato, de 8.000 mg L⁻¹, foi de 36,24% em relação à testemunha, valor este mais elevado do que quando comparado à concentração de 1.000 mg L⁻¹ do ensaio 1, que foi de 13,89%, ambos os casos verificados em tomateiros suscetíveis na dose de 1,0 g cova⁻¹.

O mesmo fato pode ser relatado com o número de massas de ovos, o qual foi reduzido em 34,75% quando utilizada a concentração de 8.000 mg L⁻¹, e 15,45% de redução em relação à testemunha na concentração de 1.000 mg L⁻¹, ambos em tomateiros suscetíveis ao nematoide.

Para a variável número de ovos e juvenis no sistema radicular, a interação entre os fatores se mostrou significativa ($p < 0,05$), evidenciando uma redução linear

desta variável à medida que a concentração do extrato é elevada até 8.000 mg L⁻¹, sendo esta, a que proporcionou uma redução em torno de 67% de ovos e juvenis em tomateiros suscetíveis, em relação à testemunha. Para os tomateiros resistentes, este comportamento não foi verificado, por não haver interação significativa entre as concentrações (Figura 4C).

Ao observar os nematoides encontrados no sistema radicular dos tomateiros suscetíveis (Tabela 3), percebe-se que, mesmo após um ciclo de vida ter se completado, apenas cerca de metade da quantidade da população inicial foi quantificada, sendo em média 1.099,2 ovos e juvenis por sistema radicular. Este fato pode ter ocorrido devido ao inóculo utilizado apresentar uma maior quantidade de ovos em relação aos juvenis, o que, segundo Abrão e Mazzafera (2001) não garante o processo de infecção. Além disso, mencionam o fato desses ovos poderem estar em diferentes estádios de desenvolvimento, o que resultará em uma eclosão desuniforme.

Tabela 3 - Médias das variáveis número de galhas (NG), número de massas de ovos (NMO), e número de ovos e juvenis de segundo estádio (J2) no sistema radicular (SR) e em 100 cm³ de solo, sob a influência das duas variedades de tomateiros suscetível (S) (Santa Cruz Kada) e resistente (R) (Ivety) à *Meloidogyne incognita*, quando submetidas às diferentes concentrações do extrato da semente de abacate contida no hidrogel.

Concentração (mg L ⁻¹)	NG ¹		NMO ¹		Ovos e J2 – SR ¹		Ovos e J2 – solo ¹	
	S	R	S	R	S	R	S	R
Testemunha	59,6 b	6,6 a	56,4 b	5,8 a	1.099,2 b	25,2 a	124,4 b	41,6 a
1.000	50,8 b	6,4 a	48,6 b	5,4 a	844,0 b	29,2 a	162,0 b	39,6 a
2.000	47,4 b	2,8 a	45,6 b	2,2 a	782,4 b	28,8 a	182,0 b	41,8 a
4.000	46,2 b	4,4 a	43,8 b	3,6 a	549,2 b	29,6 a	211,6 b	38,6 a
6.000	37,8 b	5,8 a	36,4 b	5,6 a	366,0 b	25,6 a	159,2 b	43,0 a
8.000	38,0 b	2,6 a	36,8 b	2,4 a	358,0 b	24,2 a	59,0 b	32,4 a
CV (%)	17,57		17,47		5,48		8,25	

As médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas, para cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

¹Valor médio obtido de cinco repetições de cada tratamento, para cada variável. O hidrogel contendo as diferentes concentrações do extrato de semente de abacate foi utilizado na dose de 1,0 g cova⁻¹.

S: variedade suscetível; R: variedade resistente.

Além do mais, com o aumento da concentração do extrato de abacate, o qual pode ser considerado como uma solução repelente (MAISTRELLO; VACCARI; SASANELLI, 2010), houve uma diminuição da capacidade de parasitismo de *M. incognita*, o que pode ser explicado em função da duração do tempo em que o

juvenil levou para encontrar o seu hospedeiro. Com isso, há a necessidade de uma intensa atividade muscular e, conseqüentemente, um maior gasto do teor de lipídios, os quais são considerados a principal fonte energética do juvenil infectante (ROCHA et al., 2008).

Em trabalhos realizados por Campos, Campos e Pozza (2006), avaliando a patogenicidade de *M. javanica*, após diferentes períodos de incubação em água, verificaram que o teor de lipídios corporal decresceu de forma exponencial à medida que o tempo de incubação era aumentado, tendo perdas de 38,82% e 56,12% de lipídios aos dois e quatro dias de incubação, respectivamente. Observaram ainda que no 12º dia ocorreu uma perda de 88,65%, porém o nematoide ainda se locomovia, concluindo, portanto, que a capacidade do juvenil em infectar seu hospedeiro é reduzida com o gasto da reserva lipídica corporal, entretanto, a sua locomoção é mantida mesmo quando grande quantidade desta reserva é perdida.

Em relação à variável número de ovos e juvenis no solo, este apresentou comportamento semelhante com o verificado no ensaio 1, por proporcionar um aumento da quantidade de nematoides à medida que a concentração se eleva, sendo a concentração de 4.000 mg L⁻¹, a que apresenta o maior número de ovos e juvenis. A partir desta, a população final de *M. incognita* decresce até chegar na máxima concentração (8.000 mg L⁻¹) utilizada no estudo, na qual houve 52,57% de redução deste nematoide quando comparado à testemunha.

Isto pode ser explicado devido à influência dos minerais liberados da semente de abacate sobre a população de nematoides (DAIUTO et al., 2014; SALGADO; CAMPOS, 2003b) ou de alguma substância presente no extrato que interfira nos exsudatos liberados pela planta hospedeira, aumentando desta forma, a quantidade de nematoides na solução do solo, nas concentrações iniciais utilizadas.

Morillo e Silva (2015) sugerem que a aplicação de extratos vegetais sobre plantas de tomateiro pode promover modificações da constituição química dos exsudatos, afetando desta forma, a recepção dos estímulos quimiorreceptores dos juvenis, o que compromete a sua penetração, e conseqüentemente, esgota suas reservas de energia devido à contínua movimentação no solo.

O posterior declínio dessa variável provavelmente se dá em função da maior liberação dos compostos que são tóxicos aos nematoides, comprometendo o seu

desenvolvimento e a sua reprodução (MAISTRELLO; VACCARI; SASANELLI, 2010; SALGADO; CAMPOS, 2003a).

Avaliando-se as variedades de tomateiros (Tabela 3), para as variáveis número de galhas, de massas de ovos, de ovos e juvenis no sistema radicular e no solo, pode-se observar diferenças estatísticas em todas as concentrações testadas, sendo a resistente, em todos os casos, a que apresentou as menores médias.

5. CONCLUSÕES

Nos ensaios *in vitro*, a concentração de 1.000 mg L⁻¹ obtida a partir do extrato de abacate de coloração vermelha mostra-se mais eficiente na redução de juvenis eclodidos de *M. incognita*. A motilidade e mortalidade dos juvenis não foram influenciadas pelos extratos e suas concentrações.

A dose de 1,0 g de hidrogel por cova, impregnado de extrato de semente de abacate na concentração de 8.000 mg L⁻¹, foi a combinação mais eficiente no controle de *M incognita* em tomateiro suscetível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. Efeitos do nível do inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 1, p. 19-26, jan., 2001.
- ALVARENGA, M. A. Z. **Tomate**: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. 1. ed. Lavras: UFLA, 2004. 393 p.
- BAERMANN, G. Eine einfache methode zur auffindung von Ankylostomum (Nematoden) larven in erdproben. **Nederlandsch Indie**, Batavia, v. 57, n. 1, p. 131-137, jan., 1917.
- BEDENDO, I. P. Galhas. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. cap. 30, p. 493-499.
- BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia**: o estudo das doenças de plantas. 1. ed. Brasília: Otimismo, 2006. 265 p.
- BYRNE, M. E.; PARK, K.; PEPPAS, N. A. Molecular imprinting within hydrogels. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. 149-161, jul./ago., 2002.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito do tempo e da temperatura de incubação de juvenis de segundo estágio (J2) no teor de lipídio corporal e no parasitismo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 387-393, jul./ago., 2006.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agriculture Research Centre, 1972. 77 p.
- COSTA, M. J. N.; et al. Toxicidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27; n. 2, p. 245-250, abr./jun., 2001.
- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, Califórnia, v. 40; n. 1, p. 221-249, mai., 2002.
- DAIUTO, E. R.; et al. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 417-424, jun., 2014.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; et al. Induced resistance in the nematodes control. **African Journal of Agriculture Research**, v. 8, n. 20, p. 2312-2318, mai., 2013.
- DUSI et al. **A cultura do tomateiro (para mesa)**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993, 92 p.
- FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. cap. 13, p. 277-305.

- FERRAZ, S. et al. **Manejo sustentável de fitonematoides**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2012, 306 p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez., 2011.
- FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S. Efeito de extratos aquosos de espécies de Asteraceae sobre *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 1, p. 40-44, jan./mar., 2013.
- HARTMAN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985, p. 69-77.
- HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. 3-12, jan., 2002.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, n. 9, p. 692, out., 1964.
- LEITE, J. J. G. et al. Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 2, p. 110-113, mar./abr., 2009.
- LOPES; C. A.; SANTOS, J. R. M. **Doenças do tomateiro**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 67 p.
- MACIEL, S. L.; FERRAZ, L. C. C. B. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 2-3, p. 232-236, mai./dez., 1996.
- MAISTRELLO, L.; VACCARI, G.; SASANELLI, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologia**, Bratislava, v. 47, n. 1, p. 48-57, fev., 2010.
- MATEUS, M. A. F. et al. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 730-736, mai./jun., 2014.
- MOREIRA, L. C. B.; et al. Ação nematicida do eugenol em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 3, p. 286-291, jul./set., 2013.
- MORILLO, S. R. C.; SILVA, G. S. Efeito antagônico de feijão-de-porco sobre *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 305-310, mai., 2015.
- MÜLLER, M. A. et al. Mortalidade e motilidade de *Meloidogyne incognita* em extrato aquoso de alecrim. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 13, n. suplemento, p. 343-346, out., 2014.

NEVES, W. S.; et al. Efeito, *in vitro*, do extrato de sementes de mamão sobre a eclosão e juvenis de *Meloidogyne* spp. **Revista Tropic - Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 2, n. 3, p. 9-14, 2008.

PADOVANI, M. I. **Tomate: o “fruto do amor”** que conquistou o mundo. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1989. 152 p.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 331-338, ago., 2006.

ROCHA, F. S. et al. Migração de *Meloidogyne incognita* para as raízes de soja *in vitro*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 4, p. 294-302, mai., 2008.

ROCHA, F. S.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, R. M. Efeito de extrato de calos de diversas plantas na adesão de endósporos de *Pascoradaturia penetrans* e na infectividade e parasitismo de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 46-51, jan./mar., 2005.

RODRÍGUEZ-CARPENA, J. G.; et al. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, n. 10, p. 5625-5635, abr., 2011.

SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V. P. Eclosão e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 166-170, mar./abr., 2003a.

SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V. P. Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro e de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 41-48, mai., 2003b.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. cap. 6, p. 213-308.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr., 2002.

SOARES, S. E.; MIRANDA, M. S.; MANCINI FILHO, J. Composição química e perfil de ácidos fenólicos de semente de abacate das variedades Wagner e Prince. **Diálogos & Ciência**, Salvador, v. 10, n. 32, p. 233-237, dez., 2012.

SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – acerola. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.34, n.1, p. 69-77, 2013.

TAILOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. North Carolina State University Graphics, 1978, 110 p.

TAIZ, L.; ZEIGHER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-23, abr., 2004.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola**, Jaboticabal: FCAV, 1989. 80 p.

VALE, F. X. R.; et al. Manejo integrado das doenças do tomateiro: epidemiologia e controle. In: ALVARENGA, M.A.Z. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2004. cap.10, p. 213-308.

WANG, W.; BOSTIC, T. R.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. **Food Chemistry**, London, v. 122, n. 4, p. 1193-1198, mar., 2010.