

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

LILIAN LAGEM RODRIGUES

Manejo de *Meloidogyne javanica* em cultivo de alface

Alegre – ES

2014

LILIAN LAGEM RODRIGUES

Manejo de *Meloidogyne javanica* em cultivo de alface

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de *Magister Scientiae* em Produção Vegetal, na área de concentração em Fitossanidade.

Orientador: Prof. DSc. Fábio Ramos Alves.

Alegre – ES

2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

R696m Rodrigues, Lilian Lagem, 1989-
Manejo de Meloidogyne javanica em cultivo de alface / Lilian Lagem Rodrigues. – 2014.
60 f. : il.

Orientador: Fábio Ramos Alves.

Coorientador: Elcio do Nascimento Chagas.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Manejo alternativo. 2. Nematoides das galhas. 3. Alface. I. Alves, Fábio Ramos. II. Chagas, Elcio do Nascimento. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

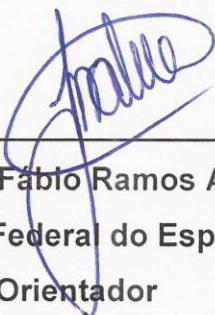
CDU: 63

LILIAN LAGEM RODRIGUES

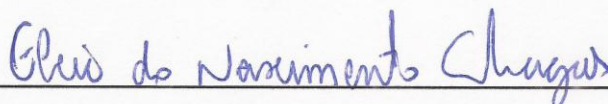
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, linha de pesquisa em Fitossanidade.

Aprovada em 30 de agosto de 2014

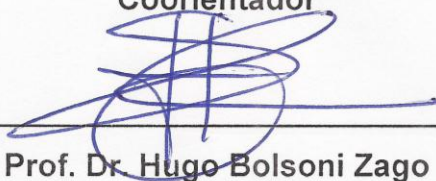
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Fábio Ramos Alves
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Elcio do Nascimento Chagas
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo –
Ifes Campus Alegre
Coorientador



Prof. Dr. Hugo Bolsoni Zago
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Willian Bucker Moraes
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICATÓRIA

A Deus, Pai de amor sublime que nunca me desamparou;

Aos meus amados pais, Sônia e Ademir (*in memoriam*);

Ao meu noivo, Israel;

A meus sobrinhos queridos, Isabella e Isaac, minha irmã Viviane e cunhado Carlos;

Ao querido Professor Fábio e todos os amigos que caminharam comigo nessa jornada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Deus todo poderoso, que em meio às dificuldades não me deixou desistir ou retroceder, por ter me capacitado, dado força e sabedoria, e acima de tudo, por direcionar e dar sentido à minha vida em todo o tempo;

À minha mãe amada, Sônia Maria Lagem, por todo o incentivo e dedicação em cuidar de mim e ser minha confidente e amiga, pela paciência e pelos conselhos;

Ao meu saudoso pai, Ademir José Rodrigues, por ter me incentivado enquanto presente e, quando ausente, deixado as condições necessárias para que eu seguisse nos estudos;

Ao meu amado noivo, Israel Souza Mendonça, pela compreensão, pelo incentivo e pela paciência;

Aos meus lindos sobrinhos, Isabella e Isaac, pelo amor puro e pelos momentos de descontração que me proporcionaram, junto com minha irmã Viviane L. R. de Abreu e cunhado, Carlos A. de Abreu Ferreira;

Aos meus queridíssimos amigos Abel, Paula, Solange e Kaira, que, mesmo não estando juntos todo o tempo, me proporcionaram momentos de descontração e muitas gargalhadas;

Aos dedicados colegas, Guilherme R. Câmara, Rafael A. Souza, Gabriela A. da Silva e Lucimara Venial, pela ajuda nas avaliações, sem a qual não teria conseguido concluir;

Ao querido professor Fábio Ramos Alves, que sempre me apoiou e me orienta desde o início de minha graduação, com certeza pude crescer e amadurecer muito com seus ensinamentos;

Ao ilustríssimo professor Élcio do Nascimento Chagas, pela coorientação e ajuda com a temida estatística;

Ao NUDEMAFI, pelo excelente espaço cedido para a realização das pesquisas;

Ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de estudo;

A CAPES, pelo apoio financeiro;

Aos professores do curso de Agronomia e do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pelos valiosos ensinamentos transmitidos;

A todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos, o meu muito obrigado!

BIOGRAFIA

Lilian Lagem Rodrigues, filha de Sônia Maria Lagem e Ademir José Rodrigues, nasceu em 23 de Fevereiro de 1989, em Guaçuí, ES.

Estudou na Escola Municipal de Primeiro Grau “Professor Lellis” de 1^a a 4^a séries e de 5^a a 8^a no Centro Educacional Adélia Barroso Biffano - CEABB, em Alegre, ES.

Interessada pelos estudos, em 2004 ingressou no curso Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Alegre - EAFA, concomitantemente ao Ensino Médio, se formando em 2006.

No ano de 2007, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, onde foi bolsista de Iniciação Científica e Monitora, obtendo o Título de Engenheira Agrônoma em fevereiro de 2012.

Em Março de 2012 ingressou no Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal em nível de mestrado, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, atividade a qual se dedicou até a data de sua defesa, em 30 de agosto de 2014.

“Pois o Senhor é quem dá sabedoria; de Sua boca procedem o conhecimento e o discernimento. Pv 2:6

“O temor do Senhor é o princípio da sabedoria, e o conhecimento do Santo é entendimento. Pv 9:10

“Se algum de vocês tem falta de sabedoria, peça-a a Deus, que a todos dá livremente, de boa vontade; e lhe será concedida.” Tg 1:5

“Aquele que nunca cometeu um erro, nunca tentou algo novo.” Albert Einstein.

RESUMO

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., estão entre os principais problemas fitossanitários da cultura da alface. O manejo desses patógenos muitas vezes é feito com produtos químicos. Porém, devido ao rápido ciclo da alface e os longos períodos residuais desses produtos químicos, pesquisadores do mundo todo têm pesquisado medidas alternativas de manejo desses patógenos. Assim, objetivou-se com o presente trabalho comparar a eficiência de diferentes táticas de manejo de *M. javanica* em alface. Foram conduzidos quatro experimentos consecutivos em uma área naturalmente infestada com *M. javanica* e cultivada com alface, cv. Regina 2000. Os experimentos foram conduzidos em parcelas subdivididas no tempo, no arranjo 6 (tratamentos) x 4 (avaliações, uma a cada ciclo de cultivo da alface - subparcelas), com 4 repetições em blocos casualizados. Os blocos foram constituídos de canteiros com 15,0 x 1,5 m sendo cada um deles cultivado com cerca de 210 plantas de alface. Cada canteiro/bloco foi dividido em seis áreas (parcelas), de 2,5 x 1,5 m, onde foram aplicados os tratamentos de forma aleatória, na cova de plantio antes do início de cada um dos ciclos de cultivo da alface. Foram testados os seguintes tratamentos: a) defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; b) defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*, c) defensivo a base de óleo de nim; d) óleo de mamona; e) nematicida Terbufós; e f) testemunha, sem adição de nenhum método de controle. Foi feito um estudo da atividade microbiana do solo submetido aos referidos tratamentos. Foram avaliados a massa seca (MSA) da parte aérea, o número de folhas (NF), o diâmetro do caule (DC), o número de galhas por planta (NG), o número de ovos por planta (NO), o número de juvenis de segundo estágio por planta (NJ), a população final (Pf) e o efeito de cada tratamento sobre a atividade microbiológica do solo (AM). As médias das variáveis foram submetidas à ANOVA e foi aplicado o teste de Duncan em nível de 5% de significância. O nematicida e os óleos reduziram a atividade microbiológica do solo após o quarto ciclo de cultivo, enquanto os tratamentos com microrganismos antagonistas incrementaram essa atividade. Em nenhum dos ciclos de cultivo da alface os tratamentos influenciaram o teor de clorofila nas folhas de alface. Somente no quarto ciclo de cultivo da alface é que se percebeu efeito marcante dos tratamentos sobre as variáveis avaliadas. Nesse ciclo, de maneira geral, as variáveis relacionadas ao crescimento das plantas foram menores na testemunha em relação aos demais tratamentos e a maioria dos tratamentos foi tão eficiente quanto o nematicida na redução populacional de *M. javanica*. Foi possível concluir ainda que a sequência de cultivos proporciona aumento considerável da população dos fitonematoides, quando métodos de manejo não são utilizados.

PALAVRAS-CHAVE: Manejo alternativo, nematoide-de-galhas, alface.

ABSTRACT

The root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., are among the main phytosanitary problems of the lettuce crop. The management of these pathogens is often made with chemicals. However, due to the rapid crop of lettuce and long residual periods of these chemicals, researchers around the world have investigated alternative management measures of these pathogens. Therefore, the present study aimed to compare the efficiency of different management techniques of *M. javanica* in lettuce. Four consecutive experiments were carried out in an area naturally infested with *M. javanica* and grown with lettuce, cv. Regina 2000. The experiments were carried out in split plot in time, on the arrangement of 6 (treatments) x 4 (evaluations, one on each crop of lettuce - subplots), with four replications in randomized blocks. The blocks were beds with 15,0 x 1,5 m where each one of them were grown around 210 lettuce plants. Each bed/block was divided in six areas (plots), of 2,5 x 1,5 m, where the treatments were randomly applied, in the planting hole before the start of each one of the crops. The following treatments were tested: a) defensive fungus based (*Pochonia chlamydosporia*), b) defensive fungus based (*Trichoderma harzianum*), c) defensive oil based (neem); d) castor beans oil; e) nematicide Terbufos; and f) control, without adding any treatment. A study of the microbial activity in the soil subjected to the treatments mentioned was done. Dry matter (MSA) of shoots, number of leaves (NF), stem diameter (DC), number of galls per plant (NG), number of eggs per plant (NO), number of juveniles of second stage per plant (NJ), final population (Pf) and the effect of each treatment on the microbiological activity in the soil (AM) were evaluated. The means of the variables were submitted to ANOVA and applied the Duncan test at 5% of significance level. The nematicide and the oils reduced the microbial activity in the soil after the fourth crop, while the treatments with antagonistic microorganisms increased this activity. The treatments did not influence the chlorophyll level in the leaves in any of the crops. Only in the fourth lettuce crop cycle is noticed significant effect of treatments on the variables analyzed. In this cycle, in general, the variables related to plant growth were lower in the control over the others, and most treatments was as efficient as the nematicide in population reduction of *M. javanica*. It was also possible to conclude that the sequence of crops provide considerable increase of the population of plant nematodes, when management methods are not used.

KEYWORDS: Damages, root knot nematodes, *Lactuca sativa*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivos Gerais	12
2.2. Objetivos Específicos	12
3. REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1. A cultura da alface	12
3.2. O gênero <i>Meloidogyne</i>	13
3.3. Suscetibilidade da alface a fitonematoides	14
3.4. Quantificação de danos e perdas em alface parasitada por fitonematoides.....	15
3.5. Controle biológico de fitonematoides	15
3.5.1. Controle biológico de fitonematoides com <i>P. chlamydosporia</i>	16
3.5.2. Controle biológico de fitonematoides com <i>Trichoderma</i> spp.	17
3.6. Manejo de fitonematoides com óleos essenciais e fixos	17
3.6.1. Óleos essenciais	17
3.6.2. Óleos fixos	18
3.7. Atividade microbiológica do solo	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1. Coleta e identificação da espécie de nematoide presente na área.....	19
4.2. Condições experimentais	21
4.3. Determinação da população inicial (Pi) dos fitonematoides na área experimental	22
4.4. Obtenção do óleo de mamona	22
4.5. Condução dos experimentos.....	23
4.6. Determinação da atividade microbiológica do solo.....	24
4.7. Análise estatística	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1. Identificação da espécie de nematoide presente na área experimental	25
5.2. Determinação da Pi dos fitonematoides	26
5.3. Determinação da atividade microbiológica do solo.....	27
5.4. Manejo de <i>M. javanica</i>	28
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS	41
8. ANEXOS	60

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.), família Asteraceae, é a hortaliça folhosa de maior consumo no Brasil (HENZ e SUINAGA, 2009; CEAGESP, 2014) e, segundo Henz e Suinaga (2009), o desenvolvimento de cultivares adaptadas a diferentes climas permite o cultivo dessa planta ao longo de todo o ano.

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* Goeldi, 1887, estão entre os principais problemas fitossanitários em hortaliças cultivadas sob condições tropicais (SIKORA e FERNANDEZ, 2005) e seu manejo efetivo é fundamental para assegurar a lucratividade do produtor rural (HALBRENDT e LAMONDIA, 2004). Entretanto, o manejo desses patógenos é dificultado pela sua alta capacidade reprodutiva, ampla gama de hospedeiros e adaptação a diferentes ecossistemas (FERRAZ, 1985).

O manejo integrado de doenças de plantas é o caminho mais seguro e racional a ser trilhado rumo a uma agricultura sustentável, onde visa-se obter maior produtividade para os agricultores com menor agressividade ambiental (JESUS JÚNIOR et al., 2008). Apesar disso, culturalmente, o agricultor tende a confiar mais em produtos químicos para manejo de qualquer epidemia devido aos resultados rápidos que estes produtos apresentam (ALVES et al., 2007). Todavia, devido à crescente pressão da sociedade por produtos agrícolas com o mínimo possível de resíduos de agroquímicos, medidas alternativas de manejo de fitonematoides têm sido pesquisadas em todo o mundo.

Ferraz et al., (2010) indicam várias medidas de manejo dos fitonematoides. Mas, de acordo com os autores, é de fundamental importância o conhecimento do momento adequado para implementá-las quando se pensa na aplicação integrada das táticas de manejo. Segundo Campos (1999), o ideal é manipular a população do nematoide para mantê-la abaixo do limiar de dano econômico, definido como a intensidade de doença na qual o benefício do controle iguala-se ao seu custo.

Dentre as diversas formas alternativas de manejo de fitonematoides, a utilização dos óleos de mamona (*Rinicus communis* L.) e de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) vem sendo cada vez mais investigada por vários cientistas em todo o mundo com resultados bastante promissores (HUSSANI, et al., 1996; FERRIS e ZHENG, 1999; CHITWOOD, 2002; FERRAZ et al., 2010).

O controle biológico de fitonematoides também vem ganhando destaque nos estudos científicos, dentre estes se destaca o emprego de fungos como *Pochonia chlamydosporia* Zare

& Gans (sin. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) e *Trichoderma* spp., importantes agentes biológicos estudados e já produzidos em escala comercial (FERRAZ et al., 2010).

Os microrganismos do solo desempenham papel fundamental na gênese do solo e ainda atuam como reguladores de nutrientes pela decomposição da matéria orgânica e ciclagem dos elementos, atuando, portanto, como fonte e dreno de nutrientes para o crescimento das plantas (ANDREOLA e FERNANDES, 2007).

Embora medidas alternativas de manejo de fitonematoides, como a utilização de óleos essenciais e o controle biológico venham sendo muito estudadas nos últimos anos, ainda há uma necessidade maior de estudos sobre o impacto dessas medidas de manejo sobre os microrganismos do solo.

2. OBJETIVOS

2.1.Gerais

Estudar a eficiência de diferentes táticas de manejo de *Meloidogyne javanica*.

2.2.Específicos

Comparar a eficiência de diferentes táticas de manejo de *M. javanica* em alface no campo aplicando-se os seguintes tratamentos: a) defensivo biológico à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; b) defensivo biológico à base do fungo *Trichoderma harzianum*, c) defensivo à base de óleo de nim; d) óleo de mamona; e) nematicida Terbufós; e f) testemunha, sem adição de nenhum método de controle;

Estudar a atividade microbiana do solo submetido aos referidos tratamentos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A Cultura da alface

A cultura da alface pertencente à família Asteraceae, é originária da região do Mediterrâneo e descende de espécies silvestres que ainda são encontradas em regiões de clima temperado no sul da Europa e na Ásia Ocidental (GOTO e TIVELLI, 1998). É a mais popular das hortaliças folhosas, sendo cultivada em quase todas as regiões do globo terrestre (FERNANDES et al., 2002), bem como em todo o território brasileiro (COSTA e SALA, 2005).

Trata-se de uma planta herbácea com folhas dispostas em forma de roseta, podendo ser lisas ou crespas, formar ou não cabeça, ter coloração em vários tons de verde ou até roxo, dependendo da cultivar. Apresenta ciclo de aproximadamente 45 dias, área foliar expandida e sistema radicular do tipo fasciculado e pouco profundo. É uma planta de clima subtropical, exigindo temperaturas entre 12 e 24 °C, solos areno-argilosos e ricos em matéria orgânica (VIDIGAL et al., 1995; FILGUEIRA, 2003).

A alface é considerada uma boa fonte de vitaminas B1, B2, C, cálcio e ferro (FERNANDES et al. 2002), além de apresentar baixo teor de calorias e propriedades tranquilizantes, características que, aliadas a seu baixo custo, produção durante todo o ano e facilidade de aquisição, tornam-na uma das formas de salada *in natura* mais consumidas por todas as classes sociais brasileiras (VIGGIANO, 1990; KATAYAMA, 1993; OHSE et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2004; COMETTI et al., 2004).

Estima-se que, em 2013, 66301 propriedades rurais estavam produzindo alface comercialmente no Brasil, sendo 30% na região sudeste, 30% na região sul, 26% na região nordeste, 7% na região centro-oeste e 6% na região norte, sendo que a produção brasileira de alface era, no mesmo ano, de 525.602 toneladas, onde o estado de São Paulo respondia por 31% da produção brasileira total, seguido por Rio de Janeiro (27%) e Minas Gerais (7%). De forma geral, a alface, no ano de 2013, respondia por 11% da produção total de hortaliças no Brasil (HORTIBRASIL, 2014).

3.2. O gênero *Meloidogyne*.

Os nematoides formadores de galhas radiculares pertencem ao Reino Animal, ao Filo Nematoda Potts, 1932; à Classe Chromadorea Inglis, 1983; à Subclasse Chromadoria Pearse, 1942; à Ordem Rhabditida Chitwood, 1933; à Subordem Tylenchina Thorne, 1949; à Infraordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxter, 2002; à Superfamília Tylenchoidea Örley, 1880; à Família Meloidogynidae Skarbilovich, 1959; à Subfamília Meloidogyninae Skarbilovich, 1959 e ao Gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1892, conforme classificação proposta por De Ley e Blaxter (2002).

O ciclo de vida dos nematoides desse gênero é de aproximadamente 28 dias, podendo prolongar-se sob condições climáticas desfavoráveis. Temperaturas inferiores a 20 °C ou superiores a 35 °C e condições de seca ou de encharcamento do solo afetam o desenvolvimento e a sobrevivência do nematoide, tornando seu ciclo mais longo (COSTA et al., 2000).

A formação de galhas é o sintoma mais característico desse nematoide. Tais galhas aparecem principalmente nas raízes mais finas, sendo resultado de fenômenos de hipertrofia e hiperplasia de células do parênquima vascular da raiz (TIHOHOD, 2000).

As galhas podem ser diminutas ou atingir diâmetro superior a 15 mm, dependendo da severidade da infestação. Células hipertróficas multinucleadas, também conhecidas como células gigantes, funcionam como verdadeiros armazéns no suprimento alimentar dos nematoides sedentários (COSTA et al., 2000). A formação dessas células gigantes provoca uma interrupção e desorganização do sistema vascular, com conseqüente diminuição na absorção e no transporte de água e nutrientes, influenciando diretamente a produtividade (COFCEWICZ et al., 2001).

No Brasil, as espécies de maior ocorrência são *M. incognita* (Kofoid & White) e *M. javanica* (Treub), e, embora tais espécies apresentem hábito de vida sedentário, sua multiplicação e permanência no solo dificultam muito o manejo, pois cada fêmea pode depositar mais de 500 ovos durante seu ciclo de vida (CARNEIRO et al., 2003; CARNEIRO et al., 2007).

3.3. Suscetibilidade da alface a fitonematoides

A suscetibilidade da alface às doenças é um fator limitante à produção dessa hortaliça. Segundo Filgueira (2003), são conhecidas diversas doenças às quais a alface é suscetível, devendo ser evitado, o quanto possível, o uso de agrotóxicos no manejo fitossanitário, pois estes podem deixar resíduos tóxicos nas folhas que são consumidas.

As principais doenças da alface são o mosaico-da-alface (*Lettuce mosaic vírus*), o vira-cabeça (*Tomato spotted wilt vírus*), a septoriose (*Septoria lactucae*), a podridão-basal (*Sclerotinia sclerotiorum*) e o míldio (*Bremia lactucae* Regel) (FILGUEIRA, 2000). Entretanto, em condições tropicais, as plantas de alface podem ser severamente afetadas por *Meloidogyne* spp. (FIORINI et al., 2005).

As perdas nessa cultura devido ao parasitismo desses patógenos estão estimadas entre 10 e 100% (Pinochet, 1987), sendo as espécies de maior importância *M. incognita* e *M. javanica* (NETSCHER e SIKORA, 1990). É importante destacar que o cultivo sucessivo dessa hortaliça em uma mesma área pode agravar problemas nematológicos devido à elevação dos níveis populacionais de *Meloidogyne* spp. (TAYLOR e SASSER, 1978).

Cultivares de alface, quando atacadas por *Meloidogyne* spp., comumente apresentam debilidade intensa das plantas, ocasionada pela densa formação de galhas no sistema radicular

que obstruem a absorção de água e nutrientes do solo, resultando em plantas amareladas, com cabeça de tamanho reduzido, pequeno volume foliar e sem valor para o consumo ‘in natura’ (CHARCHAR e MOITA, 1996; RABELLO, 2010).

3.4. Quantificação de danos em alface parasitada por fitonematoides.

Segundo Michereff (2004), há muitos trabalhos sobre os danos causados por doenças foliares, mas poucos são aqueles relacionados a patógenos radiculares, entre eles os fitonematoides. Segundo o autor, deve-se determinar o impacto desses patógenos sobre as culturas parasitadas e, para isso, deve-se considerar não apenas a espécie do patógeno, mas também o seu nível populacional na área.

Jesus Junior et al. (2004) afirmaram que a estimativa confiável dos danos causados por patógenos é crucial para que se desenvolva um programa bem-sucedido de manejo de doenças, independente do método a ser empregado.

Em um desses estudos em que se objetivou quantificar os danos em alface parasitada por *M. incognita* em dois tipos de solo, Peixoto et al. (2011) observaram que quanto maior o número de nematoides infectando as plantas, menor a quantidade de água e nutrientes que chegavam às folhas, o que causou redução da produção comercial com consequentes perdas econômicas para o produtor.

Rabello (2010) observou que a massa da matéria fresca e o número de folhas de alface cv. Vitória de Santo Antão decresceram a ponto de tornar o cultivo inviável à medida que a população de *M. javanica* aumentou em área naturalmente infestada pelo patógeno.

Apesar desses relatos, raras são as pesquisas no Brasil com o intuito de se quantificar os danos causados por nematoides, principalmente na cultura da alface cultivada no campo.

3.5. Controle Biológico de Fitonematoides

O termo “controle biológico” é definido como sendo a redução da população de um organismo vivo alvo por outro organismo vivo (STIRLING, 1991). Este controle pode ocorrer naturalmente, por meio do equilíbrio biológico natural da microbiota do solo, ou de forma induzida, implementado por programas que visam aumentar a população e a atividade dos antagonistas dos nematoides (JATALA, 1986; STIRLING, 1991; FERRAZ e SANTOS, 1995).

O controle biológico baseia-se na relação antagônica entre microrganismos benéficos e fitopatógenos, podendo ser caracterizado por diferentes modos de ação, como a competição

por espaço e nutrientes, a antibiose, o parasitismo e a indução de resistência da planta hospedeira (PAPAVIZAS, 1985; MORAES, 1991; MELO e AZEVEDO, 1998).

Os organismos antagonistas comumente estudados para o controle biológico de fitonematoides são as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas; as bactérias parasíticas; os fungos nematófagos endoparasitos; os fungos parasitos de ovos e de fêmeas; os fungos predadores e os fungos endomicorrízicos (SIKORA, 1992). Dentre os organismos potenciais, os mais estudados são os fungos (CARNEIRO e FREITAS, 2000).

3.5.1. Controle Biológico de fitonematoides com *P. chlamydosporia*

Alguns dos fungos nematófagos parasitos de ovos e fêmeas são *P. chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus*. O primeiro, conhecido anteriormente por *Verticillium chlamydosporium*, é um dos fungos mais pesquisados para o controle biológico de fitonematoides (KERRY, 1997; BOURNE e KERRY, 1999; BOURNE, 2001; KERRY e BOURNE, 2002), devido a algumas características importantes que apresenta, como o fato de ser bom competidor saprofítico, de fácil estabelecimento no solo e colonizar rapidamente ovos e fêmeas de fitonematoides, destruindo de uma só vez considerável número de indivíduos (STIRLING, 1991).

A redução da população de nematoides proporcionada por *P. chlamydosporia* foi relatada pela primeira vez em 1974, em trabalho feito por Willcox e Tribes (1974), quando o antagonista foi isolado de cistos de *Heterodera schachtii* Schmidt. Desde então, trabalhos vêm sendo desenvolvidos visando o manejo do nematoide das galhas pela utilização deste fungo, e o sucesso no manejo já foi relatado por vários autores (LOPES et al. 2007; COUTINHO et al., 2009 e DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010).

Dalle mole-Giaretta et al. (2010) avaliaram o controle de *M. javanica* pela aplicação de palha de café colonizada ou não por *P. chlamydosporia*, e concluíram que a incorporação do material colonizado pelo fungo ao solo reduziu em até 46,6 e 71,7 % os números de galhas e ovos, respectivamente.

Em trabalho realizado por Coutinho et al. (2009), o isolado Pc-10 aplicado na dosagem de 5000 clamidósporos/g de solo de *P. chlamydosporia* promoveu a redução no número de galhas e de ovos de *Meloidogyne javanica*. Lopes et al. (2007) observaram a redução no número de ovos desse nematoide em diferentes experimentos em que foram utilizados quatro isolados do fungo. Apesar dos resultados positivos obtidos para o controle

do manejo de nematoides usando esse antagonista, ainda são poucos os experimentos realizados em campo.

3.5.2. Controle Biológico de fitonematoides com *Trichoderma* spp.

Certos fungos nematófagos são produtores de metabólitos tóxicos que interferem no comportamento do fitonematoide. Entre estes se destacam *Trichoderma* spp., *Paecilomyces lilacinus*, *Myrothecium* spp., *Penicillium* spp., *Pleurotus* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp (STIRLING, 1991; FERRAZ e SANTOS, 1995; CHEN e DICKINSON, 2004).

O antagonista *Trichoderma* spp. vem sendo pesquisado para o manejo de fungos fitopatogênicos e fitonematoides (ETHUR et al., 2001; SHARON et al., 2001; SHARON et al., 2007). A atividade antagonista que este fungo exerce ocorre principalmente devido à produção de enzimas líticas extracelulares degradadoras da parede celular dos fungos, tais como quitinases, β -1, 4-glucanases e proteases (CORABI-ADELL e LUCON, 2002). A capacidade de degradar quitina permite sua atuação no manejo de nematoides, uma vez que este polímero é o principal constituinte do ovo desses patógenos.

Sharon et al. (2001) avaliaram o mecanismo de atividade de *T. harzianum* em plantas de tomate pela utilização direta do fungo e pelo isolamento de proteínas nematófagas incorporadas às plantas. Quando as proteínas foram adicionadas diretamente sobre as raízes, não houve controle biológico eficiente e nem a prevenção da penetração e do desenvolvimento do nematoide nas raízes. Com isso, os autores concluíram que a principal atividade contra o nematoide promovida por *T. harzianum* acontece no solo, e não nas raízes.

3.6. Manejo de fitonematoides com óleos essenciais e fixos

3.6.1. Óleos essenciais

A utilização de óleos essenciais também vem sendo bastante estudada para manejo de fitonematoides (WILSON et al., 1997; BALDO et al., 2005). São produtos obtidos a partir do metabolismo secundário das plantas, e podem conter mais de 300 componentes químicos diferentes. São aplicados nas mais diversas áreas, como medicina, perfumaria e cosmetologia e até mesmo na indústria alimentícia. Estruturas como terpenos, sesquiterpenos, fenólicos, fenil propanoicos, alifáticos não-terpênicos, heterocíclicos, álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos, ésteres, acetatos, são alguns exemplos da composição química dos óleos

essenciais, sendo que cada um contribui com sua característica aromática e ação bioquímica (WOLFFENBÜTTEL, 2007).

Há relatos de óleos essenciais atuando sobre diferentes patógenos, entre eles os nematoides fitopatogênicos (WILSON et al., 1997; MOTOYAMA et al., 2003; BALDO et al., 2005). Segundo Schwan-estrada et al., (1997) e Stangarlin et al., (2005), esses óleos podem agir também de forma direta ativando mecanismos de defesa das plantas. Por isso, esses óleos são potencialmente úteis no manejo de doenças de plantas cultivadas, especialmente na agricultura orgânica, pois são importantes na defesa das plantas contra microrganismos e predadores (OKA et al., 2000; SALGADO et al., 2003).

3.6.2. Óleos fixos

Óleos fixos são ácidos graxos extraídos das sementes de plantas oleaginosas, cuja principal função é proteger a própria planta contra a ação de organismos maléficos, bem como evitar a perda de água. Caracterizam-se por não apresentarem evaporação ou volatilização completa e por se manterem fluidos em temperatura ambiente. Quimicamente são compostos predominantemente por triacilgliceróis, que têm ácidos graxos diferentes e idênticos, esterificados nas três posições hidroxila da molécula de glicerol (ROBBERS, et al., 1997).

A mamona (*Ricinus communis* L.) pertencente à família Euphorbiaceae é uma planta oleaginosa, destacando-se por sua relevante importância econômica e social com inúmeras aplicações industriais. Das sementes é extraído óleo fixo que, de uma maneira geral, tem diversas utilidades nas indústrias. A torta é o subproduto obtido após a extração do óleo com elevada toxicidade contra fungos, insetos (BAHIA, 1994) e nematicidas (SASSER, 1989).

As suas sementes contêm ricina, um alcaloide extremamente tóxico para animais e seres humanos, e principal responsável pela atividade nematicida exercida por essa planta (RICH et al., 1998; FILHO SAVY, 2005). Essa substância é encontrada no endosperma das sementes de mamona (Pinkerton et al. 1999).

3.7. Atividade microbiológica do solo

A qualidade do solo é um conceito amplo e refere-se ao equilíbrio entre os condicionantes químicos, físicos e biológicos presentes. Para a avaliação da qualidade de um solo tem sido postulada a necessidade de identificação de parâmetros indicativos de seu estado de conservação e/ou degradação. A diversidade microbiana, em virtude dos microrganismos estarem na base da cadeia trófica e intrinsecamente associados aos diversos

processos ecológicos do solo, tem figurado como um importante indicador da qualidade do solo (ZILLI et al, 2003).

Coletivamente chamados de microbiota, os microrganismos são representados por cinco grandes grupos: bactérias, actinomicetos, fungos, algas e protozoários. Apesar de constituírem somente 1 a 4 % do carbono total e ocuparem menos de 5% do espaço poroso do solo, a diversidade e a quantidade dos microrganismos é bastante elevada (ANDREOLA e FERNANDES, 2007).

Em ecossistemas não manipulados, a microbiota encontra-se em equilíbrio com o solo, mantendo assim a sua biodiversidade. Todavia, toda e qualquer interferência do homem sobre esse ecossistema resulta em quebra do equilíbrio e importantes alterações na microbiota (ANDREOLA e FERNANDES, 2007).

Quando se pensa em manejo de fitonematoides, o controle químico, por meio de nematicidas, é comprovadamente eficiente e, por isso amplamente utilizado (NOVARETTI et al., 1998). Entretanto, esses produtos persistem no solo, são prejudiciais aos seres humanos e à microbiota do solo (JATALA, 1986; STIRLING, 1991; KERRY, 2001). Por isso, vários estudos vêm sendo realizados visando à busca por métodos de manejo tão eficazes quanto o químico, porém menos agressivos e de menor custo como o controle biológico e o uso de óleos vegetais (SOUZA JÚNIOR et al., 2010; CAPRONI et al., 2012 e PODESTÁ et al., 2013).

Embora essas medidas alternativas de manejo de fitonematoides venham sendo amplamente estudadas nas últimas décadas, ainda há pouco estudo sobre o impacto dessas medidas sobre os microrganismos do solo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta e identificação da espécie de nematoide presente na área

A identificação da espécie de nematoide presente na área foi feita por meio da técnica de eletroforese da isoenzima esterase (Carneiro e Almeida, 2001).

Para isso, antes da instalação do experimento, foram coletadas, aleatoriamente, 30 plantas, em área naturalmente infestada pelo nematoide, no município de Iúna, Es. A área situa-se a 649 metros de altitude, 20° 23' 41'' de latitude sul e 41° 32' 31'' de longitude oeste. As amostras foram encaminhadas imediatamente ao laboratório de fitopatologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças

(NUDEMAFI), Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) para a extração das fêmeas. De cada planta foram retiradas 10 fêmeas para identificação, resultando em um total de 300 fêmeas analisadas.

Como padrão de referência, foram utilizadas fêmeas de *M. javanica* multiplicadas e mantidas em raízes de tomate cv. Santa Clara, cultivado em casa de vegetação no CCA-UFES. Foram selecionadas fêmeas com coloração branco-leitosa, que normalmente apresentam um maior teor de proteínas, e propiciam melhor resultado na corrida eletroforética.

As fêmeas foram colocadas em microtubos com 15µL de solução extratora, composta de 2g de sacarose, 200µL de Triton X-100, 7,8mL de água destilada e 3 gotas de solução de azul de bromofenol.

Após a extração, foi preparado um gel de poliacrilamida em duas etapas:

Gel de corrida: 1,925mL de tampão de corrida (18,5g de Tris-base e 1.000mL de água destilada), 3,08mL de Bis-acrilamida (29,2g de acrilamida, 0,8g de bis-acrilamida e 100mL de água destilada), 6,4mL de água destilada, 10 µL de Temed e 100µL de solução de Persulfato de amônio. O gel foi colocado em placa de vidro até sua polimerização, que ocorreu por volta de 15 a 20 minutos;

Gel de empilhamento: 1,925mL de tampão de empilhamento (6g de Tris-base e 1000mL de água destilada), 3,08mL de Acrilamida-bis (29,2g de acylamide, 0,8g de bis-acrylamide e 100mL de água destilada), 6,4 mL de água destilada, 10 µL de Temed e 100 µL de solução de Persulfato de amônio. O gel foi colocado em placa de vidro até sua polimerização, que ocorreu por volta de 20 a 25 minutos.

Após a polimerização do segundo gel, dez canaletas de cada gel foram preenchidas com solução tampão de eletrodo (1,5g de Tris-base, 7,1g de glicina e 1000mL de água), e logo em seguida as fêmeas de nematoide foram maceradas com microbastões de vidro, retiradas dos microtubos com micropipetas e colocadas nas canaletas.

Na primeira canaleta foram colocadas as fêmeas de *M. javanica* (utilizadas como padrão de identificação) e, nas demais, as fêmeas a serem identificadas. As placas foram colocadas na cuba de eletroforese e cobertas com a solução tampão do eletrodo. A fonte ligada a cuba, teve sua voltagem regulada para 80V por 15 minutos, tempo necessário para que as proteínas penetrem no primeiro gel. Após, aumentou-se a voltagem para 200V por 50 minutos. A fonte permaneceu ligada por 65 minutos.

Após esse tempo, procedeu-se a retirada do gel, que foi colocado em um recipiente para ser corado. A solução corante é constituída de 100 mL de solução tampão fosfato (preparada com 815 mL de solução feita com 13,8 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água destilada e 185 mL de fosfato de sódio bibásico em 1000 mL de água destilada); 0,1 g de Fast Blue RR e 0,05 g de α -Naftil. Após verter a solução corante sobre o gel, o recipiente foi colocado em estufa a 37°C por 60 minutos.

Após esse período, a solução corante foi drenada e substituída por solução descorante, composta de 650 mL de água destilada, 300 mL de metanol e 50 mL de ácido acético. Após 60 minutos, a solução descorante foi drenada e o gel lavado com água destilada e colocado em solução secadora, composta de 24 mL de glicerol, 400 mL de etanol e 600 mL de água destilada.

4.2. Condições experimentais

Foram conduzidos quatro experimentos consecutivos em uma área naturalmente infestada com *M. javanica* e cultivada com alface, cv. Regina 2000, no município de Iúna, Es, no período de Abril de 2013 a Março de 2014. O clima da região é classificado como Cwa – clima subtropical úmido (Classificação climática de Köppen), com temperaturas médias anuais variando de 8 a 27 °C, aproximadamente.

O experimento foi conduzido em parcelas subdivididas no tempo, no arranjo 6 (tratamentos) x 4 (avaliações, uma a cada ciclo de cultivo da alface - subparcelas), com 4 repetições em blocos casualizados.

Os blocos foram constituídos de canteiros com 15,0 x 1,5 m sendo cada um deles cultivado com cerca de 210 plantas de alface. Cada canteiro/bloco foi dividido em seis áreas (parcelas), de 2,5 x 1,5 m, onde foram aplicados os tratamentos de forma aleatória, na cova de plantio antes do início de cada um dos ciclos de cultivo da alface.

Foram testados os seguintes tratamentos:

T1 - defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia* (2 Kg/ha);

T2 – defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum* (1 L/ha);

T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), perfazendo um total de 100 L de solução/ha;

T4 - óleo de mamona extraído a frio a 1%;

T5 - nematicida Terbufós, (20 Kg/ha);

T6 - testemunha.

4.3. Determinação da população inicial (Pi) dos fitonematoides na área experimental

A Pi de fitonematoides no solo foi determinada pela técnica de Jenkins (1964). Para tanto, 5 amostras de solo foram coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm, de forma aleatória, em cada uma das parcelas onde cada tratamento seria aplicado. Essas amostras foram misturadas e homogeneizadas, formando-se 6 amostras compostas a partir de 30 amostras simples por bloco.

As amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno, etiquetadas, e levadas imediatamente ao laboratório de fitopatologia do NUDEMAFI/CCA-UFES para análise. Das amostras compostas, foram tomadas porções de 100 cm³ de solo, homogeneizadas em balde com cerca de 2 litros de água, quebrando-se os torrões. Após 20 segundos, quando as partículas de argila e os detritos já haviam decantado, verteu-se o líquido sobre uma peneira de 60 mesh acoplada à outra de 400 mesh. O material retido na última peneira foi recolhido em copo tipo Becker de 100 mL, com auxílio de uma piseta com água.

A suspensão contida no copo tipo Becker foi transferida para tubos de centrífuga, os quais foram completados com água. As amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 1750 rpm, e o sobrenadante descartado ao final do processo. Ao material precipitado foi adicionada uma solução de sacarose, que foi preparada misturando-se 454 g de açúcar e água até completar 1 L. As amostras foram centrifugadas por 1 minuto a 1750 rpm, o sobrenadante vertido em peneira de 400 mesh, o qual foi cuidadosamente lavado com água para retirar o excesso de sacarose.

A amostra foi recolhida em um copo tipo Becker com auxílio de uma piseta com água, e os nematoides contados em câmara de Peters, sob microscópio óptico, repetindo-se a contagem por 3 vezes para cada amostra.

4.4. Obtenção do óleo de mamona

Sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) variedade IAC 80 foram coletadas na cidade de Muqui-ES (latitude: -20° 57' 06" e longitude: -41° 20' 45"). As sementes foram acondicionadas em sacolas de papel e levadas ao NUDEMAFI, lavadas em água corrente e secas em estufa a 40 °C durante 24 horas. A extração do óleo foi feita utilizando-se o método de prensagem a frio. Para isso pesou-se 1 kg de semente de mamona e colocou-se em um filtro prensa. Após a extração, foram obtidos 480 g de óleo. Posteriormente, o óleo foi

armazenado em recipiente de vidro hermeticamente fechado, identificado e mantido em sala climatizada a 25 ± 2 °C e fotofase de 12h para execução dos experimentos.

4.5. Condução dos experimentos

A temperatura do solo durante os quatro períodos experimentais foi monitorada com auxílio de 2 termômetros introduzidos no solo a 20 cm de profundidade e equidistante na área experimental, sendo as temperaturas coletadas diariamente às 07 e 15 horas e calculado a média durante cada período experimental. Já a temperatura do ar e a precipitação média foram monitoradas na região de instalação do experimento e fornecidas pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural do Espírito Santo – Incaper (INCAPER, 2014a; INCAPER, 2014b).

Na tabela 1 estão indicados os períodos experimentais, as temperaturas do ar e do solo e a precipitação média durante a condução de quatro ciclos de cultivo da alface.

Tabela 1. Duração de quatro experimentos com a cultura da alface cv. Regina 2000 na região de Iúna, ES, temperaturas máximas e mínimas do ar e do solo, e precipitação média durante os respectivos períodos experimentais.

Ciclos de cultivo	Período experimental		Duração do período experimental (dias)	Temperaturas máximas e mínimas do solo (°C)	Temperaturas máximas e mínimas do ar (°C)*	Precipitação média (mm)**
	Início	Final				
1°	26/04/2013	10/06/2013	46	18,5 a 22	20 a 29	68,2
2°	06/07/2013	21/08/2013	47	14 a 19	15 a 27	8,2
3°	01/11/2013	20/12/2013	50	19 e 23	18 a 26	342,5
4°	04/02/2014	20/03/2014	45	20 a 23	23 a 30	22,1

*(INCAPER, 2014a); **(INCAPER, 2014b).

As características físicas e químicas do solo onde os experimentos foram conduzidos foram analisadas no Laboratório de Análises Químicas de Solo “Raphael M. Bloise”, localizado no CCA-UFES, sendo o mesmo classificado como de textura média tendo apresentado 635,65 g/Kg de areia; 53,50 g/Kg de silte; e 310,85 g/Kg de argila (Anexo 1). Também apresentou as seguintes características químicas: pH = 5,61; P = 165,59 mg/dm³; K = 147,00 mg/dm³; Na = 3,00 mg/dm³; Ca = 1,50 cmol/dm³; Mg = 0,56 cmol/dm³; Al = 0,05

cmol/dm³; H + Al = 3,05 cmol/dm³; SB = 2,45 cmol/dm³; t = 2,50 cmol/dm³; T = 5,50 cmol/dm³; V = 44,49 % e m = 2,00 % (Anexo 2).

As mudas de alface para condução dos experimentos foram produzidas *in situ* pelo próprio agricultor e levadas a campo 20 dias após o semeio.

Foi feita uma adubação a cada ciclo de cultivo, conforme recomendações para a cultura (Manual de Calagem e Adubação para o Espírito Santo, 5ª aproximação).

Ao final de cada ciclo de cultivo da alface foram coletadas 5 plantas por parcela por bloco, perfazendo um total de 120 plantas avaliadas por ciclo de cultivo. Para a coleta, tomou-se o cuidado de eliminarem-se os efeitos de borda, ou seja, não foram coletadas plantas das extremidades das áreas de cada tratamento.

Antes da coleta das plantas, foram feitas avaliações do teor de clorofila total das folhas de 5 plantas (TC), com auxílio do aparelho manual PlantPen NDVI 300[®] (Photon System Instruments Inc.).

Posteriormente, as plantas foram coletadas para avaliação das massas fresca (MFA) e seca (MSA) da parte aérea, feitas com balanças analítica e de precisão, respectivamente; número de folhas (NF), feito por contagem manual; diâmetro do caule (DC), medido com auxílio de um paquímetro digital; número de galhas por planta (NG), obtido por contagem visual; número de ovos por planta (NO), número de juvenis de segundo estágio (J2) por planta (NJ) e a população final (Pf) representada pelo número de ovos + juvenis por planta (NOJ), contados com auxílio de uma câmara de Peters sob microscópio óptico.

A avaliação da MFA foi feita no campo imediatamente após a coleta das plantas.

4.6. Determinação da atividade microbiológica do solo

Para avaliação do efeito de cada tratamento sobre a atividade microbiológica do solo (AM) empregou-se o método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) descrito por Schuner e Rosswall (1982). Para tanto, amostras de 50 g de solo foram coletadas em cada subparcela de cada bloco a 10 cm de profundidade, acondicionadas em sacos de polietileno, etiquetadas, colocadas em caixas de isopor, levadas ao laboratório de fitopatologia do NUDEMAFI e analisadas em um período de 24 horas.

Este método consiste em quantificar a hidrólise do diacetato de fluoresceína em amostras que contêm matéria orgânica.

Primeiramente é preparada uma solução tampão de fosfato de sódio 60 mM, pH 7,6 (8,7 g de K₂HPO₄ + 1,3 g de KH₂PO₄ para 1 L de água), sendo o pH ajustado com HCl 0,01

M, quando necessário. As amostras coletadas em campo foram peneiradas em peneira de 2 mm e homogêneas, e então distribuídas em Erlenmeyers com 125 mL de capacidade (5 gramas de solo por Erlenmeyer), em 4 repetições.

Acrescentou-se 20 mL de solução estoque de tampão fosfato, e, para iniciar a reação de hidrólise de FDA (Sigma Chemical Co.) foram adicionadas 200 µg de solução de FDA (2 mg.mL⁻¹ de acetona). Os frascos foram fechados com papel alumínio, e então incubados por 20 minutos em agitador a 150 rpm a 25 °C.

Imediatamente após a retirada das amostras do agitador, a reação foi interrompida por meio da adição de 20 mL de acetona por Erlenmeyer. A seguir, efetuou-se a filtração em papel de filtro tipo Whatman nº 1, sendo os filtrados recolhidos em pequenos tubos de ensaio. Logo após, determinou-se em espectrofotômetro a absorvância dos filtrados a 490 nm.

Para obter a quantidade de FDA hidrolizado foi determinada a curva-padrão, adicionando-se em tubos de ensaio com rosca 5 mL de tampão fosfato e 0, 100, 200, 300 e 400 µg de FDA, em duas repetições para cada concentração por bloco por tratamento.

Posteriormente, os tubos foram tampados e levados em banho-maria com água fervente por uma hora para hidrolisar o FDA. Após o resfriamento dos tubos, a solução de FDA hidrolizado foi colocada em Erlenmeyers de 125 mL contendo 5 g do solo e 15 mL de tampão fosfato, em duas repetições para cada tratamento.

Seguiu-se a mesma metodologia descrita para a incubação, filtração e leitura de absorvância das amostras. Os resultados de atividade microbiológica do solo são apresentados em absorvância do FDA em espectro de luz visível de 490 nm.

4.7. Análise estatística

As médias da MFPA, MSA, TC, DC, NF, NG, NO, NJ, Pi, PF e AM foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e, quando diferenças significativas no teste F foram encontradas, o teste de Duncan foi aplicado em nível de 5% de significância, utilizando-se o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Identificação da espécie de nematoide presente na área experimental

A espécie presente na área onde os experimentos foram conduzidos foi *M. javanica*.

Segundo Carneiro et al., (2003) e Carneiro et al., (2007), *M. javanica* é uma das espécies de nematoide de galhas mais comuns em áreas agricultáveis no Brasil. Em vários levantamentos nematológicos feitos em solos cultivados com hortaliças no Estado do Espírito Santo essa espécie tem sido a mais comum (Fabio Ramos Alves, informações pessoais).

5.2. Determinação da Pi dos fitonematoides

A população inicial de nematoides (Pi), expressa em número de ovos + juvenis de segundo estágio (J2) em 100 mL de solo, encontra-se na tabela 2.

Tabela 2: População inicial (Pi) de nematoides calculada pela média do número de ovos + juvenis de segundo estágio (J2) em 100 mL de solo presente na área experimental antes da instalação do experimento.

Tratamentos (T) *	Blocos (B)				MÉDIA
	B1	B2	B3	B4	
T1	5,0	7,0	7,0	7,0	6,5 A
T2	5,0	6,0	7,0	7,0	6,25 A
T3	4,0	8,0	7,0	8,0	6,75 A
T4	6,0	7,0	5,0	6,0	6,00 A
T5	7,0	5,0	5,0	6,0	5,75 A
T6	4,0	6,0	8,0	8,0	6,50 A
MÉDIA	5,2 a	6,5 a	6,5 a	7,0 a	6,30

*T1- defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; T2 - defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*; T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), T4 - óleo de mamona extraído a frio a 1%. T5 - o nematicida Terbufós, na quantidade de 20 Kg por hectare; T6 - Testemunha. **Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de significância.

A baixa Pi na área experimental pode ser explicada pelo fato de o solo ter ficado em pousio por 6 meses antes da instalação dos experimentos. Encontrar populações de nematoides no solo após períodos de pousio é comum, uma vez que, conforme destacado por Costa et al. (2000), esses patógenos podem sobreviver por longos períodos em estado de dormência ou parasitando outras plantas, principalmente quando se trata de *M. javanica*, uma espécie polífaga com ampla gama de hospedeiros (FERRAZ et al., 2010).

5.3. Determinação da atividade microbiológica do solo

Para a análise de atividade microbiológica do solo, as médias foram iguais nas quatro primeiras avaliações, o que significa que não houve efeito dos tratamentos durante os três primeiros ciclos de cultivo. No entanto, na última avaliação, feita após o quarto ciclo de cultivo de alface, a atividade microbiológica foi maior para os tratamentos 1 e 2 (defensivos à base do fungo *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, respectivamente) comparados aos tratamentos 3, 4 e 5 (defensivo à base de óleo de nim e óleo de mamona (Figura 1).

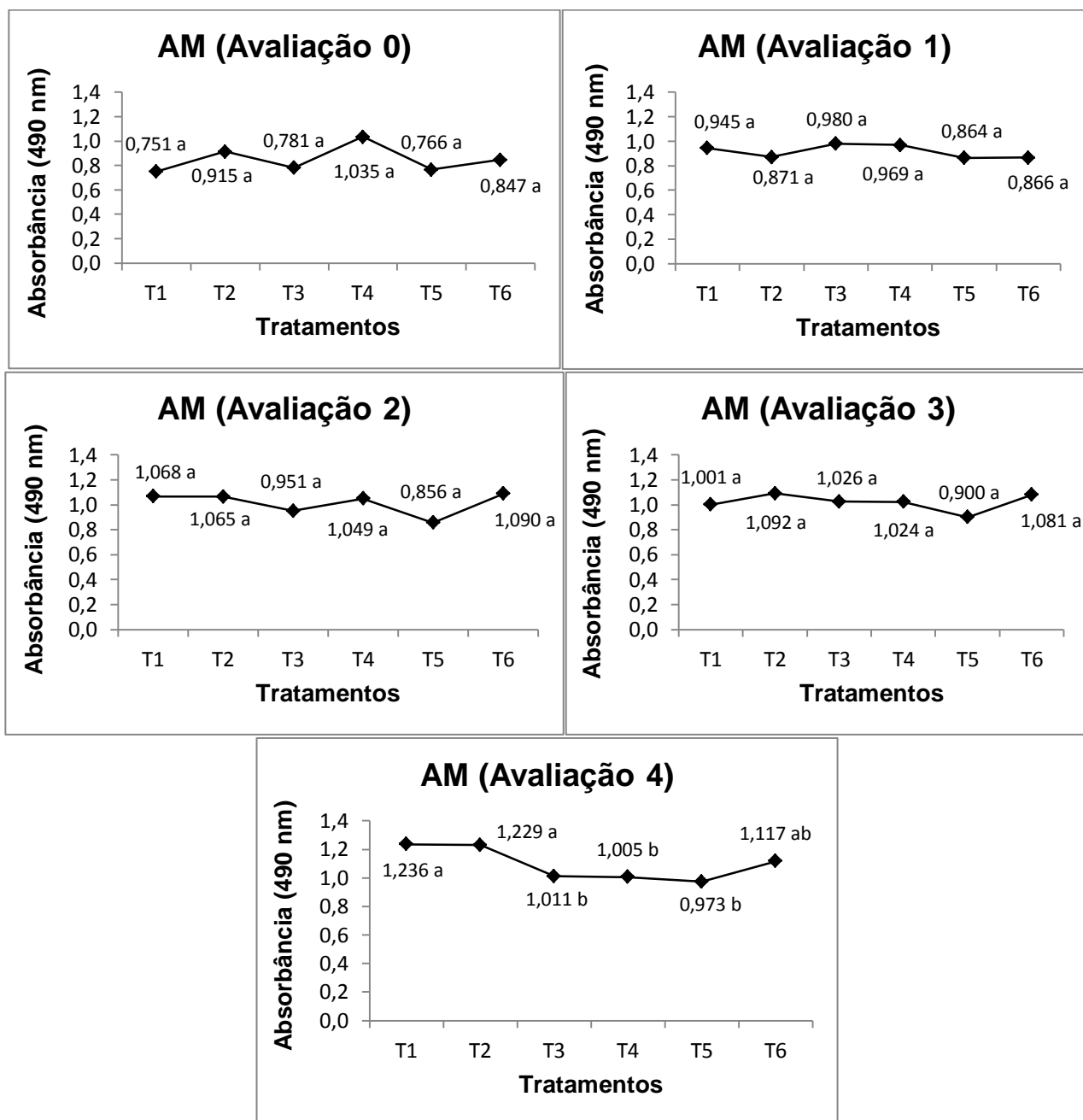


Figura 1: Avaliação da Atividade microbiológica do solo antes e após ciclos consecutivos de cultivo de alface cv. Regina 2000 na região de Iúna, ES, em solo naturalmente infestado por *M.*

javanica, onde: AM = Atividade Microbiológica do Solo (Absorbância – 490 nm), Avaliação 0 = avaliação feita antes da implantação do primeiro ciclo de cultivo, Avaliação 1 = avaliação feita após o primeiro ciclo de cultivo, Avaliação 2 = avaliação feita após o segundo ciclo de cultivo, Avaliação 3 = avaliação feita após o terceiro ciclo de cultivo e Avaliação 4 = avaliação feita após o quarto ciclo de cultivo. *T1- defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; T2 - defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*; T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), T4 - óleo de mamona extraído a frio em 1%. T5 - o nematicida Terbufós, na quantidade de 20 Kg por hectare; T6 - Testemunha. **Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de significância.

Silva et al. (2005) avaliaram o efeito de fungicidas metalaxil e fenarimol na microbiota do solo em região semiárida e observaram que o uso dos produtos reduziu todas as variáveis avaliadas, mostrando o efeito negativo desses produtos sobre a microbiota do solo.

Segundo Schimitt (1985), é necessário que se avalie o impacto ambiental e ecológico de pesticidas aplicados ao solo. Certos efeitos adversos induzidos por nematicidas podem e devem ser detectados. Segundo o autor, deve haver uma preocupação prioritária quanto às alterações na microflora e microfauna, além de outros impactos. Informações dessa natureza podem ser úteis em tentativas de proteger o ecossistema.

Embora a azadiractina seja a substância mais estudada na planta do nim, outros compostos da planta também apresentam efeitos sobre microrganismos, inclusive fitopatógenos (GOVINDACHARI et al., 1998; CARNEIRO, 2002; MOSLEM e EI-KHOLIE, 2009). Esta é uma característica da planta que faz com que ela seja pouco específica ou seletiva no controle de microrganismos (BHOWMICK e VARDHAN, 1981; ASHRAF e JAVAID, 2007; HAIKAL, 2007). Isso pode explicar o impacto negativo do óleo de nim (T3) sobre a atividade microbiana do solo na quarta avaliação (Figura 4).

A maior atividade microbiana do solo na avaliação 4 para os tratamentos 1 e 2 (*P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, respectivamente), provavelmente ocorreu devido ao acúmulo destes microrganismos no solo ao longo de cada ciclo de cultivo da alface e devido ao fato destes organismos antagonistas apresentarem boa capacidade de sobrevivência saprofítica (Bourne et al., 2001), independente da presença dos nematoides.

5.4. Manejo de *M. javanica*

Durante o período experimental, não houve incidência de doenças da parte aérea ou radicular, além dos nematoides, bem como ataque de insetos. Portanto, com exceção da terceira época de avaliação (C3), quando houve um impacto negativo no crescimento das

plantas devido ao elevado índice pluviométrico (Tabela 1), os danos causados às plantas foram provocados exclusivamente pelo parasitismo de *M. javanica*.

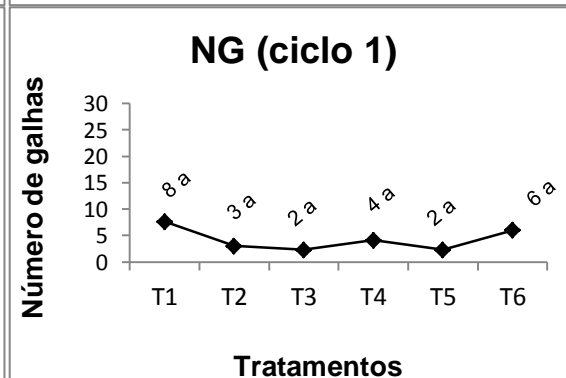
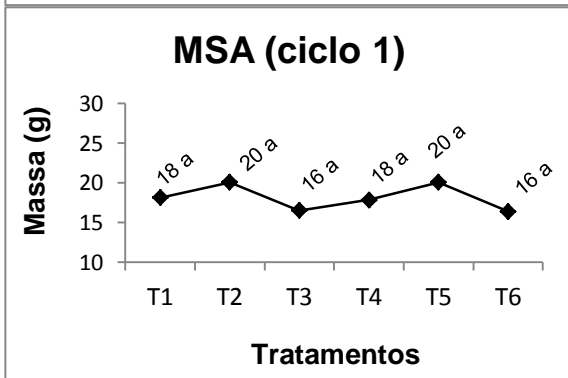
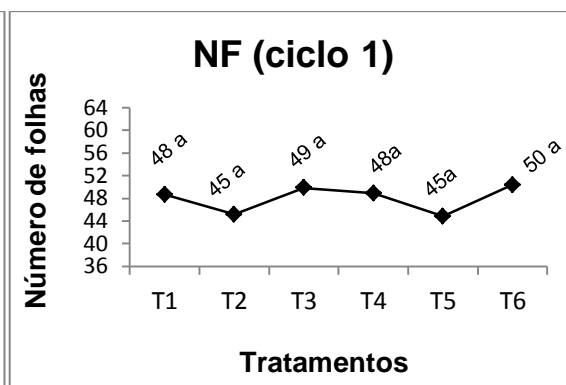
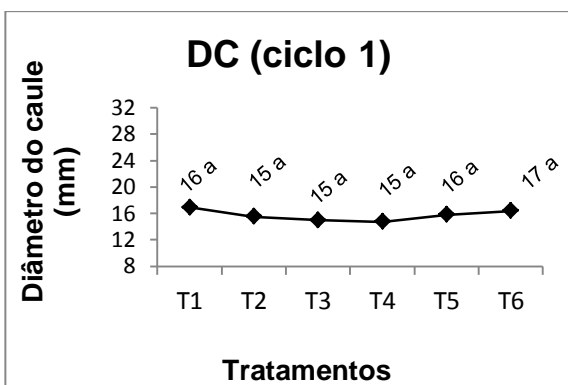
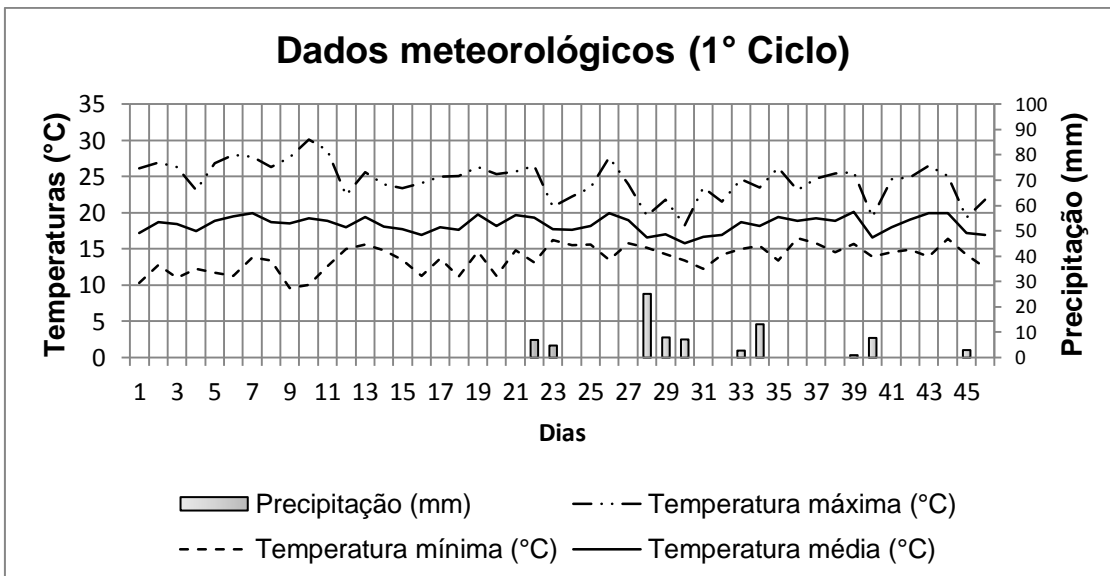
Para a variável TC, não houve diferença entre os tratamentos em nenhum dos ciclos. Isso pode ser explicado devido ao fato de que *M. javanica* é parasita radicular, que não causa danos diretos às folhas de alface, como o que acontece com doenças como septoriose (*Septoria lactucae* Pass.) e cercosporiose (*Cercospora longissima* Cugini).

A fluorescência da clorofila pode ser utilizada para examinar e inferir a respeito do desempenho fotossintético de plantas (BAKER e ROSENQVIST, 2004), pois se trata de um método não-destrutivo que permite uma análise qualitativa e quantitativa da absorção e um aproveitamento da energia luminosa pelo aparelho fotossintético, permitindo analisar a capacidade fotossintética e estudar a ação de vários tipos de estresse sobre a mesma (KRAUSE e WEIS, 1991).

Alguns tipos de estresse, como os provocados por doenças, são capazes de provocar alterações significativas no processo fotoquímico da fotossíntese, seja pela falta de intermediários necessários para dar sequência à cadeia de eventos, seja pela degradação ou desorganização do aparelho fotossintético (BAKER e ROSENQVIST, 2004).

Bispo (2010) não observou diferenças significativas no teor de clorofila em plantas de goiaba parasitadas ou não por *M. mayaguensis*. Esse resultado é corroborado por Asmus e Ferraz (2001), que, avaliando a relação entre densidades populacionais de *M. javanica* e a área foliar de plantas de soja, também não observaram efeito do nematoide sobre o teor de clorofila.

No primeiro ciclo de cultivo os tratamentos não influenciaram as variáveis DC, NF, MAS, NG e NJ. Maior NO foi observado em plantas que receberam o T4 em relação ao T1, T3 e T5 e maior PF ocorreu em plantas tratadas com o T4 E T6 comparado aos T3 e T5. Este ciclo caracterizou-se por um índice pluviométrico dentro da normalidade, aparentemente não influenciando negativamente as características das plantas ou o desenvolvimento dos nematoides (Figura 2).



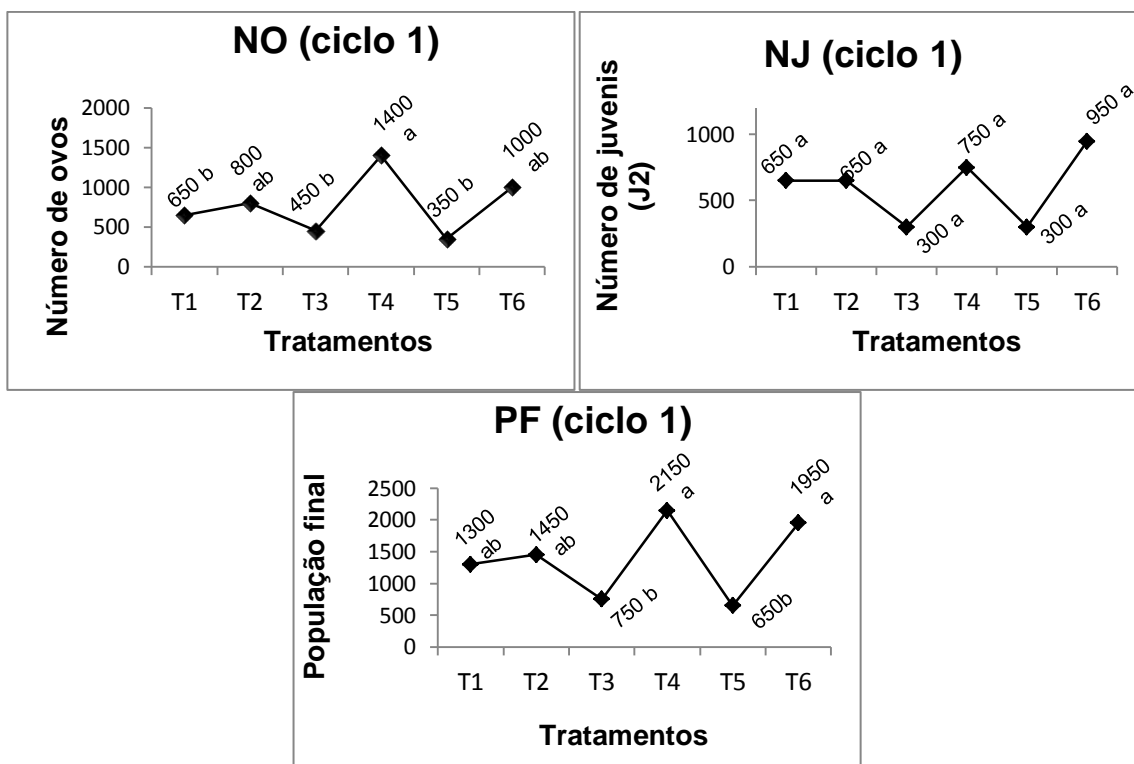
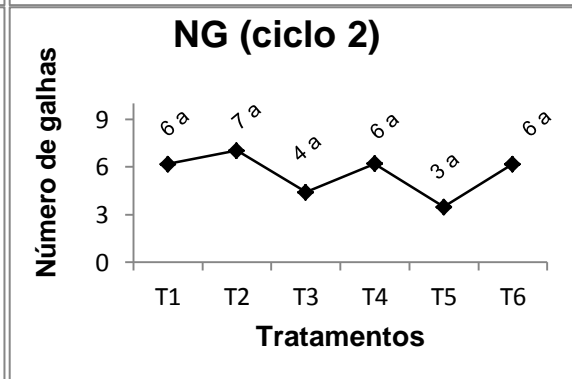
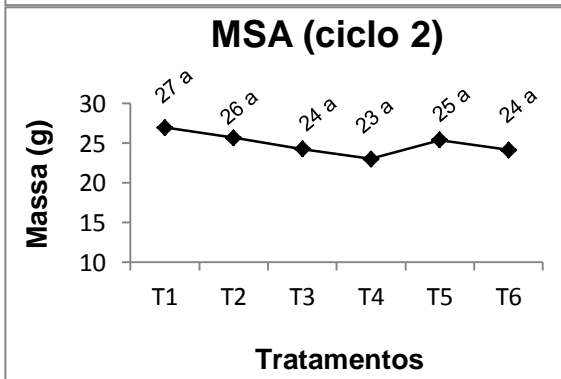
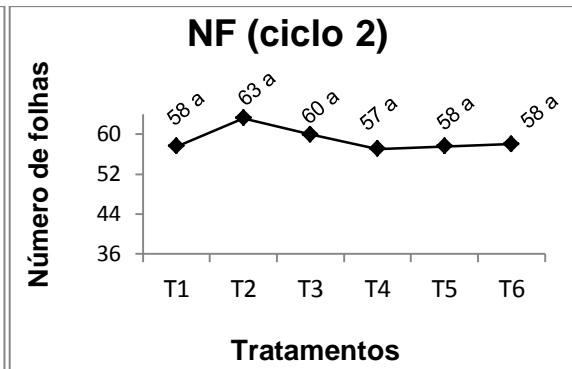
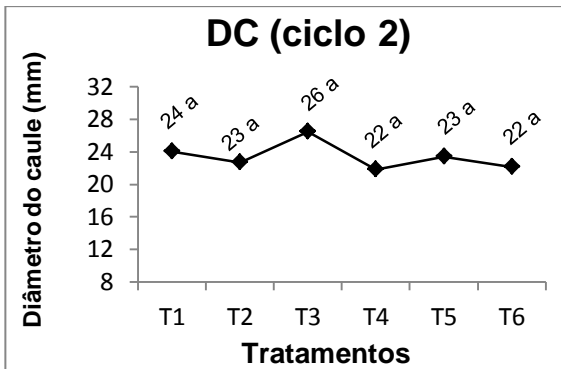
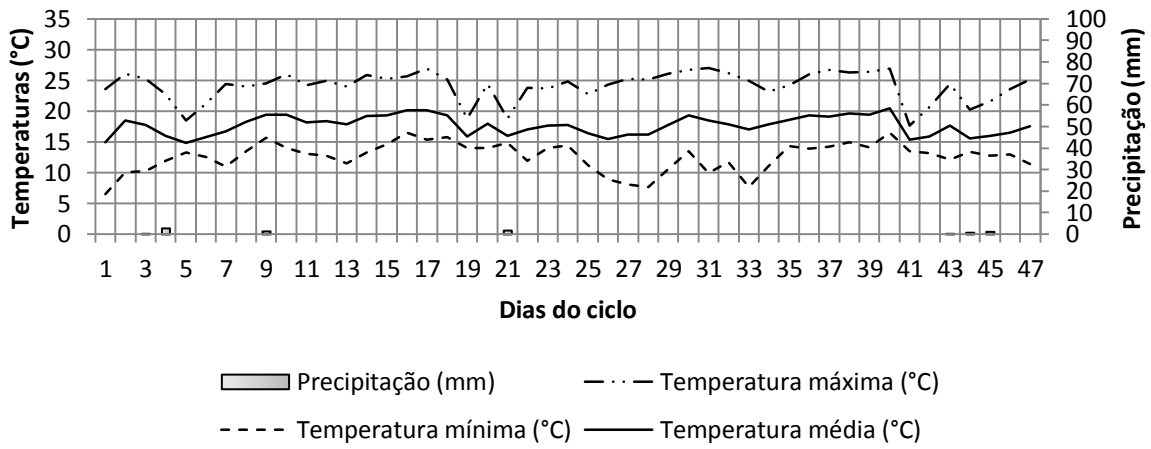


Figura 2: Dados meteorológicos e avaliações feitas no primeiro ciclo de cultivo de alface cv. Regina 2000 na região de Iúna, ES, em solo naturalmente infestado por *M. javanica*, onde: MFPA = Massa Fresca da Parte Aérea (g), TC = Teor de Clorofila (Cl_{total} / cm^2), NF = Número de Folhas, DC = Diâmetro do Caule (mm), MSA = Massa Seca da Parte Aérea (g), NG = Número de Galhas por Planta, NO = Número de Ovos por Planta, NJ = Número de Juvenis de segundo estágio (J2) por planta e PF = População Final de nematoides por planta. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de significância. T1- defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; T2 - defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*; T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), T4 - óleo de mamona extraído a frio em 1%. T5 - o nematicida Terbufós, na quantidade de 20 Kg por hectare; T6 - Testemunha.

No 2º ciclo de cultivo, não houve efeito dos tratamentos sobre nenhuma das variáveis avaliadas (Figura 3). O que se percebe é que numericamente houve aumento da população de *M. javanica* na segunda avaliação em relação à primeira (Figuras 2 e 3).

Dados meteorológicos (2º Ciclo)



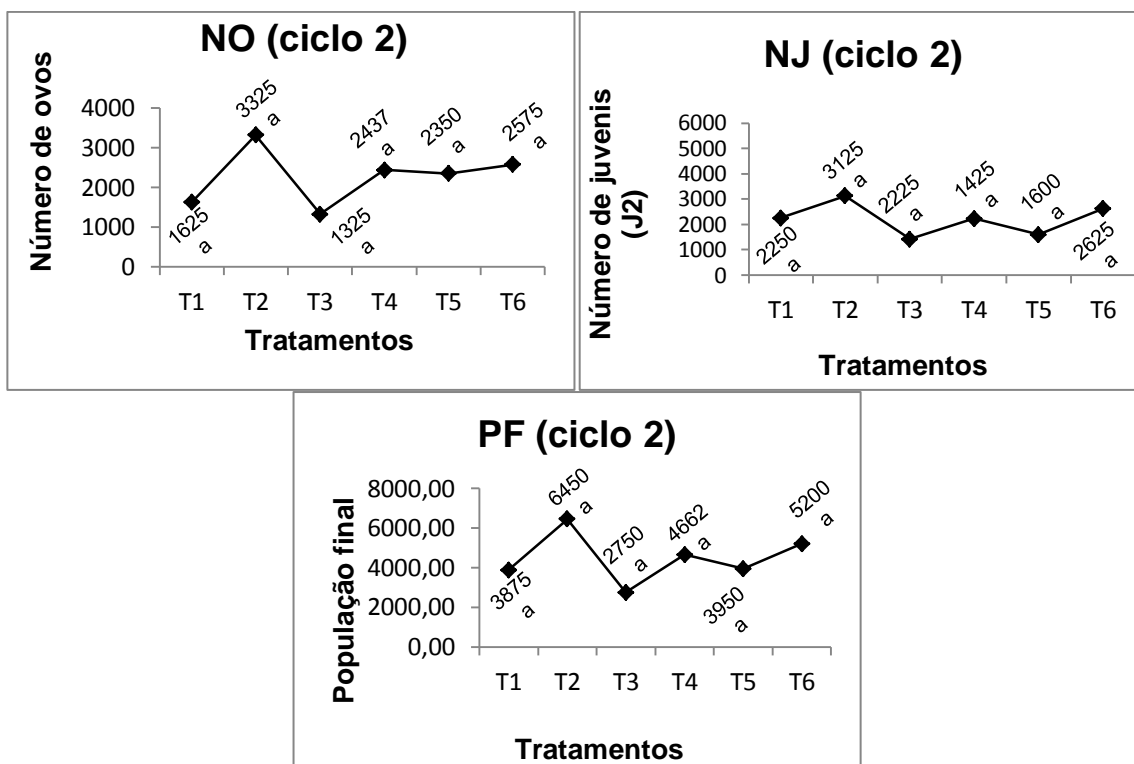
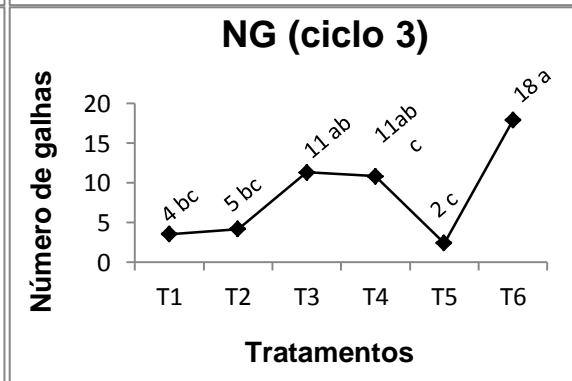
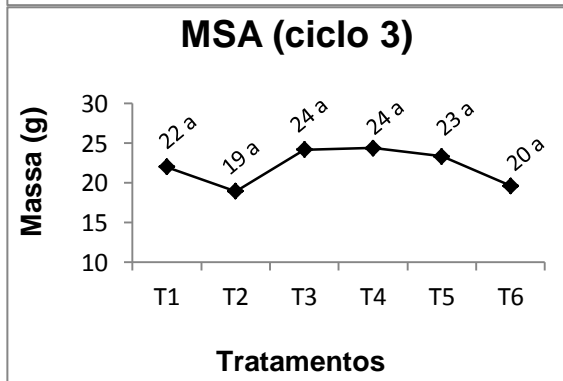
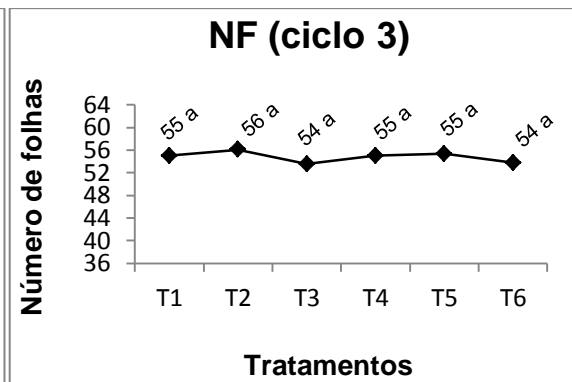
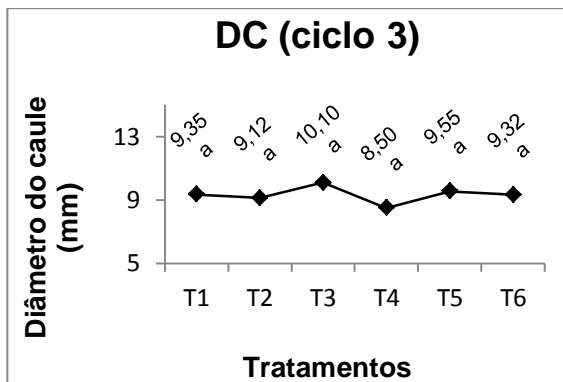
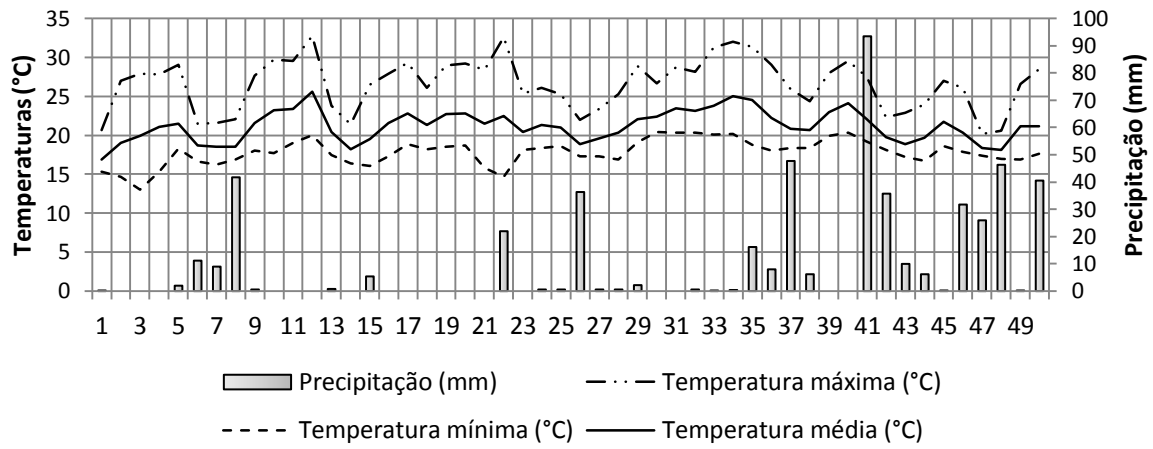


Figura 3: Dados meteorológicos e avaliações feitas no segundo ciclo consecutivo de cultivo de alface cv. Regina 2000 na região de Iúna, ES, em solo naturalmente infestado por *M. javanica*, onde: MFPA = Massa Fresca da Parte Aérea (g), TC = Teor de Clorofila (Cltotal / cm²), NF = Número de Folhas, DC = Diâmetro do Caule (mm), MSA = Massa Seca da Parte Aérea (g), NG = Número de Galhas por Planta, NO = Número de Ovos por Planta, NJ = Número de Juvenis de segundo estágio (J2) por planta e PF = População Final de nematoides por planta. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de significância. T1- defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; T2 - defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*; T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), T4 - óleo de mamona extraído a frio em 1%. T5 - o nematicida Terbufós, na quantidade de 20 Kg por hectare; T6 - Testemunha.

No terceiro ciclo de cultivo (Figura 4) as temperaturas foram mais elevadas e o índice pluviométrico maior em relação aos ciclos de cultivo anteriores, o que prejudicou o desenvolvimento da alface. Nesse ciclo, nenhuma das variáveis referentes ao crescimento das plantas mostrou diferença entre os tratamentos. Já para as variáveis relativas ao nematoide, (NG, NO e PF), observa-se a partir deste ciclo que, de maneira geral, o cultivo consecutivo de alface sem aplicação de nenhum tratamento para controle do nematoide (T6) promove aumento populacional do patógeno em relação aos demais tratamentos, já começando a se diferenciar de situações onde, mesmo sob cultivo consecutivo, utilizam-se os diferentes métodos de controle.

Dados meteorológicos (3º Ciclo)



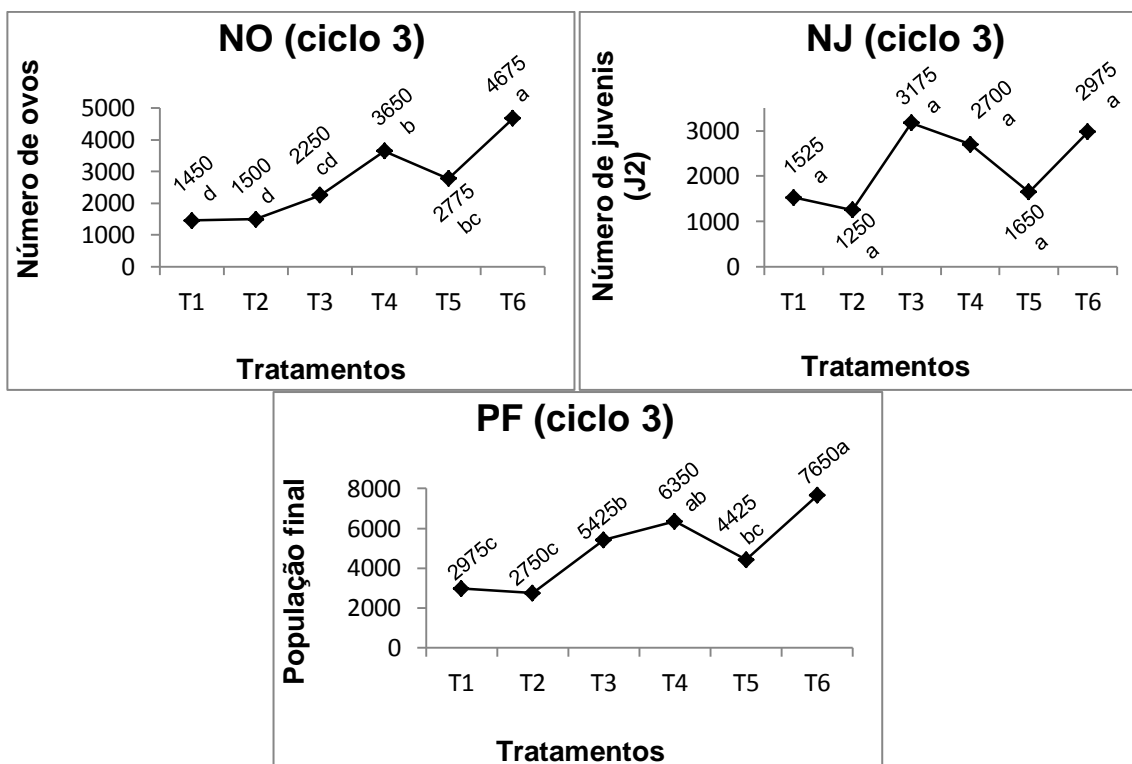


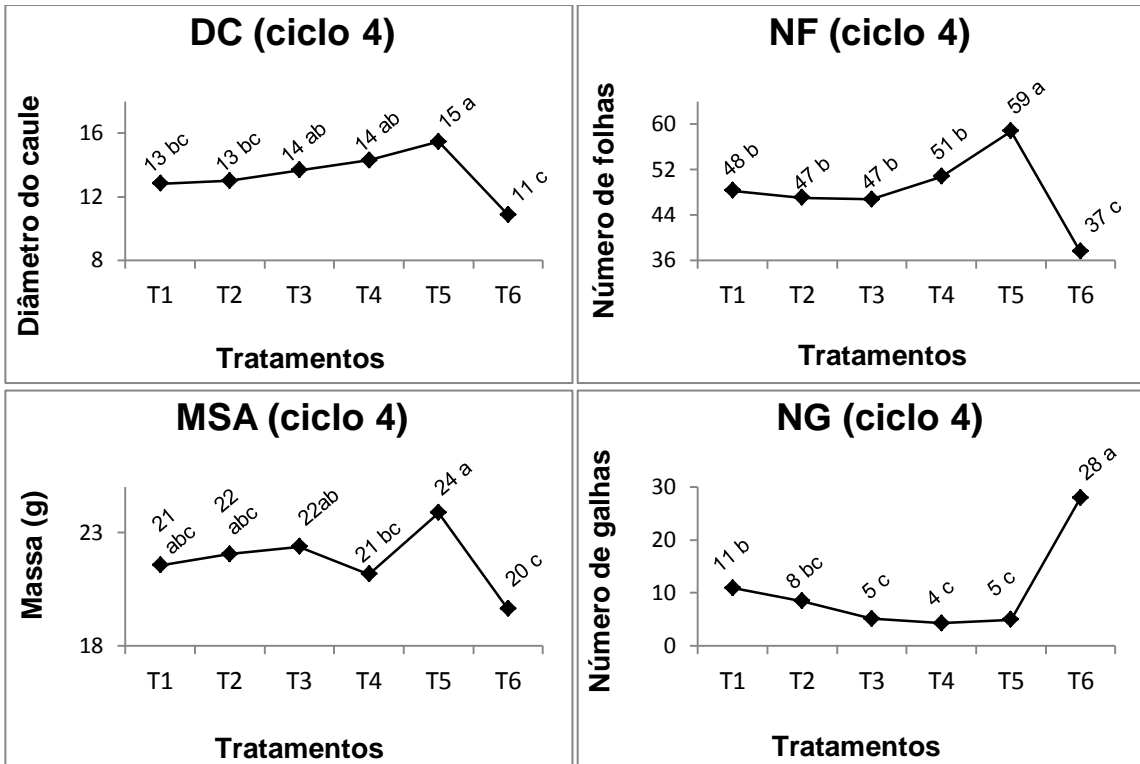
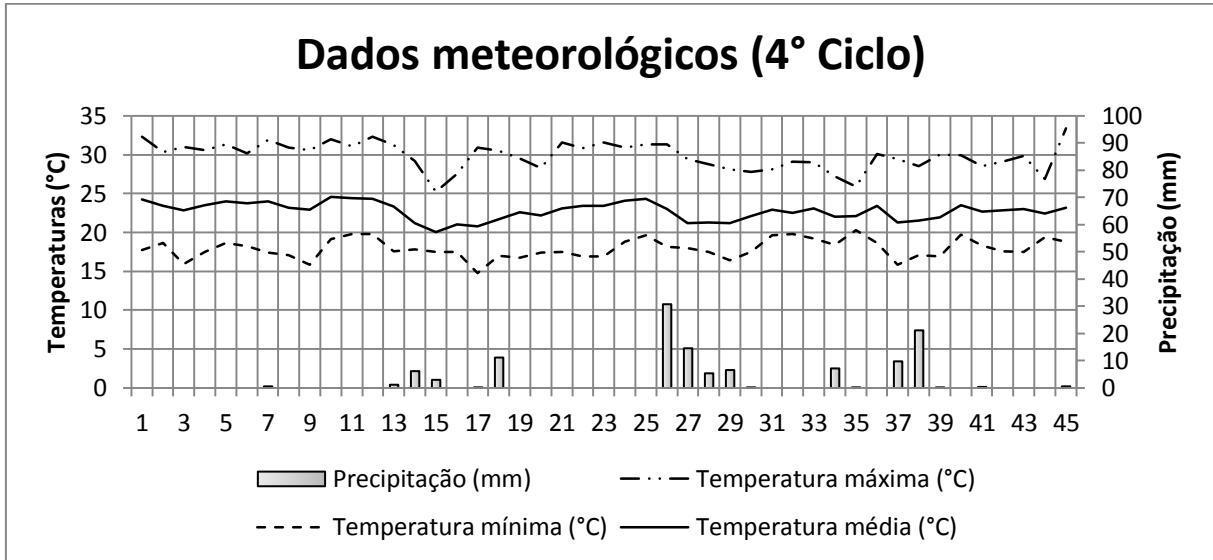
Figura 4: Dados meteorológicos e avaliações feitas no terceiro ciclo consecutivo de cultivo de alface cv. Regina 2000 na região de Iúna, ES, em solo naturalmente infestado por *M. javanica*, onde: MFPA = Massa Fresca da Parte Aérea (g), TC = Teor de Clorofila (Cltotal / cm²), NF = Número de Folhas, DC = Diâmetro do Caule (mm), MSA = Massa Seca da Parte Aérea (g), NG = Número de Galhas por Planta, NO = Número de Ovos por Planta, NJ = Número de Juvenis de segundo estágio (J2) por planta e PF = População Final de nematoides por planta. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de significância. T1- defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; T2 - defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*; T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), T4 - óleo de mamona extraído a frio em 1%. T5 - o nematicida Terbufós, na quantidade de 20 Kg por hectare; T6 - Testemunha.

No quarto ciclo de cultivo (Figura 5) as temperaturas apresentaram-se elevadas, o que, de forma geral, é desfavorável ao cultivo de alface, porém favorável ao desenvolvimento de fitonematoides. O índice pluviométrico nesse período mostrou-se dentro da normalidade. Nesse ciclo, as variáveis NF e DC foram menores na testemunha comparado a todos os demais tratamentos.

Maior NF foi observado em plantas tratadas com nematicida (T5) em relação ao T1, T2, T3 e T4, sendo que, para esses quatro tratamentos, as médias do NF foram iguais. A MAS foi menor na testemunha em relação ao T3 e T5. Os T1, T2, e T3 foram tão eficientes quanto o nematicida (T5) em não permitir redução da MAS (Figura 5).

Para as variáveis relativas ao nematoide, todos os tratamentos foram eficientes no manejo de *M. javanica*, observando-se que, na testemunha (T6) o NG, NO, NJ e PF foram

consideravelmente maiores. Para o NJ não houve diferença entre os efeitos dos tratamentos. O T2, T3, T4, e T5 foram igualmente eficazes em reduzir o NG e NO e o T3, T4 e T5 foram os que mais reduziram a PF (Figura 5).



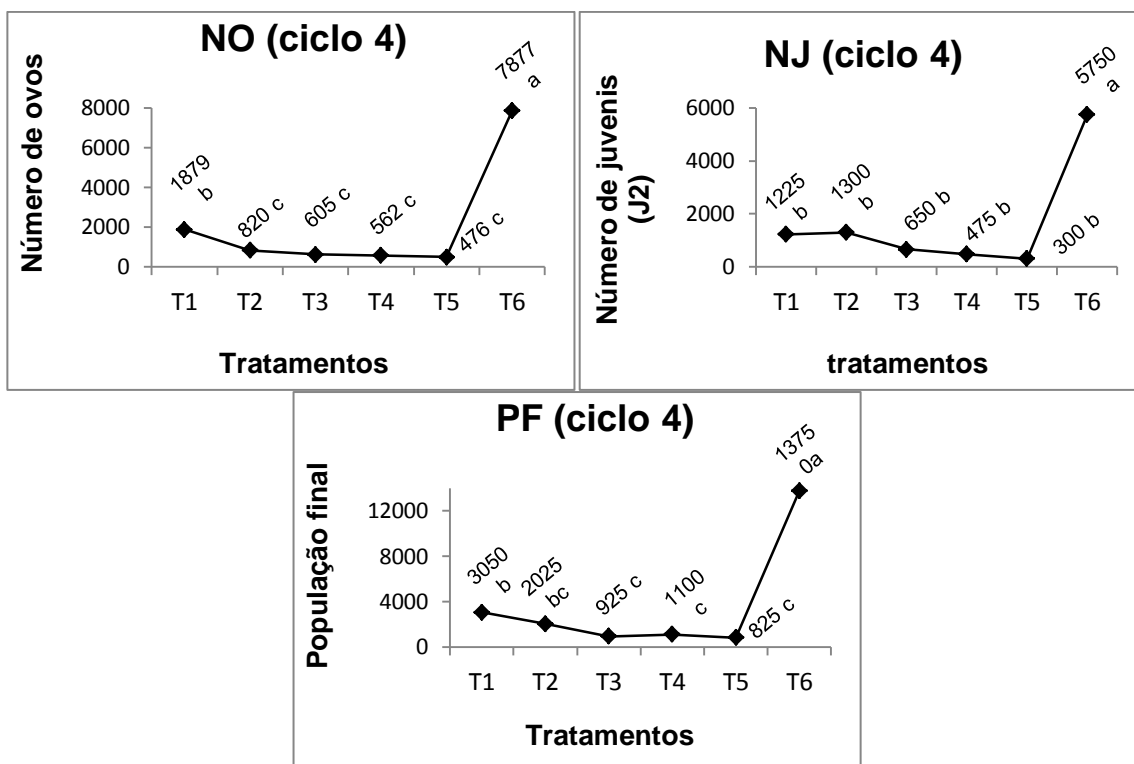


Figura 5: Dados meteorológicos e avaliações feitas no quarto ciclo consecutivo de cultivo de alface cv. Regina 2000 na região de Iúna, ES, em solo naturalmente infestado por *M. javanica*, onde: MFPA = Massa Fresca da Parte Aérea (g), TC = Teor de Clorofila (Cltotal / cm²), NF = Número de Folhas, DC = Diâmetro do Caule (mm), MSA = Massa Seca da Parte Aérea (g), NG = Número de Galhas por Planta, NO = Número de Ovos por Planta, NJ = Número de Juvenis de segundo estágio (J2) por planta e PF = População Final de nematoides por planta. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de significância. T1- defensivo à base do fungo *Pochonia chlamydosporia*; T2 - defensivo à base do fungo *Trichoderma harzianum*; T3 – defensivo à base de óleo de nim, na concentração de 0,45% (ou 4,8% de i.a.), T4 - óleo de mamona extraído a frio a 1%. T5 - o nematicida Terbufós, na quantidade de 20 Kg por hectare; T6 - Testemunha.

A não influência dos tratamentos sobre as características de crescimento das plantas até o terceiro ciclo de cultivo da alface pode ser explicada pela baixa população de nematoides na área devido ao posuio de 6 meses em que a mesma se encontrava antes da instalação do experimento, pois considerando os três ciclos de cultivo, a maior população de nematoides (PF) foi observada no terceiro ciclo nas plantas que não receberam nenhum tratamento (T6/testemunha), ou seja, 7.650 indivíduos e 18 galhas (Figuras 2, 3 e 4). O conceito de limiar de dano econômico (LDE) é específico para cada cultura e se baseia na intensidade de doença, na qual, o benefício do controle iguala ao custo de controle. Na mesma área em que a presente pesquisa foi desenvolvida, Rabello (2010) relatou que o limiar de dano econômico para a cultura da alface cv. Vitória de Santo Antão foi de 10.151

nematoides/planta ou 109 galhas/planta, ou seja, a população do nematoide não foi suficiente para causar danos expressivos à cultura na presente pesquisa até o terceiro ciclo de cultivo.

TAYLOR e SASSER, (1978) afirmaram que com o tempo o aumento populacional de fitonematoides é esperado, uma vez que esses patógenos se multiplicam em escala logarítmica, assim, uma fêmea produz em torno de 500 ovos, sendo que apenas uma média de 5% sobrevive para completar seu ciclo, logo, tem-se em quatro gerações respectivamente: 25, 625, 15.625 e 390.625 adultos. Assim, após quatro ciclos de cultivo da alface, era de se esperar que o nível de inóculo de *M. javanica* aumentasse gradativamente no campo, apesar dos tratamentos que foram aplicados. É importante que esse aumento seja consideravelmente maior na testemunha.

Rabello (2010) observou que, após três plantios sequenciais, a cultura da alface parasitada por *M. javanica* apresentou danos perceptíveis devido às populações crescentes do nematoide, porém ainda em nível baixo, não inviabilizando a área de cultivo e nem reduzindo o rendimento do agricultor de forma considerável. Entretanto, no quarto ciclo de cultivo, apenas 35% das plantas foi comercializável, o que acarretou sérios prejuízos ao produtor rural.

O parasitismo das plantas pelos nematoides caracteriza-se pela criação de sítios permanentes de alimentação nos tecidos radiculares, constituídos de células gigantes no córtex, endoderme, periciclo e parênquima (FREITAS et al., 2006). Estes sítios de alimentação se tornam drenos para os fotoassimilados, e, portanto, prejudicam o crescimento e desenvolvimento vegetal (VOVLAS et. al., 2005).

Além disso, os danos mecânicos provocados pelos nematoides ao penetrarem e se movimentarem nos tecidos das plantas levam ao bloqueio de tecidos vasculares nos sítios de alimentação, limitando a translocação de água e nutrientes, reprimindo o crescimento das plantas e o rendimento das culturas (HUSSEY e WILLIAMSON, 1997).

A formação de galhas é o sintoma mais característico de *Meloidogyne* spp.. Tais galhas aparecem principalmente nas raízes mais finas e são resultado de fenômenos de hipertrofia e hiperplasia de células do parênquima vascular da raiz (TIHOHOD, 2000). As galhas podem ser diminutas ou atingir um diâmetro superior a 15 mm, dependendo da severidade da infestação. Células hipertróficas multinucleadas funcionam como verdadeiros armazéns no suprimento alimentar dos nematoides sedentários (COSTA et al., 2000). A formação dessas células gigantes provoca uma interrupção e desorganização do sistema vascular, com conseqüente diminuição na absorção e no transporte de água e nutrientes,

influenciando diretamente na produtividade (COFCEWICZ et al., 2001). Todos esses danos fisiológicos e mecânicos levam à redução do crescimento das plantas (CALZAVARA et al., 2008), o que pode explicar decréscimo nas variáveis avaliadas na cultura da alface no presente estudo no quarto ciclo de cultivo.

Menor crescimento de plantas parasitadas pelos nematoides de galhas já foi observado por outros autores, como Santos et al. (2006), que notaram que o DC de plantas de alface cv. Elisa, quando estas são semeadas diretamente em campo infestado por *M. javanica*, pode ser reduzido em até 18 %.

Dallemole-Giaretta et al. (2010), avaliaram o manejo de *M. javanica* pela aplicação de palha de café colonizada ou não por *P. chlamydosporia*, e concluíram que a incorporação do material colonizado pelo fungo ao solo reduziu em até 46,6 e 71,7 % os NG e PF, respectivamente. No presente estudo *P. chlamydosporia* reduziu o NG, NO, NJ e PF em 154%; 319,1%; 369,4% e 350,81%, respectivamente, no quarto ciclo de cultivo, em relação à testemunha.

Em trabalho realizado por Coutinho et al. (2009), o isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia*, aplicado na dosagem de 5000 clamidósporos/g de solo, promoveu a redução no NG e PF de *M. javanica*. Lopes et al. (2007) também observaram a redução da PF desse nematoide em diferentes experimentos em que foram utilizados quatro isolados do fungo.

BOURNE, (2001) afirmou que *P. chlamydosporia* cresce em matéria orgânica entre os ciclos de cultivo, o que o torna independente da presença do nematoide para sua nutrição. Aliado a essas vantagens, o fungo produz ainda clamidósporos, estruturas de armazenamento de reservas nutricionais e de sobrevivência (KERRY, 2001), o que provavelmente, garantiu o aumento da atividade desse antagonista ao longo de quatro ciclos de cultivo da alface no presente estudo e a consequente redução populacional de *M. javanica*.

Na presente pesquisa, no quarto ciclo de cultivo, a redução NG, NO, NJ e PF de *M. javanica* exercido por *Trichoderma* sp. foi de 250%; 860%; 369,4% e 579%, respectivamente, comparado à testemunha. Sahebani e Hadavi (2008) citam dois mecanismos utilizados por esse fungo antagonista na redução populacional de nematoides, são eles: o parasitismo direto sobre ovos e juvenil através do aumento da atividade de quitinases e proteases, sendo este um indicativo da capacidade de infectar ovos (SHARON et al., 2001) e a indução dos mecanismos de defesa do hospedeiro (SUAREZ et al., 2004).

Rocha (2007) afirmou que, após a eclosão, os J2 de *M. javanica* possuem 30% do seu peso corporal em lipídios, como fonte de reserva energética, que é utilizada no processo de

migração e parasitismo na planta. O autor acrescentou que a porcentagem de lipídios está intimamente ligada à capacidade dos nematoides de parasitar seu hospedeiro. De acordo com Freire et al. (2007), a perda dessas reservas lipídicas reduz a infectividade e a reprodução, podendo até levar à morte. As lipases produzidas por *Trichoderma* spp. tornam-se, então, importantes no controle de nematoides por degradarem as reservas energéticas que eles possuem, além de atuar nos lipídios da membrana celular (ARDUIM, 2006; ROCHA, 2007).

Em plantas tratadas com óleo de nim foi observada redução de 460%; 1201,9%; 784,6% e 1386,4% para o NG, NO, NJ e PF, respectivamente, em relação às plantas não tratadas (testemunha) no último ciclo de cultivo da alface (Figura 5). Vários autores já comprovaram a eficácia de extratos e óleo de nim no manejo de *Meloidogyne* spp. (Latif et al., 1999; Zarina et al., 2003; Zarina et al., 2006). O efeito de nim contra nematoides, provavelmente, é devido à presença de várias substâncias químicas, tais como azadiractina, nimbina, salanina, entre outras (Chitwood, 2002).

De acordo com Schumetterer (1997), os produtos à base de nim não afetam aranhas e adultos de várias espécies de insetos benéficos. Ele acredita que, devido à sua relativa seletividade esses produtos podem ser recomendados em muitos programas de manejo integrado já que, provavelmente, não irão poluir o ambiente.

Outros autores relataram também a ação direta dos óleos essenciais sobre fungos, bactérias, vírus e nematoides fitopatogênicos (WILSON et al., 1997; FIORI, et al., 2000; MOTOYAMA et al., 2003; BALDO et al., 2005), e indireta, por meio da ativação de mecanismos de defesa das plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 1997; STANGARLIN et al., 2005). Esses óleos podem ter ação nematicida ou nematostática (FERRIS e ZHENG, 1999), e, caso sejam absorvidos pelas plantas e atuem de forma sistêmica, podem alterar o exsudato radicular, interferindo na localização das raízes por parte dos nematoides; tornar as raízes menos atrativas para o patógeno; alterar a fisiologia da planta, impedindo a formação de células especiais de alimentação, a exemplo das células gigantes; ou ativar mecanismos de resistência da planta (MAYTON et al., 1996).

O óleo fixo de mamona promoveu redução do NG, NO, NJ e PF em 600%; 1301,6%; 1110,5% e 1150%, respectivamente, no quarto ciclo de cultivo da alface (Figura 5). O óleo extraído de sementes de mamona tem ricina, um alcaloide responsável pela atividade contra fitonematoides (RICH et al., 1998; FILHO SAVY, 2005).

A utilização de óleo, a torta, folhas e hastes secas têm sido relacionadas à redução da população de fitonematoides, bem como ao melhor desenvolvimento de plantas (DIAS et al.,

2000; RITZINGER et al., 2004). De fato, estudos realizados por Aktar e Mahmood (1994) mostraram que a incorporação de folhas frescas de mamona ao solo acarretou efeito igual ao observado pelo nematicida carbofurano na redução da população de *M. incognita*.

6. CONCLUSÕES

O nematicida e os óleos reduziram a atividade microbiológica do solo após o quarto ciclo de cultivo, enquanto os tratamentos com microrganismos antagonistas incrementaram essa atividade.

Em nenhum dos ciclos de cultivo da alface os tratamentos influenciaram o teor de clorofila nas folhas de alface.

Somente no quarto ciclo de cultivo da alface é que se percebeu efeito marcante dos tratamentos sobre as variáveis avaliadas. Nesse ciclo, de maneira geral, as variáveis relacionadas ao crescimento das plantas foram menores na testemunha em relação aos demais tratamentos e a maioria dos tratamentos foi tão eficiente quanto ao nematicida na redução populacional de *M. javanica*.

Foi possível concluir ainda que a sequência de cultivos proporciona aumento considerável da população dos fitonematoides, quando métodos de manejo não são utilizados.

7. REFERÊNCIAS

AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Prophylactic and therapeutic use of oilcakes and leaves of neem and castor extracts for the control of root-knot nematode on chili. **Nematologia Mediterrânea**, v. 22, p. 27-129, 1994.

ALVES, F.R.; CAMPOS, V.P. Efeito do Aquecimento do Solo na Resistência de Plantas a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 153-162, 2001.

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

- ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. Amicrobiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. (Eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007, 312 p.
- Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology, v.42, p.313-349, 1991.
- ARDUIM, G. da S. Utilização e caracterização biológica de rizobactérias como biocontroladoras de *Meloidogyne incognita* e promotoras de crescimento em figueira. Universidade Federal de Pelotas (**Dissertação**), Pelotas, 2006.
- ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. Relações entre a densidade populacional de *Meloidogyne javanica* e a área foliar, a fotossíntese e os danos causados a variedades de soja. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v. 25, n. 1, p. 1-13, 2001.
- AZEVEDO, S.M.; MALUF, W.R.; GOMES, L.A.A.; OLIVEIRA, A.C.B.; FREITAS, J.A.; ANDRADE-JÚNIOR, V.C.; JESUS, N.; BRAGA, L.R.; LICURSI, V. Herança da resistência ao nematóide de galha em alfaca. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 40., , São Pedro. **Anais...** São Pedro: SOB, 2000. p.629-630. 2000.
- BAHIA. Secretaria da Indústria, Comércio e Turismo. **Diagnóstico e oportunidades de investimentos em oleoquímica na Bahia**. Salvador: SICT/SEBRAE, 1994. 143 P.
- BAKER, N.R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BALDO, M., SORNBERGER, AL; STANGARLIN, J. R.; GRISA, S.; ECKSTEIN, B.; GIESE, C.; SCHUAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *C. nardus* (citronela) no controle *in vitro* de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. In: Jornada científica da Unioeste. **Anais...** 2005.
- BARKER, K. R.; HUSSEY, L. R.; KRUSBERG, L. R.; BIRD, G. W.; DUNN, R. A.; FERRIS, H.; FERRIS, V. R.; FRECKMAN, D. W.; GABRIEL, C. J.; GREWAL, A. E.; MCGUIDWIN, A. E.; RIDDLE, D. L.; ROBERTS, P. A.; SCHIMITT, D. P. Plant

and soil nematodes: societal impact and focus for the future. **Journal of Nematology**, v.26, p.127-137, 1994.

BARRON, G. L. The nematode-destroying fungi. **Ontario: Canadian Biological Publications Ltda**, Ghelph. 1977. 140 p.

BAUSKE, E. M. et al. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. **Nematropica**, v. 24, n. 02, p. 143-150. 1994.

BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 3-5, 1991.

BISPO, W. M. da S. Respostas fisiológicas de goiabeira 'Paluma' parasitada por *Meloidogyne mayaguensis* sob condições controladas e de campo. Universidade Federal do Espírito Santo (**Dissertação**). 2010.

BOURNE, J. M. Making a soil suppressive to root-knot nematodes by applications of *Verticillium chlamydosporium*. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 24, p. 25-30, 2001.

BOURNE, J. M.; KERRY, B. R. Effect of the host plant on the efficacy of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent of root-knot nematodes at different nematode densities and fungal application rates. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 75-84, 1999.

CAMPOS, V. P. Doenças causadas por nematoides em alcachofra, alface, chicória, morango e quiabo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 182, p. 17-22. 1995.

CAMPOS, V.P. Manejo de doenças de plantas. **Manejo de doenças causadas por fitonematoides**. UFLA, 120p., 1999.

CAMPOS, V.P.; CAMPOS, J.R.; SILVA, L.H.C.P.; DUTRA, M.R. Manejo de nematoides em hortaliças. In: SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças. Lavras: UFLA, 2001. p.125-158.

CAPRONI, C. M.; FERREIRA, S.; GONÇALVES, E. D.; SOUZA, A. das G. Resposta às aplicações de *Trichoderma*, óleo de nim e vertimec no controle de nematoide na cultura do morango. **Revista Agroambiental**, v. 4, n. 3, p. 1-9, 2012.

- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pinto* no estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 66-75, 2003.
- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. Accession and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 281-284, 2007.
- CARNEIRO, R. M. D. G. Princípios e tendências do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, 27:113-121. 1992.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Metodologia e teste de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 7, p. 66-75, 1993.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.
- CEAGESP. Alface. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/produtos/produtos/alface>>. Acesso em: setembro de 2014.
- CHARCHAR, J.M.; MOITA, A.W. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *Meloidogyne javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.14, n.2, p.185-189, 1996.
- CHEN, S.; DICKINSON, D. W. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKINSON, D. W. (Eds.) *Nematology – advances and perspectives*. Volume II: Nematode management and utilization. Beijing & Wallingford. **Tsinghua University Press & CABI Publishing**, p. 979-1039. 2004.
- CHITWOOD, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40: 221-249.
- CHRISTEN, D.; SCHÖNMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R. J.; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to

- Esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, v. 60, p. 504–514, 2007.
- COFCEWICZ, E. T. et al. Interação dos fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 65-70, 2001.
- COMETTI, N. N.; MATIAS, G. C. S.; ZONTA, E.; MARY, W.; FERNANDES, M. S. Compostos nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 748-753. 2004.
- CORABI-ADELL, C.; LUCON, C. M. M. Biodiversidade do gênero *Trichoderma* no estado de São Paulo – Aspectos enzimáticos e potencial biocontrolador. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69 (supl.), p. 1-3006, 2002.
- COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. Brasília, DF, v. 223, n. 1. 2005.
- COSTA, M. J. N. et al. Patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com aplicação de filtrados fúngicos ou extratos de plantas e de esterco animais. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 219-226, 2000.
- COSTA, P. H. A. et al. Estratégia proteômica para estudar a matriz gelatinosa de *Meloidogyne incognita*. In: **27º Congresso Brasileiro de Nematologia**, (Resumos), v. 27, p. 100, Goiânia, 2007.
- COUTINHO, M. M.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* em farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, vol. 33, n. 2, p. 169-175. 2009.
- DACKMAN, C.; CHET, I.; NORDBRING, H. B. Fungal parasitism of the cyst nematode *Heterodera schachtii*: Infection and enzymatic activity. **FEMS Microbiology Ecology**, 62:201-208. 1989.

- DALLEMOLE, G. R.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; NEVES, W. S.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S. Efeito da farinha de sementes de abóbora e de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba (SP), Brasil, vol. 34, n. 2. 2010.
- DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D. L. (Ed.). **The biology of nematodes**. London: Taylor e Francis, p. 1-30, 2002.
- DIAS, C. R.; MACIEL, S. L.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A. Efeito de quatro espécies de plantas medicinais sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 em cultivo protegido. **Nematologia Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 58-65, 1998.
- DIAS, C. R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO, M. C. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, p. 203-210, 2000.
- DUKE, S. O. Natural pesticides from plants. In: JONICK, J.; SIMON, J. E. **Advances in new crops**. Timber Press, Portland, p. 511-517. 1990.
- DUTRA, M. R.; CAMPOS, V. P.; TOYOTA, M. Manejo do solo e da irrigação para o controle de *Meloidogyne javanica* em alface. **Nematologia Brasileira**, vol. 27, n. 1, p. 29-34. 2003.
- ETHUR, L. Z. Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de Fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro. Universidade Federal de Santa Maria (Tese). Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Santa Maria, RS, 2006.
- ETHUR, L. Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, A. C. F. da. Seleção de *Trichoderma* spp. visando ao controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 885-887, 2001.
- FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; FONSECA, M.C.M. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 195-200, junho 2002.

- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 245 p. 2010.
- FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Controle biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo (RS), 3: 283-314. 1995.
- FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, n. 3, p. 241-263. 1999.
- FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 402 p. 2000.
- FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2ª ed., UFV, 2003.
- FILHO SAVY, A. 2005 [online]. Cultura de mamoneira. Disponível em: <<http://iac.sp.gov.br/Tecnologias/Mamona/Mamona.htm>> . Acesso em: 19 mar. 2011.
- FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v. 148, p. 483, 2000.
- FIORINI, C. V. A.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FIORINI, I. V. A.; DUARTE, R. P. F.; LICURSI, V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 299-302. 2005.
- FLORENTINO, C.E.T; GOMES, L.A.A.; FERREIRA, R.P.D.; FIORINI, C.V.A; FELÍCIO, A.C.Q. Influência dos nematoides das galhas *Meloidogyne* spp., na produção da alface em ambiente protegido. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 43., 2003, Recife. **Anais...** Recife: SOB/UFRPE, 2003. p.306.

- FREIRE, E. S. et al. Infectivity of second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in tomato after starvation in soil and water at different conditions. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n.3, p. 270-274, 2007.
- FREITAS, L. G. et al. Controle de *Meloidogyne javanica* com aplicacao de oleos essenciais de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 33., Belem, **Resumos...** Belem: Fitopatologia Brasileira, 2000. p. 336. (Suplemento).
- FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; ALMEIDA, A. M. S. Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela produção de mudas em substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. **Nematologia Brasileira**, vol. 23, n. 1, p. 65-73. 1999.
- GARDIANO, C. G. A atividade nematicida de extratos aquosos e tinturas vegetais sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. 2006. 92 f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.
- GOMES, L.A.A. Herança da resistência da alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Grand Rapids ao nematóide de galhas *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. 70 f. (**Tese**) – UFLA, Lavras. 1999.
- GOMES, L.A.A.; MENDES, W.P.; MALUF, W.R.; AZEVEDO, S.M.; FREITAS, J.A.; MORETTO, P. Resistência de cultivares de alface à infecção por *Meloidogyne incognita* (raças 1, 2 e 3). In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 37., 1997, Manaus. Anais... Manaus: SOB, 1997.
- GOMES, T.M. Efeito do CO₂ aplicado na água de irrigação e no ambiente sobre a cultura da alface (*Lactuca sativa*). Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.
- GOMES, T.M.; BOTREL, T.A.; MODOLO, V.A.; OLIVEIRA, R.F. Aplicação de CO₂ via água de irrigação na cultura da alface. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.23, n.2, p.316-319, abr-jun 2005.

- GOMMERS, F. J. Biochemical interactions between nematodes and plants their relevance to control. *Helminthological Abstracts, Series B, Plant Nematology*, v. 50, n. 01, 1981, p. 9-24.
- GONCALVES, F. J. T.; FREIRE, F. C. O.; ANDRADE NETO, M. Atividade antagonista do óleo essencial dos frutos de *Capparis flexuosa* em ovos de juvenis de *Meloidogyne incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRICOLAS NATURAIS, 1., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: COBRADAN, 2000.
- GOTO, R.; TIVELLI, S. W. Produção de hortaliças em ambiente protegido: Condições subtropicais. São Paulo: **Fundação Editora da UNESP**, 319 p., 1998.
- HAROON, S.A.; BAKI, A.A.; HUETTEL, R.N. An in vitro test for temperature sensitivity and resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.25, n.1 p.83-88, Mar. 1993.
- HENDERSON, C.F.; TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, Baltimore, v. 48, n. 2, p. 157-161, 1955.
- HENZ, G. P.; SUINAGA, F. Tipos de alface cultivados no Brasil. **Comunicado técnico nº 75**. ISSN 1414-9850. Brasília, DF. Novembro. 2009.
- HERTZ, B. N.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. <http://www.ua.es/personal/hb.jansson/Reprints/N-Hertz%20et%20al%20ELS%202006.pdf>.
- HOLTZ, G.P.; SÁ, J.C. Resíduos culturais: reciclagem de nutrientes e impacto na fertilidade do solo. In: Curso sobre manejo do solo no sistema de plantio direto. **Anais...** Fundação ABC, Castro, Paraná. p.21-36, 1995.
- HORTIBRASIL: Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura. **Alface em números**. Disponível em: http://hortibrasil.org.br/jnw/index.php?option=com_content&view=article&id=1131:alface-em-numeros&catid=64:frutas-e-hortalicas-frescas&Itemid=82. Acesso em: 28 de setembro de 2014.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. Importância do sistema de semeadura na população microbiana do solo. **Comunicado Técnico**/Embrapa-Soja, Londrina, Paraná, no 56, 1997, p.1-9.

INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural). **Boletim agroclimático de Iúna – ES**. Disponível em: <http://hidrometeorologia.incaper.es.gov.br/?pagina=iunaauto_bol>. Acesso em: 21 de agosto. 2014b.

INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural). **Sistema de informações meteorológicas**. Disponível em: <<http://hidrometeorologia.incaper.es.gov.br/>>. Acesso em: 21 de março. 2014a.

INSERRA, R.N.; GRIFFIN, G.D.; SISSON, D.V. Effects of temperature and root leachates on embryogenic development and hatching of *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne hapla*. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.15, n.1, p.123-127, Jan. 1983.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, 24: 453-489. 1986.

JESUS JÚNIOR, W.C. DE; BERGAMIM FILHO, A.; VALE, F.X.R. DO; AMORIM, L. **Tomada de decisão no manejo de doenças de plantas**. In: Vale, F.X.R. do; Jesus Júnior, W.C. de; Zambolim, L. Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Perfil Editora, 531p., 2004.

JOLLIET, O. Hortitrans, a model for predicting and optimizing humidity and transpiration in greenhouses. *Journal of Agricultural Engineering Resources*, v.58, p.23-37, 1994.

JONES, H.G. *Plants and microclimate*. 2 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 428p.

JOURAND, P., RAPIOR, S., FAGRETTE, M.; MATEILLE, T. Nematicidal effect of leaf extract from *Crotalaria virgulata* subsp. *grantiana* on *Meloidogyne incognita* and its use to protect tomato roots. **Nematology**, v. 6, p. 79-84. 2004.

KATAYAMA, M. Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão. *In: SIMPOSIO*

KERRY, B. R. Biological control of nematodes: prospects and opportunities. In: MAQBOOL, M. A.; KERRY, B. (Ed.). **Plant nematode problems and their control in the Near East Region (FAO Plant Production and Protection Paper – 144)**. Rome: FAO, 1997. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/v9978e/v9978e0b.htm#biologicalcontrolofnematodes:prospectsandopportunities>>. Acesso em: 23 Mai 2008.

KERRY, B. R. Exploration of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: BUTT, T. M., JACKSON, C.; MAGAN, N. (ed.). *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and potential*. CAB International, Wallingford, UK. 2001. 380 p.

KERRY, B. R.; BOURNE, J. M. **A manual for research on *Verticillium chlamydosporium*, a potential biological control agent for root-knot nematodes**. International Organization for Biological and Integrated Control for Noxious Animals and Plants, Gent, Belgium, 84 p. 2002.

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H. The dynamics of the decline of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*, in four soils under intensive cereal production. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 21, p. 617-625, 1998.

KOKOPELLI SEED FOUNDATION. Informativo técnico digital. http://www.kokopelli-seed-foundation.com/actu/new_news.cgi?id_news=74. 2010.

KONG, J. O.; LEE, S. M.; MOON, Y. S.; LEE, S. G.; AHN, Y. J. Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 9, p. 173-178. 2006.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics.

LATIF, Z.H.; AHMAD, R.; INAM-UL-HAQ, M. 1999. Effect of seed treatments with neem cake, neem oil and latex of aak on the germination of cowpea and its vulnerability to root knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Pakistan Journal of Nematology* 11: 52-55.

- LIMA, V.L.S. Manejo fitossanitário para broca das cucurbitáceas *Diaphania nitidalis* Cramer (Lep.: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFES, Alegre, 2009. 56p.
- LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P. A.; FREITAS, L. G.; DHINGRA, O. D.; GARDIANO, C. G.; CARVALHO, S. L. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, vol. 31, n. 2, p. 20-26. 2007.
- LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjerição sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-74. 2005.
- LOPÉS, L. L. V.; GORDALLO, J. J.; SALINAS, J.; MONFORD, M. L.; LOPEZ, S. M. L. Use of a light and scanning electron microscopy to examine colonization of barley rhizosphere by the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. **Micron**, 33: 61-67. 2002.
- LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; SABINO, N. P. Efeito de nematicidas nos caracteres econômicos de algodoeiros cultivados em solo infestado por *Helicotylenchus* sp. e *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 8, p. 47-55, 1984.
- LORDELLO, L. G. E. Nematoides das plantas cultivadas. 8ª ed. São Paulo: Nobel. 1988. 155 p.
- LORDELLO, L. G. E. Nematoides das plantas cultivadas. 7 ed. Nobel, São Paulo, 1982. 314 p.
- MAFIA, R. G. et al. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 101-105, 2003.
- MANKAU, R. 1980. Biological control of nematode pests by natural enemies. **Annual Review of Phytopathology**, 18:415-440. 1980.

- MARTINEZ, S. S. **O Nim. *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção.**
Londrina: IAPAR, 2002. 142p.
- 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, p. 267-271. 1996.
- MELLO, A. F. S.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Alternative products in the "in vitro" inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Science Agricola**, v. 62, n. 2, p. 179-183, 2005. (Nota Científica).
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia Microbiana**, Jaguariúna: EMBRAPA-DNPMA, p. 393-419, 1998.
- MENDES, W.P. Hospedabilidade e resistência de cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) aos nematoides das galhas *Meloidogyne incognita* (raças 1, 3 e 4) e *Meloidogyne javanica*. 1998. 43 f. (**Dissertação**) – UFLA, Lavras.
- MERLIM, A. O. Macrofauna edáfica em ecossistemas preservados e degradados de araucária no Parque Estadual de Campos do Jordão, SP. 2008. 89p. (Dissertação de Mestrado). Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.
- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, R. O. Multiplicação de agentes de controle biológico. In: BETTIOL, W. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 7-23, 1991.
- MORAES, S. R. G.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; FONTANETTI, A.; CARVALHO, G. J.; MAXIMIANO, C. Influência de leguminosas no controle de fitonemaoides no cultivo orgânico de alface americana e de repolho. **Fitopatologia Brasileira**. vol. 31, n. 2, p. 188-191. 2006.
- 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 Ciências Agrônômicas**, v. 40, n. 3, p. 441-448, 2009.

- MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIM, J. R.; FIORI, A. C. G.; SCAPIM, C. A. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum**, v. 25, n. 2, p. 491-496, 2003.
- NAZARENO, G. G.; JUNQUEIRA, A. M. R.; PEIXOTO, J. R. Utilização de matéria orgânica para o controle de nematoides das galhas em alface sob cultivo protegido. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 4, p. 579-590, 2010.
- NETSCHER, C. & SIKORA, A. **Nematodes parasite of vegetables**. In: LUC, M.R.; SIKORA, A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International Institute of Parasitology, 1990. p.237-283.
- NOVARETTI, W. R. T.; MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar com carbofuram e terbufós. **Nematologia Brasileira**. vol, 22, n. 1, p. 60-74. 1998.
- OHSE, S.; DOURADO, N. D.; MANFRON, P. A.; SANTOS, O. S. Qualidade de cultivares de alface produzidas em hidroponia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 181-185. 2001.
- OKA, Y. et al. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Nematology**, v. 90, n. 07, p. 710-715, 2000.
- OLIVEIRA, A. C. B.; SEDIYAMA, M. A. N.; PEDROSA, M. W.; PINHEIRO, N. C.; GARCIA, S. L. R. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum**. Agronomy Maringá, v. 26, n. 2, p. 211-217. 2004.
- OLIVEIRA, C. M. G.; KUBO, R. K. Controle químico de nematoides em algodoeiro com terbufós. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2., 1999, Ribeirão Preto. **Anais...** Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1999. p. 446-448.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review Phytopathology**. St. Paul, v. 53. 1985.

- PATRÍCIO, F. R. A., et al. Efeito da solarização, associada à aplicação de *Trichoderma* spp. ou fungicidas, sobre o controle de *Pythium aphanidermatum* e de *Rhizoctonia solani* AG-4. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 142-146, 2007
- PEIXOTO, L. de A.; ALVES, F. R.; MORAES, W. B.; BELAN, L. L. Quantificação de danos em alface causado por diferentes níveis de *Meloidogyne incognita* em diferentes tipos de solo. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, vol. 7, n. 12, p. 1-12, 2011.
- PIGNONI, E.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 68-72, 2005.
- PINKERTON, S.D.; ROLFE, R.; AULD, D. L. Selection of castor with divergent concentration of ricin and *Ricinus communis* agglutinin. *Crop Sci.* 39: 353-357. 1999.
- PINOCHET, J. **Management of plant parasitic nematodes in Central America The Panamá Experience**. In: VEECH, J.A. & DICKSON, D.W. (Eds.). **Vistas on nematology**. Maryland: Society of Nematologists, 1987. p.105-113.
- PODESTÁ, G. S. de; FREITAS, L. G. de; DALLEMOLE-GIARETA, R.; ZOOCA, R. J. F.; CAIXETA, L. B. de; FERRAZ, S. *Meloidogyne javanica* control by *Pochonia chlamydosporia*, *Gracilibacillus dipsosauri* and soil conditioner in tomato. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 2, p. 122-125, 2013.
- QUEIROGA, R. C. F.; NETO, F. B.; NEGREIROS, M. Z.; OLIVEIRA, A. P.; AZEVEDO, C. M. S. B. Produção de alface em função de cultivares e tipos de tela de sombreamento nas condições de Mossoró. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v. 19, n. 3, p. 324-328. 2001.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2013. URL <http://www.R-project.org/>.
- RABELLO, L. K. C. Quantificação de danos e perdas causados por *Meloidogyne javanica* em alface (*Lactuca sativa* L.). Universidade Federal do Espírito Santo. **(Dissertação)**. 2010.

- RICH, J. R.; RAHI, G. S.; OPPERMAN, C. H.; DAVIS, E. L. Influence of the castor bean (*Ricinus communis* L.) on mortality of *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v. 19, n. 1, p. 99-103, 1998.
- RITZINGER, C. H. S. P.; COSTA, D. C. **Capítulo X – Nematoides e alternativas de manejo.** Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Livro_Banana_Cap_10ID-gRfpPx1siR.pdf. Acesso em: 19 de agosto de 2014.
- RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia.** Editorial Premier, São Paulo, SP, 372p., 1997.
- ROCHA, S. F. Aspectos da coloração, ciclo de vida, parasitismo por *Pasteuria penetrans* e suas relações com a reserva energética de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. Universidade Federal de Lavras. (Tese), Lavras, 2007.
- SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil & Biochemistry**, New York, v. 40, p. 2016-2020, 2008.
- SALGADO, S. M. et al. Eclosao e mortalidade de juvenis de segundo estadio de *Meloidogyne exigua* em oleos essenciais. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 01, p. 17-22, 2003.
- SANTOS, R.H.S. Crescimento, produção e qualidade da alface (*Lactuca sativa*.) cultivada com composto orgânico. Viçosa-MG: UFV (tese de mestrado), 2001.
- SASSER, J.N. **Plant parasitic nematodes: the Farmers's Hidden Enemy.** Raleigh: University Graphics, 1989, 115p
- SCHMITT, D.P. Preliminary and advanced evaluation of nematodes in: SASSER, J.N. and CARTER, C.C. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, V. 1: Biology and Control. North Carolina State University Graphics., p241-248. 1985.

- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 346, 1997.
- SHARMA, R. D.; SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A.C. Dinâmica de população de fitonematoides em solo tratado com lodo de esgoto em cultivos de milho. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 24, n. 1, p. 37-40. 2000.
- SHARON, E. et al. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **Europa journal plant pathology**, London, v. 118, p. 247-258, 2007.
- SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the Root-Knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**. The American Phytopathological Society, vol. 91, n. 7, p. 687-693. 2001.
- SIKORA, R. A. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, 30: 245-270. 1992.
- SILVA, C. M. M. de S.; FAY, E. F.; VIEIRA, R. F. Efeito dos fungicidas metalaxil e fenarimol na microbiota do solo. **Pesticidas: r.ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 93-104, 2005.
- SOBRE NÚTRICÃO E ADUBAÇÃO DE HORTALIÇAS, 1990, Jaboticabal. POTAFOS, 1993.
- SOUTO, P. C. et al. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob caatinga no semi-árido da Paraíba. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v. 32, p. 151-160, 2008.
- SOUZA JÚNIOR, I. T. de; MOURA, A. B.; SCHAFFER, J. T.; CORRÊA, B. O.; GOMES, C. B. Biocontrole da queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 11, p. 1259-1267. 2010.

- SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. As biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. **Integrated Pest Management Reviews**, Esrael, v. 3, p. 169-175, 1998.
- STANGARLIN, J. R., FRANZENER, G.; FRANZENER, A. S., ASSIS, L.; CZEPAK, M. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Atividade antifúngica de hidrolatos sobre *Alternaria brassicae*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 30, p. 77. 2005.
- STARR, J. L. Recovery and longevity of egg masses of *Meloidogyne incognita* during simulated winter survival. **Journal of nematology**, v. 25, n. 2, p. 244-248, 1993.
- STIRLING, G. R. Biological control of plant parasitic nematodes: progress problems, and prospects. **CAB International**, Wallingford, Oxon, UK. 1991.
- SUAREZ, B.; REY, M.; CASTILLO, P. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agente *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. **Applied Microbiol Biotechnological**, Sevilla, v. 65, p. 46-55, 2004.
- TAIZ, I.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: TAIZ, I.; ZEIGER, E. (Eds.) **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre, RS; Artimed, 2004. p. 309-332.
- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and controlo f root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.)**. Raleigh: North Carolina State University. 111 p. 1978.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2^a ed. Ver. amp. Jaboticabal: Funep, 2000, 473 p.
- VIDIGAL, S. M.; RIBEIRO, A. C.; CASALI, V. W. D.; FONTES, L. E. F. Resposta da alface (*Lactuca sativa* L.) ao efeito residual da adubação orgânica. I – Ensaio de Campo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 42, n. 239, p. 80-88. 1995.
- VIEIRA, V.C.R.; CURY, D.M.L. Graus-dias na cultura do arroz. In: Congresso brasileiro de Agrometeorologia. Piracicaba-SP, 1997, Anais. Piracicaba: SBA, 1997. p.47-49.

- VIGGIANO, J. Produção de sementes de alface. In: CASTELLANE, P. D.; NICOLISI, W. M.; HASEGAWA, M. (Eds). **Produção de sementes de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/FUNEP, p. 1-13. 1990.
- WILLCOX, J., AND H. T. TRIBES. Fungal parasitism in cysts of *Heterodera*. I Preliminary investigations. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 62, p. 585-594. 1974.
- WILSON, C. L.; SOLAR, J. M.; EI-GHAOUTH, A.; WISNIEWSKI, M. E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, v. 81, n. 2, p. 204-210. 1997.
- YOUNG, L. D. Epiphytology and life cycle. In: RIGGS, D. R; WRATHER, J. A. **Biology and management of the soybean cyst nematode**. APS, St. Paul, 1992. p. 27-36.
- YURI, J.E.; RESENDE, G.M.; RODRIGUES JUNIOR, J.C.; MOTA, J.H.; SOUZA, R.J. Efeito de composto orgânico sobre a produção e características comerciais de alface americana. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.1, p. 127-130, jan-mar 2004.
- ZARINA, B.; GHAFAR, A.; MAQBOOL, M.A. 2003. Effect of plant extracts in the control of *Meloidogyne javanica* root-knot nematode on brinjal. *Pakistan Journal of Nematology* 21: 31-35.
- ZARINA, B.; GHAFAR, A.; MAQBOOL, M.A. 2006. Effect of plant extracts in the control of *Meloidogyne javanica* root-knot nematode on okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Pakistan Journal of Nematology* 24: 199-203.

8. ANEXOS

Anexo 1: Análise das características físicas do solo de um campo cultivado com alface cv. Regina 2000 na região de Iúna – ES.

Análise Granulométrica:

areia	635,65 g/kg
silte	53,50 g/kg
argila	310,85 g/kg
Classificação textural	Textura Média

Método de Agitação lenta a 50 rpm por 16 horas, com agitador tipo Wagner(RUIZ, 2005a) e determinação de silte por pipetagem (RUIZ 2005b)

Anexo 2: Análise das características químicas do solo de um campo cultivado com alface cv. Regina 2000 na região de Iúna – ES.

Identificação: NUDEMAFI – Análise química e física do solo

pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H + Al	SB	t	T	V	m
H ₂ O	mg/dm ³			cmol _c /dm ³							%	
5,61	165,59	147,00	3,00	1,50	0,56	0,05	3,05	2,45	2,50	5,50	44,49	2,00

pH: relação solo-água 1:2,5; P: extrator Mehlich-1 e determinação por colorimetria; K⁺ e Na⁺: extrator Mehlich-1 e determinação por espectrofotometria de chama; Ca²⁺ e Mg²⁺: extrator KCl 1 mol/L e determinação por espectrometria de absorção atômica; Al³⁺: extrator KCl 1 mol/L e determinação por titulometria. H + Al³⁺: extrator Ca(Oac)₂ 0,5 mol/L pH 7,0 e determinação por ; MO: oxidação de carbono via umido com dicromato de potássio em meio ácido (H₂SO₄)

SB - Soma de bases trocáveis
m = Índice de saturação em alumínio
t - Capacidade de troca catiônica efetiva
T - Capacidade de troca catiônica a pH 7 (CTC)
V - Índice de saturação em bases