

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

CÍNTIA DA SILVA ALVES

EFICIÊNCIA DE NEMATICIDAS BIOLÓGICOS E QUÍMICOS NO
MANEJO DE *Meloidogyne enterolobii* EM GOIABEIRA

ALEGRE - ES

2016

CÍNTIA DA SILVA ALVES

**EFICIÊNCIA DE NEMATICIDAS BIOLÓGICOS E QUÍMICOS NO
MANEJO DE *Meloidogyne enterolobii* EM GOIABEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração de Fitossanidade/Fitopatologia.

ALEGRE - ES

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Alves, Cíntia da Silva, 1992-

A474 Eficiência de nematicidas biológicos e químicos no manejo de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira / Cíntia da Silva Alves. – 2016.

48 f. : il.

Orientador: Fábio Ramos Alves.

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

1. Goiaba. 2. Declínio da goiabeira. 3. Nematicidas. 4. Nematóide em plantas. 5. *Meloidogyne enterolobii*. I. Alves, Fábio Ramos. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 63

CINTIA DA SILVA ALVES

**EFICIÊNCIA DE NEMATICIDAS BIOLÓGICOS E QUÍMICO NO
MANEJO DE *Meloidogyne enterolobii* EM GOIABEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de Fitossanidade.

Aprovada em 12 de Fevereiro de 2016

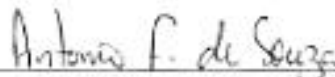
COMISSÃO EXAMINADORA



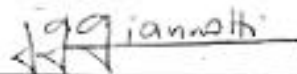
Prof. Dr. Fábio Ramos Alves
Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo – UFES
Orientador



Prof. Dr. Willian Bucker Moraes
Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo – UFES



Prof. Dr. Antônio Fernando de Souza
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo-IFES-Campus Santa
Teresa



Prof. Dr. Juliana Di Giorgio Giannotti
Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo – UFES

DEDICATÓRIA

A Deus, princípio e fim de tudo; aos meus pais, Carlecy Alves e Mariza da Silva Alves; à minha irmã Cibele A. Coussevite; à minha sobrinha Suzanny A. Coussevite; aos amigos e colegas de laboratório; ao meu namorado e amigo Renan Zappavigna Costa Starling, pelo trabalho, esforço, apoio, incentivo, paciência e o amor a mim dedicados durante essa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela benção e proteção concedidas e por todas as oportunidades que me foram oferecidas.

Aos meus pais, Carlecy e Mariza, pela força e apoio incondicionais e a todos os meus familiares que sempre torceram pelo meu sucesso.

Ao meu namorado Renan Starling, pela ajuda, atenção e apoio.

Ao orientador, Prof. Dr. Fábio Ramos Alves, pela confiança, atenção e amizade.

Ao professor Prof. Dr. Willian Bucker Moraes, pelas valiosas sugestões e pelo tempo disponibilizado.

Aos meus amigos Ualace, Amanda e Maria Laura, pelo apoio, suporte e pela amizade durante esta caminhada.

Aos meus amigos e funcionários do Laboratório de entomologia do NUDEMAFI que estiveram presentes em todos os momentos.

Ao senhor Aldevar Macondes Venturin Borgo por disponibilizar a propriedade e os seus funcionários, onde foi realizado o experimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À empresa FITOCLIN, na pessoa do pesquisador M.s. Joseli Tatagiba, pela parceria. Aos professores da minha banca examinadora, pela prontidão e disponibilidade.

BIOGRAFIA

Cíntia da Silva Alves, moradora do município de Alegre - Espírito Santo, criada no distrito de Rive, Alegre - ES, nascida no dia 09 de Junho de 1992, segunda filha da família composta por 2 filhas, Cibele Alves Cousaquevite e eu. Coursou o ensino fundamental na Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio “Célia Teixeira do Carmo”. Aos 18 anos ingressou no Instituto Federal do Espírito Santo - IFES, na cidade de Alegre, com o propósito de se tornar Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas. Durante toda a graduação, foi participante ativa de programas de iniciação científica, como bolsista durante 3 anos; realizou estágios na área, participou de congresso e publicações de trabalhos, assim teve a oportunidade de crescer, pessoal e profissionalmente. Aos 21 anos de idade, obteve o título de Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas e ingressou no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, atuando na área de nematologia, sob a orientação do Prof. Dr. Fábio Ramos Alves, área de Concentração em Fitossanidade (Fitopatologia).

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| 2.1 Importância econômica e social da cultura da goiaba | 15 |
| 2.2 Principais aspectos do declínio da goiabeira | 15 |
| 2.3 Métodos de manejo | 16 |
| 2.3.1 Controle químico | 17 |
| 2.3.2 Controle biológico | 18 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 20 |
| 3.1 Pré-testes..... | 20 |
| 3.1.1 Obtenção dos nematicidas..... | 20 |
| 3.1.2 Obtenção dos J2 de <i>M. enterolobii</i> | 20 |
| 3.1.3 Efeito do fluensulfone sobre <i>M. enterolobii</i> | 21 |
| 3.1.4 Efeito do Fluensulfone 480 EC sobre <i>P. chlamydosporia</i> e <i>T. harzianum</i> | 22 |
| 3.1.5 Efeito de <i>P. chlamydosporia</i> e <i>T. harzianum</i> aplicados isoladamente ou em associação com o fluensulfone sobre a mortalidade de J2 de <i>M. enterolobii</i> | 23 |
| 3.2 Experimentos de campo | 23 |
| 3.2.1 Delineamento experimental e condução do experimento no campo | 22 |
| 3.2.2 Modo de aplicação | 25 |
| 3.2.3 Isolamento do <i>Fusarium</i> sp. em raízes e solo de goiabeira | 26 |
| 3.2.4 Avaliações populacionais de <i>M. enterolobii</i> em raízes e solo | 26 |
| 3.2.5 Análises dos dados | 27 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 4.1 Experimento ‘in vitro’ (pré-testes) | 28 |
| 4.1.1 Efeito de Fluensulfone sobre a mortalidade de J2 de <i>M. enterolobii</i> | 28 |
| 4.1.2 Efeito do fluensulfone sobre <i>P. chlamydosporia</i> e <i>T. harzianum</i> | 29 |
| 4.1.3 Efeito de <i>P. chlamydosporia</i> e <i>T. harzianum</i> aplicados isoladamente ou em associação com fluensulfone sobre a mortalidade de J2 de <i>M. enterolobii</i> | 29 |
| 4.1.4. Experimento de campo..... | 31 |
| 4.1.5 Presença de <i>Fusarium</i> sp. associado ao declínio da goiabeira... | 31 |
| 4.1.6 Eficiência dos produtos químicos e biológicos em raízes de goiabeira | 31 |
| 5. CONCLUSÕES | 40 |
| 6. REFERÊNCIAS | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------------|---|-----------|
| Tabela 1 | Análises química e física de solo cultivado com a cultura da goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.) cv. Paluma com ocorrência natural do declínio goiabeira no município de Pedro Canário, ES. | 24 |
| Tabela 2 | Informações dos produtos comerciais usados na área de cultivo de goiaba em Pedro Canário, ES. | 25 |
| Tabela 3 | Mortalidade média de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>M. enterolobii</i> , tratados com os nematicidas biológicos e com o nematicida sintético fluensulfone, aplicados isoladamente ou em associação. | 30 |
| Tabela 4 | Resumo da análise de variância referente à população final (PF) de raízes computada pela soma de ovos + J2 de segundo estágio (J2) e do número de galhas (NG) induzidas por <i>M. enterolobii</i> em goiabeira em Pedro Canário, ES. | 33 |
| Tabela 5 | População final (PF) computada pelo somatório de ovos+J2 de <i>M. enterolobii</i> extraídos de raízes, tratadas com nematicida sintéticos e biológicos utilizados isoladamente ou em associação, em diferentes períodos após a aplicação. | 34 |
| Tabela 6 | Número de galhas (NG) de <i>M. enterolobii</i> (NG) tratadas com Fluensulfone e nematicidas biológicos, empregados isoladamente ou em associação, em condições de campo no município de Pedro Canário, ES. | 39 |
| Tabela 7 | População final de <i>M. enterolobii</i> (PF) extraídos de solo naturalmente infestado pelo nematoide e tratado com um nematicida sintético e dois biológicos utilizados isoladamente ou em associação no município de Pedro Canário, ES. | 40 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------------|---|-----------|
| Figura 1 | Mortalidade média de J2 de <i>M. enterolobii</i> , tratados com diferentes concentrações do nematicida sintético Fluensulfone, em condições de laboratório. | 28 |
| Figura 2 | Valores obtidos pela fórmula de Eficiência Relativa (%) de diferentes tratamentos no manejo de <i>M. enterolobii</i> em um campo cultivado com goiabeira cv. Paluma apresentando sintomas de declínio em Pedro Canário, ES. | 32 |
| Figura 3 | População final de <i>M. enterolobii</i> (PF) computada pelo somatório do número J2 + ovos extraídos de raízes de goiabeira, tratadas com fluensulfone associado a <i>P. chlamydosporia</i> e <i>T. harzianum</i> . | 35 |
| Figura 4 | População final de <i>Meloidogyne enterolobii</i> (PF) computada pelo somatório do número J2 + ovos extraídos de raízes de goiabeira, tratadas com fluensulfone e carbofuran. | 36 |
| Figura 5 | População final de <i>M. enterolobii</i> (PF) computada pelo somatório do número J2 + ovos extraídos de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintoma do declínio, tratada com <i>T. harzianum</i> . | 37 |

RESUMO

Tendo em vista que o declínio da goiabeira é caracterizado como uma doença complexa causada pelo parasitismo de *M. enterolobii*, que predispõe a planta a podridão radicular causada pelo fungo *Fusarium* sp., foram realizados três experimentos ‘in vitro’ com os seguintes objetivos: (i) selecionar a dosagem de fluensulfone capaz de causar a mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. enterolobii*; (ii) verificar o efeito da dosagem de fluensulfone sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, para posterior associação entre eles; (iii) avaliar o efeito de *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* em doses puras e em associação com fluensulfone sobre a mortalidade J2 de *M. enterolobii*; e um experimento em nível de campo cujo objetivo foi: (iv) avaliar a eficiência de fluensulfone, *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, aplicados isoladamente ou em associação no manejo de *M. enterolobii* em goiabeira. A concentração 2L teve efeito semelhante à concentração 4L/ha, porém, não apresentou efeito sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*. As doses associadas e puras dos tratamentos tiveram efeito significativo sobre *M. enterolobii*. O experimento de campo foi realizado entre os meses de março e dezembro em um pomar de goiaba no município de Pedro Canário, ES. Foram testados os seguintes tratamentos: fluensulfone; *P. chlamydosporia* + fluensulfone; *P. chlamydosporia*; *T. harzianum* + fluensulfone; *T. harzianum*; carbofuran e a testemunha (2L/ha) escolhida de acordo com resultado do teste prévio. Foram realizadas avaliações da população final (PF) de nematoides no solo e raízes e número de galhas (NG) antes da aplicação dos tratamentos (tempo 0) e aos 60, 120 e 180 dia após a aplicação dos tratamentos (DAT). O antagonista *T. harzianum* reduziu a PF de *M. enterolobii* até 120 dias. Todos os tratamentos apresentaram níveis satisfatórios de redução populacional de *M. enterolobii*, uma vez que a eficiência relativa foi superior a 80% a partir de 120 dias. A associação de fluensulfone à *P. chlamydosporia* teve efeito significativo aos 120 dias na redução da população do nematoide, quando comparados aos outros tratamentos.

Palavras-chave: *Psidium guajava*; Declínio; Fluensulfone.

ABSTRACT

Given that the decline of the guava tree is characterized as a complex disease caused by parasitism *M. enterolobii*, which predisposes the plant to root rot caused by the fungus *Fusarium* sp. Three experiments were carried out in vitro with the following objectives: (i) select the dosage fluensulfone capable of causing mortality of second stage juveniles (J2) of *M. enterolobii*; (ii) verify the fluensulfone dosage effect on *P. chlamydosporia* and *T. harzianum* for later association between them; (iii) evaluate the effect of *T. harzianum* and *P. chlamydosporia* in pure doses and in combination with fluensulfone on mortality J2 *M. enterolobii*; and an experiment in field level whose aim was (iv) evaluate the fluensulfone efficiency, *P. chlamydosporia* and *T. harzianum* applied alone or in combination in the management of *M. enterolobii* in guava. A 2L concentration has had a similar effect to 4L / ha also had no effect on *P. chlamydosporia* and *T. harzianum*. Associated doses and pure of the treatments had a significant effect on *M. enterolobii*. The field experiment was carried out between March and December in a guava orchard in Pedro Canario, ES. The treatments, fluensulfone were tested; *P. chlamydosporia* + fluensulfone; *P. chlamydosporia*; *T. harzianum* + fluensulfone; *T. harzianum*; carbofuran and the witness (2L / ha) chosen according to results of the previous test. Assessments of the final population were held (PF) of nematodes in the soil and roots and number of galls (NG) before treatments (time 0) and at 60, 120 and 180 days after treatments (DAT). The antagonist *T. harzianum* reduced the *M. enterolobii* up to 120 days. All treatments showed satisfactory levels of population reduction *M. enterolobii*, since the relative efficiency was above 80% from 120 days. The fluensulfone association to *P. chlamydosporia* had a significant effect 120 days in reducing nematode population when compared to other treatments.

Keywords: *Psidium guajava*; Decline; Fluensulfone.

1. INTRODUÇÃO

O declínio da goiabeira se instalou no Brasil há alguns anos e ainda constitui um grave problema fitossanitário, sendo responsável pela erradicação de inúmeros pomares de goiabeiras (SOUSA, 2006; GOMES, 2011). Gomes et al. (2012) atribuíram os sintomas do declínio com a ação sinérgica entre *Meloidogyne enterolobii* e *Fusarium solani*.

A meloidoginose é uma doença caracterizada para destruição de vasos condutores, com posterior alteração no padrão de absorção e/ou translocação de água e de nutrientes, alterações fisiológicas da planta, o que facilita a predisposição a patógenos secundários (GOMES, 2007), amarelecimento e enrolamento de folhas e ramos mais novos, com posterior avermelhamento, além da murcha e desfolhamento da planta. Os frutos produzidos nesses ramos têm seu desenvolvimento paralisado (SOUSA et al. 2006; GOMES et al. 2011).

Considerando que o declínio da goiabeira tem início com a predisposição da planta e intensa degeneração radicular causada por *M. enterolobii*, subsequente à ação do *F. solani*, sugere-se que a busca de manejo capaz de controlar a população de *M. enterolobii* seja uma estratégia eficaz ao combate ao declínio.

Nesse sentido, o controle biológico vem se destacando como uma alternativa de grande relevância, sendo uma das principais ferramentas para a diminuição do uso de nematicidas sintéticos, produtos caros e altamente tóxicos ao homem e ao meio ambiente (BETTIOL et al., 2014).

Entre os fungos com potencial de uso na agricultura para manejo de nematoides destacam-se *Pochonia chlamydosporia*, como parasita de ovos e fêmeas (DALLEMOLE-GIARETTA 2013; VIGGIANO et al., 2014) e *Trichoderma harzianum*, um dos fungos mais estudados para biocontrole de doenças de plantas (LORITO, 2015)

Outra opção para o manejo de fitonematoides no campo é o controle químico; entretanto, muitos já foram proibidos por possuir pontos negativos, como a utilização altamente restrita devido às preocupações da toxicidade para organismos não-alvo, como, invertebrados, mamíferos e seres humanos, além do impacto sobre o meio ambiente (KEARN et al., 2014). Dessa forma, a busca por

produto de baixa toxicidade a esses organismos é de suma importância para solucionar os casos de problemas causados por nematoides.

Fluensulfone, ou MCW-2, (5-cloro-2-(3,4,4-trifluorobut-3-yl)thiazole) é um membro do grupo tioéter fluoroalquilo, este ingrediente ativo tem ações nematicidas, além da baixa toxicidade para os organismos não-alvo (PHILLION et al., 1999). Recentemente tem sido demonstrado que o fluensulfone pode reduzir significativamente a infecção de raiz e penetração de *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne arenaria* (CSINOS et al., 2010).

É recente o estudo da molécula fluensulfone, portanto não existem pesquisas que comprovem a eficiência da mesma sobre *M. enterolobii*, tão pouco o uso associado a controles biológicos. De acordo com De Cal et al. (1994), agentes de biocontrole, que podem tolerar a certos níveis de nematicida ou fungicida, podem ser associado aos agroquímicos, resultando na erradicação de doenças de plantas. Dessa forma, espera-se que fluensulfone seja efetivo sobre a mortalidade de *M. enterolobii*; espera-se ainda, que a associação dos nematicidas químicos e biológicos prolongue o tempo de ação sobre a doença, permitindo que a população de fitonematoides permaneça baixa por um tempo prolongado, evitando o uso contínuo de nematicidas e finalmente que contribua com manejo de *M. enterolobii* em goiabeira.

Tendo em vista que o declínio da goiabeira é caracterizado como uma doença complexa causada pelo parasitismo de *M. enterolobii*, que predispõe a planta à podridão radicular causada pelo fungo *Fusarium* sp. (GOMES et al. 2011), o estudo teve como objetivo: (i) selecionar a dosagem de fluensulfone capaz de causar a mortalidade significativa de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. enterolobii*; (ii) verificar o efeito da dosagem de fluensulfone sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, para posterior associação; (iii) avaliar o efeito de *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* em doses puras e em associação com fluensulfone sobre a mortalidade J2 de *M. enterolobii* “in vitro”; (iv) avaliar a eficiência de fluensulfone, *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, aplicados em doses puras e associadas no manejo de *M. enterolobii* em goiabeira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância econômica e social da cultura da goiaba

Apesar das divergências sobre a origem da goiabeira, a mesma é encontrada em quase todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, isso é justificado pela fácil adaptação a diferentes climas, além da fácil propagação por semente (NETO 2007).

No Brasil, os frutos da goiabeira tem importância socioeconômica para região Nordeste, onde os mesmos são destinados à industrialização, possuindo características para o processamento, elaboração de sucos, compotas e doces em pasta, e em razão da qualidade, os frutos também podem ser consumidos *in natura*.

No Estado do Espírito Santo, a fruticultura está entre as principais atividades econômicas e vem se destacando em âmbito nacional (BISPO, 2010). A localização do Estado é estratégica, em um cenário logístico e econômico, o qual permite atender 50% do mercado de grandes capitais, como Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, os quais são pertencentes à chamada Faixa de Desenvolvimento da Região Sudeste (MOYSÈS, 2006).

Ainda no Estado do Espírito Santo, foi criado o Polo de Produção de Goiaba para Indústria, instalado no ano de 2003, no Município de Pedro Canário, localizado no norte do Estado. Tendo como meta alcançar uma produção em torno de 10,5 mil toneladas anuais, sendo que em 300 ha foram plantadas 120 mil mudas da goiabeira 'Paluma' (SERRANO et al., 2007), o que denota a importância da proteção à cultura e o investimento instalado no município.

2.2 Principais aspectos do declínio da goiabeira

O declínio da goiabeira há alguns anos se instalou no Brasil e ainda constitui um grave problema fitossanitário, sendo responsável pela erradicação de inúmeros pomares de goiabeiras (GOMES, 2011).

Os sintomas do declínio estão atribuídos à ação sinérgica entre *M. enterolobii* e *Fusarium solani*, sendo que o parasitismo inicial do nematoide predispõe as

plantas à intensa degeneração radicular subsequente pelo fungo, tornando assim o manejo da doença complexo (GOMES et al. 2010).

As plantas atacadas exibem sintomas bem característicos, como forte bronzeamento nas bordas de folhas e ramos, seguidos do amarelecimento completo das folhas, culminando com desfolha generalizada e morte súbita das plantas. Na parte subterrânea, geralmente ocorre a diminuição acentuada de raízes finas e presença de galhas radiculares de várias dimensões associadas com necrose (CARNEIRO et al. 2001).

De acordo com Mitkowski (2003), o declínio é caracterizado com a murcha especialmente no período da tarde, mesmo que na presença de umidade, além da limitada capacidade das raízes em absorver e transportar água e nutrientes para o resto da planta. Outro sintoma é a deficiência nutricional em função da dificuldade de absorção e de transportar esses nutrientes para as outras partes da planta, causando nanismo e redução na produção.

Visando encontrar medidas de controle do declínio, pesquisadores têm testado híbridos de goiabeira quanto à resistência à doença, assim como porta-enxertos tanto de goiabeira como de araçazeiro, além de outras estratégias como utilização de agentes biológicos e químicos, resíduos quitinosos, entre outros, porém, os resultados não tem sido promissores (MIRANDA et al, 2012).

2.3 Métodos de Manejo

De maneira geral, os fitonematoides obrigatórios passam pelo menos parte do seu ciclo de vida no solo, onde sua atividade é influenciada por alguns fatores como: físicos (temperatura, umidade e aeração); químicos (defensivos, fertilizantes) e fisiológicos (FERRAZ et al., 2010). Como a maioria dos nematoides de plantas é habitante do solo, é importante ressaltar que o manejo desses patógenos não é tarefa fácil, sendo que entre as principais medidas de controle destacam-se o controle químico e o biológico.

2.3.1 Controle químico

O controle químico de fitonematoides é realizado por meio do uso de nematicidas sintéticos amplamente difundido em todo o mundo, todavia, tem-se mostrado cada vez mais desaconselhável, visto que os produtos são de difícil acesso aos pequenos produtores por seu valor relativamente alto, a alta toxicidade ao homem, animais e meio ambiente, além do amplo espectro de ação e por serem potenciais contaminantes de solo e águas subterrâneas (STOLF, 2006).

Atualmente, há pouca opção de nematicidas químicos disponíveis no mercado brasileiro, uma vez que muitos desses produtos foram proibidos devido a sua elevada toxicidade (HUSAIN et al., 2010).

Apesar dos nematicidas químicos possuírem alguns pontos negativos, eles ainda têm destaque no manejo, principalmente pela sua eficiência e ação quase imediata. Por isso, a formulação de moléculas com ação nematicida menos tóxicas é uma alternativa indispensável, tendo em vista a gravidade e a severidade dos prejuízos por algumas espécies de nematoides, como *M. enterolobii*, um dos agentes causais do declínio da goiabeira (MIRANDA et al, 2012).

O fluensulfone é o novo ingrediente ativo de um nematicida que no Brasil está em fase de registro pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (KEARN et al., 2014). Fluensulfone, ou MCW-2, (5-cloro-2-(3,4,4-trifluorobut-3-yl)enilsulfonil)-1,3-tiazole) é um membro do tioéter fluoroalquilo grupo. Esse ingrediente ativo tem ações nematicidas, além da baixa toxicidade para os organismos não-alvo (PHILLION et al., 2009). Recentemente, tem sido demonstrado que o fluensulfone reduz significativamente a infecção de raiz e penetração de *Meloidogyne javanica* (KEARN et al., 2014), *M. incognita* e *M. arenaria* (CSINOS et al., 2010).

O Fluensulfone já se mostrou eficiente na redução populacional de nematoides como *Pratylenchus jaehni* e *Tylenchulus semipenetrans* em citros (SILVA; BENETTI, 2015), *M. javanica* em cana-de-açúcar, (TAKACHI et al., 2015), *P. zae* em cana-de-açúcar (NOVARETTI et al., 2015), *M. javanica* em pimentão (FUDO et al., 2015), e *M. javanica* em beterraba (CARDOSO et al., 2015).

Apesar de alguns estudos citados comprovarem a eficiência da nova molécula para várias culturas, ainda não há pesquisa com goiabeira, tão pouco o uso associado a agentes de controle biológico.

2.3.2 Controle biológico

Vários organismos são considerados inimigos naturais de fitonematoides, por exemplo, tardígrados, vírus, artrópodes, nematoides predadores, ácaros, fungos e bactérias (STIRLING, 2014). Apesar dessa diversidade de antagonistas, nem todos esses organismos apresentam potencial para serem utilizados na prática no controle biológico de nematoides (ALVES et al., 2011).

Entre os agentes bio-controladores de nematoides de plantas, os fungos e as bactérias são os organismos que apresentam o maior número de características desejáveis (FREITAS et al., 2009; STIRLING, 2014; ALVES; FREITAS, 2014; ALVES; SOUZA, 2015).

Fungos nematófagos são agentes com capacidade de capturar, parasitar ou paralisar nematoides em qualquer estágio de seu ciclo de vida. Os fungos são divididos em grupos com diferentes modos de ação, sendo ectoparasitas ou predadores, endoparasitas, parasitas de ovos e fêmeas e produtores de metabólitos tóxicos (JANSSON et al., 1997; ALVES; FREITAS, 2014).

Os fungos mais utilizados em pesquisas científicas, considerados bio-controladores de fitonematoides são *Trichoderma* sp. e *Pochonia* sp. (ALVES; FREITAS, 2014). O primeiro compreende fungos de vida livre, que se reproduzem assexuadamente, presentes com mais frequência em solos de regiões de clima temperado e tropical (EAPEN et al., 2005; FERREIRA et al., 2008). O segundo é um parasita facultativo de ovos e fêmeas de *Meloidogyne* spp. e de *Heterodera avenae* amplamente distribuído em todo o mundo (KERRY et al., 1982). Uma das vantagens desses antagonistas é a produção de clamidósporos, estruturas de resistência e sobrevivência preferencialmente utilizadas como inóculo, podendo ser adicionados ao solo em suspensão aquosa sem fonte adicional de nutrientes (GIARETTA et al., 2011).

De maneira geral, o modo de ação de *Trichoderma* spp. é por parasitismo, antibiose e competição, sendo que esses organismos atuam na proteção preventiva

das plantas, na restauração da comunidade microbiana e na recuperação da estrutura de solos debilitados pela prática agrícola intensiva. Além disso, o antagonista libera metabólitos secundários que estimulam o crescimento das plantas (SPIEGEL; CHET, 1998; EAPEN et al., 2005).

Segundo Baños et al., (2010), a ação de agentes biológicos reduz gradativamente a população de *Meloidogyne* ssp. com o passar do tempo. Borges et al. (2013) concluíram que *Trichoderma* sp., aplicado ao solo, exerceu efeito significativo na redução populacional de *Meloidogyne* sp., impedindo que juvenis do nematoide penetrassem nas radículas e fêmeas estabelecessem a formação de células gigantes em raízes de feijoeiro.

São diversos os produtos biológicos já registrados e comercializados em diversas partes do mundo, entre os quais, Antagon WP[®] (*T. harzianum* DSM 14944), Binab[®] (*T. harzianum* e *T. polysporum*), Bio Fit[®] (*T. harzianum* e *T. virens*), Bioderma[®] H (*T. harzianum*), BioFungo[®] WP, (*T. harzianum* ATCC 52443) e Quality WG[®] (*Trichoderma* sp.) (BETTIOL et al., 2012).

No Brasil, merece destaque o produto Trichodermil[®] (*T. harzianum* - cepas ESALQ-1306 e ESALQ-1303), entretanto existem outros bionematicidas registrados e/ou comercializados à base de *Trichoderma* spp. como, Quality WG[®] (*T. asperellum*), Biotrich[®] (*Trichoderma* sp.), TrichodermaxEC (*T. harzianum*, Trichodel[®] (*Trichoderma* sp.), Trichonat EF[®] (*Trichoderma* sp.), Trichoplus JCO[®] (Mix de isolados de *Trichoderma* spp. e *T. harzianum*).

O fungo *P. chlamydosporia* também é considerado promissor no controle biológico por parasitar ovos e fêmeas de *Meloidogyne* spp. (EAPEN et al., 2008). Uma característica de extrema importância desse fungo é sua inocuidade para os seres humanos e animais, não prejudicando o meio ambiente e outros organismos benéficos presentes no solo, além disso, é facilmente cultivado “*in vitro*” (ZINGER, 2015).

No Brasil, existem dois produtos à base de *P. chlamydosporia* em fase de registro junto ao MAPA para diferentes culturas, são eles: Rizotec[®] e Rizomax[®] (BETTIOL et al., 2014). Esses produtos são indicados, principalmente, para culturas de característica perene, a exemplo da cultura do café, acerola, laranja, uva, banana, goiaba, entre outras.

Apesar da indicação dos produtos à base de *P. chlamydosporia* para a cultura da goiaba, não há pesquisas sobre sua eficiência contra o declínio da goiaba, assim como de produtos à base de *Trichoderma* spp.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Três pré-testes foram feitos, antes da instalação do experimento no campo, no Laboratório de Nematologia, Setor de Fitopatologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), situado na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), localizada no município de Alegre - ES, latitude 20°45' Sul, longitude 41°48' Oeste e altitude de 250 m.

3.1. Pré-testes

3.1.1 Obtenção dos nematocidas

O fluensulfone e o agente biológico *T. harzianum*. foram adquiridos pela empresa Fitoclin e fornecido ao laboratório de fitopatologia do CCA-UFES. Já o antagonista *P. chlamysodporia*, foi obtido diretamente da empresa Rizoflora, sediada em Viçosa, MG.

3.1.2 Obtenção dos J2 de *M. enterolobii*

Para a obtenção dos J2, uma população pura de *M. enterolobii* foi multiplicada e mantida em raízes de goiabeira (*Psidium guajava* L.), cv. Paluma, cultivada em casa de vegetação.

O substrato empregado para o plantio da goiabeira foi composto de solo e areia na proporção 1:1. O solo, coletado de local não cultivado, foi peneirado e autoclavado por 2 horas a 140° C, sendo esse processo repetido três vezes.

A espécie de *M. enterolobii* (ovos + J2) foi extraída das raízes pelo método de Jenkins (1964). A espécie foi previamente identificada por eletroforese da isoenzima esterase, conforme metodologia de Carneiro et al., (2001).

A concentração de inóculo obtida em suspensão aquosa foi estimada com auxílio de uma câmara de contagem de Peters, em microscópio. Posteriormente, foram montadas câmaras de eclosão que foram mantidas a 27°C, por cinco dias, até que eclodisse o quantitativo suficiente de J2 para a montagem do experimento (CLIFF; HIRSCHMANN, 1985). As coletas dos J2 foram realizadas a cada 24 horas.

3.1.3 Efeito do fluensulfone sobre *M. enterolobii*

O Fluensulfone foi testado nas seguintes doses: 1mL/ha; 1,5L/ha; 2L/ha; 4L/ha e dose zero. Em 75mL de calda, foi diluído as respectivas doses 0,013mL; 0,02mL; 0,026mL e 0,053mL.

As repetições foram constituídas de quatro tubo de ensaio de 5mL de capacidade, devidamente identificados, nos quais foram depositados 02 mL de suspensão aquosa, contendo 100 J2 de *M. enterolobii* com os tratamentos já citados. Os tubos foram deixados à temperatura de 27° C por 24 horas.

Para se estimar o número de indivíduos imóveis (inativos), verteu-se cuidadosamente o conteúdo de cada tubo sobre uma peneira de 0,025 mm de malha. Os J2 recolhidos nessa peneira foram lavados com água corrente. Posteriormente, os J2 foram novamente transferidos para os tubos contendo água de torneira e deixados em repouso por mais 24 horas.

Determinou-se então a porcentagem de J2 móveis e imóveis. Essa avaliação foi feita visualmente sob microscópio estereoscópio em câmara de contagem de Peters. Com base nos dados obtidos nas avaliações, a porcentagem de mortalidade foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$PM = \frac{NIM \times 100}{500}$$

*Em que: PM = Porcentagem de Mortalidade; NIM = Número de Indivíduos Mortos.

Para se obter a normalidade da distribuição dos erros, homogeneidade das variâncias, e aditividade dos efeitos dos fatores de variação, os dados foram transformados por \sqrt{x} e submetidos ao teste de Cochran e Bartlett ($p \geq 0,05$) para verificar a homogeneidade de variâncias e de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$) para a normalidade.

Os dados do efeito de Fluensulfone 480 EC sobre a mortalidade de J2 de *M. enterolobii* foram analisados por meio de regressão não linear (SEBER, WILD, 2003).

3.1.5 Efeito do fluensulfone 480 EC sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*

O experimento foi realizado com objetivo de verificar se o fluensulfone apresenta efeito sobre os fungos *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*, informação crucial para a associação dos controles.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizados com 5 repetições. Os fungos foram previamente cultivados em placas de Petri, e submetidos aos seguintes tratamentos: 2L/ha e 4L/h (0,026mL e 0,053mL) diluídos em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ no escuro por 15 dias.

Após o crescimento dos fungos, foram preparadas placas de Petri contendo meio de cultura BDA + a alíquotas de fluensulfone na dosagem de 2L/ha, que foi determinada com base nos resultados do experimento descrito no item 3.1.4. Foram preparadas também placas com discos de *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* sem a adição de Fluensulfone, sendo essas consideradas testemunha.

A avaliação sobre a possível toxicidade Fluensulfone sobre os fungos foi realizada quando o micélio fúngico de ambos os fungos atingiu a borda da placa.

3.1.5 Efeito de *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* aplicados isoladamente ou em associação com o fluensulfone sobre a mortalidade de J2 de *M. enterolobii*

Neste experimento, foram testados os seguintes tratamentos: *P. chlamydosporia* 2kg/h (0,026mL); fluensulfone 2L/ha (0,026mL) + *P. chlamydosporia* 2kg/ha (0,026mL); *T. harzianum* 1L/ha (0,013mL); fluensulfone 2L/ha (0,026mL) + *T. harzianum* 2kg/ha (0,026mL); Carbofuran 0,4L/ha (0,053mL) e testemunha (somente aplicação de água).

Foram utilizadas quatro repetições, sendo cada uma delas constituída de um tubo de ensaio de 5mL de capacidade devidamente identificado, onde foram depositados 02mL de suspensão aquosa contendo 100 J2 de *M. enterolobii* + tratamentos.

Os tubos foram mantidos à temperatura de 27° C, por 9 horas (ALVES SANTOS et al., 2011). Para se estimar o número de indivíduos móveis ou imóveis, foi seguida a mesma metodologia descrita no item 3.5.

Para se obter a normalidade da distribuição dos erros, homogeneidade das variâncias, e aditividade dos efeitos dos fatores de variação, os dados foram transformados por \sqrt{x} e submetidos ao teste de Cochran e Bartlett ($p \geq 0,05$) para verificar a homogeneidade de variâncias e de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$) para a normalidade.

Os dados do ensaio sobre efeito de *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* aplicados isoladamente ou em associação com Fluensulfone sobre a motilidade de J2 de *M. enterolobii* foram submetidas à análise de variância. Em caso de significância, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (PIMENTEL-GOMES, 2009; ZIMMERMANN, 2014). Para a realização das análises, utilizou-se o aplicativo computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).

3.2 Experimentos de campo

O experimento a campo foi conduzido em um pomar de goiabeira cv. Paluma com ocorrência natural do declínio, situado no município de Pedro Canário, localizado no Norte do Estado do Espírito Santo, com longitude de 39°57'26" e

Latitude S 18°17'33" (INCAPER, 2013), durante os meses de março a dezembro de 2015. Segundo a classificação internacional de Köppen, o clima da região é do tipo “Cwa”, isto é, tropical quente úmido com inverno frio e seco, com temperatura anual média de 24,0 °C.

O pomar de goiaba é composto por plantas com cinco anos de idade cultivadas em espaçamento de 4 x 7 m. Foram utilizadas 4 linhas de plantio de goiabeira.

Antes da aplicação dos tratamentos no campo foram realizadas análises química e física do solo (TABELA 1).

Tabela 1. Análises química e física de solo cultivado com a cultura da goiaba (*Psidium guajava* L.) cv. Paluma com ocorrência natural do declínio goiabeira no município de Pedro Canário, ES

| pH | P | K | Na | Ca | Mg | Al | H+Al | SB | T | t | V | m | Matéria Orgânica |
|--------------------|--------------------|-----|----|-----------------------|------|-----|---------------|-----|-----|----------------------|-------|------|------------------|
| H ₂ O | mg/dm ³ | | | cmolc/dm ³ | | | | | | % | % | g/Kg | |
| 5,04 | 136,3 | 269 | 23 | 3,22 | 0,59 | 0,2 | 6,1 | 4,6 | 4,8 | 10,71 | 42,89 | 4,17 | 6,1 |
| Areia total | | | | Silte | | | Argila | | | Classificação | | | |
| 89% | | | | 1% | | | 10% | | | Arenoso | | | |

SB – Soma de bases trocáveis

T – Capacidade de trocas catiônicas a pH 7 (CTC);

t – Capacidade de trocas catiônicas efetiva

V - Índice de saturação em base

M – Índice de saturação em alumínio

3.2.1 Delineamento experimental e condução do experimento no campo

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições em esquema de parcelas subdivididas, sendo a parcela constituída por sete tratamentos previamente testados:

1. *P. chlamydosporia* 2kg/ha (0,026mL);
2. Fluensulfone (2L/ha)
3. Fluensulfone 2L/ha (0,026mL) + *P. chlamydosporia* 2kg/ha (0,026mL);
4. *T. harzianum* 1L/ha (0,013mL);
5. Fluensulfone 2L/ha (0,026mL) + *T. harzianum* 2kg/ha (0,026mL);
6. Carbofuran 0,4L/ha (0,053mL);

7. Testemunha (dose zero).

Cada unidade experimental foi composta por cinco plantas, em esquema fatorial 7 x 4 (7 tratamentos/nematicidas biológicos e químico, empregados isoladamente ou em associação, nas dosagens recomendadas pelo fabricante e descritos (Tabela 2), e 4 intervalos de avaliação/subparcela, ou seja, 0, 60, 120 e 180 dias.

Na tabela 2, estão contidas informações sobre os ingredientes ativos dos produtos comerciais utilizados no experimento, os nomes comerciais, as formulações e as doses recomendadas de cada um dos respectivos produtos. É importante ressaltar que o volume da calda usada foi de 6 litros para cada tratamento.

Tabela 2. Informações dos produtos comerciais usados na área de cultivo de goiaba em Pedro Canário, ES

| Ingredientes ativos | Produtos comerciais | Formulações | Doses |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------|--------------|
| Fluensulfone | Fase de registro | 480 EC | 2L/ha |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Trichodermil [®] | SC | 2L/pl. |
| <i>Pochonia chlamydosporia</i> | Fase de registro | - | 2kg/ha |
| Carbofurano | Furadan [®] | 350 SC | 0,4L/ha |

*A dose 2L/ha Fluensulfone foi determinada por meio de teste prévio.

As plantas da extremidade da unidade experimental não foram avaliadas por serem consideradas para efeito de bordadura. O número total de plantas do experimento foi de 160.

3.2.2 Modo de aplicação

A aplicação dos tratamentos foi realizada em faixas de 1m em cada linha, após limpeza da cobertura morta presente sobre o solo na faixa de aplicação.

A condição inicial de temperatura foi de 26C° e ao final da aplicação 25,1 C°. A velocidade do vento foi de aproximadamente 3,0m/s e 2,9 m/s no início e final da aplicação, respectivamente.

Como o cultivo é irrigado por gotejamento, foram feitas duas irrigações de 10mm, sendo uma realizada um dia antes da aplicação e outra logo após a aplicação.

A pulverização foi realizada em faixas, sendo os tratamentos aplicados com auxílio de pulverizador costal pressurizado com CO₂ equipado com uma barra contendo dois bicos tipo leque, com altura de aproximadamente 35 cm, formando uma faixa de aplicação de 100 cm de largura no sentido de linha, sendo o volume da calda de 6L por tratamento.

3.2.3 Isolamento do *Fusarium* sp. em raízes e solo de goiabeira

Foram feitos cortes de pequenos fragmentos das raízes (colo, raiz principal e raízes secundárias), preferencialmente das zonas afetadas com galhas causadas pelo nematoide, que foram desinfestados com álcool 70% durante um minuto e hipoclorito de sódio (2%) durante um minuto e lavadas com água destilada (DHINGRA; SINCLAIR, 1995).

Os fragmentos foram incubados por sete dias a 27 ° C e 12 h de fotoperíodo em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Após esse período, o fungo foi isolado e, após a esporulação, identificado em nível de gênero de acordo com as descrições de Ellis (1971, 1976), Barnett e Hunter (1972) e Sutton (1980).

3.2.4 Avaliações populacionais de *M. enterolobii* em raízes e solo

De cada parcela, foram retiradas três subamostras para compor uma amostra composta de solo na profundidade de aproximadamente 20 a 30 cm, na região da rizosfera de cada planta avaliada, totalizando aproximadamente 2L de solo para cada parcela amostrada.

De cada repetição, foram coletados, em média, 50g raízes de cada uma das três plantas centrais, para compor uma amostra composta de 150g, sendo armazenadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados, fechados e acondicionados em caixas de isopor e transportados ao Laboratório de Fitopatologia NUDEMAFI da Universidade Federal do Espírito Santo para análise.

Para o processamento das amostras, o sistema radicular foi cuidadosamente lavado e quantificado o número de galhas (NG) de forma visual e, posteriormente, utilizada a metodologia proposta por Hussey e Barker, 1973, modificado por Bonetti e Ferraz (1981) para quantificação da população final de nematoides (PF), composta pelos juvenis de segundo estágio (J2) + ovos de *M. enterolobii* com auxílio de uma câmara de contagem de Peters sob microscópio estereoscópio.

Para a extração de J2 do solo, também foi utilizado o método de Jenkins (1964), sendo tecnicamente chamado de método de peneiramento combinado à flutuação em centrífuga com solução de sacarose.

3.2.5 Análises dos dados

A Eficiência Relativa (ER) foi calculada pela fórmula adaptada de Henderson e Tilton (1955),

$$ER = (1 - P/T) \cdot 100$$

Em que: P – incidência ou severidade da doença em cada tratamento avaliado, T – incidência ou severidade da doença no tratamento Testemunha.

Os dados da PF de nematoides em solo e raízes foram transformados por $\log_{10}(x + 1)$ e em seguida submetidos ao teste de Cochran e Bartlett ($p \geq 0,05$), para verificar a homogeneidade de variâncias e de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$) para a normalidade.

Visto que as subparcelas foram medidas repetidas no tempo (dias), os dados foram submetidos ao teste de Mauchly (1940) para verificar a esfericidade, ou seja, com o intuito de verificar se a matriz de covariâncias é similar a uma matriz identidade, conforme preconizado por Huynh e Feldt (1979), para medidas repetidas no tempo.

Observada a esfericidade dos dados, procedeu-se com a análise de variância em arranjo de parcelas subdivididas, sendo os fatores qualitativos submetidos ao teste de comparação de médias e o fator quantitativo (intervalo de avaliação), submetido à análise de regressão ($p \leq 0,05$) (PIMENTEL-GOMES, 2009; ZIMMERMANN, 2014).

Em caso de significância dos fatores qualitativos, estes foram analisados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para realização das análises, utilizou-se o aplicativo computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Experimento 'in vitro' (pré-testes)

4.1.1 Efeito de Fluensulfone sobre a mortalidade de J2 de *M. enterolobii*

Os dados transformados apresentaram homogeneidade de variâncias pelo teste de Cochran e Bartlett ($p \geq 0,05$), normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$) e ajustaram-se ao modelo não linear exponencial e, de acordo com o incremento das concentrações, houve aumento na mortalidade de J2 de *M. enterolobii* (Figura 1).

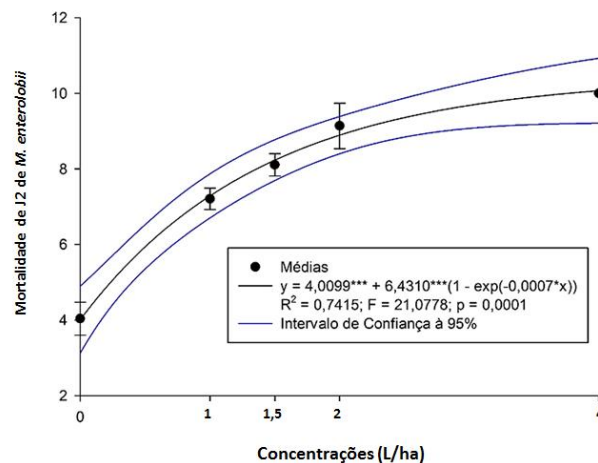


Figura 1. Mortalidade média de J2 de *M. enterolobii*, tratados com diferentes concentrações do nematicida sintético Fluensulfone, em condições de laboratório.

*Dados transformados por \sqrt{x} .

Verifica-se, a partir da concentração 2L/ha, uma sobreposição dos desvios padrões e equivalentes valores para os intervalos de confiança superior e inferior. Isso significa que as concentrações 2L e 4L/ha são semelhantes. Dessa maneira, entende-se que a concentração 2L/ha é a mais adequada para teste em campo, pelo fato de ser semelhante à concentração 4L/ha. O mesmo foi observado por

Almeida et al. (2015); Chaves et al. (2015) e Fudo et al. (2015), em testes realizados para verificar a ação desse nematicida sobre fitonematoides.

Quando avaliado o percentual de mortalidade, foi possível verificar que o fluensulfone causou mortalidade de 36%, 69%, 85% e 100% de J2 de *M. enterolobii* nas respectivas doses de 1L/ha, 1,5L/ha, 2L/ha e 4L/ha. Na testemunha foi observado 16% de mortalidade.

Por meio desta prévia, foi possível selecionar a dose que apresentou eficiência elevada (85%) quanto à mortalidade de J2 de *M. enterolobii*, para que essa mesma dose fosse usada em dois ensaios posteriores: a avaliação do efeito do fluensulfone sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* e a avaliação *in vitro* a associação dos mesmos na mortalidade de J2 de *M. enterolobii*. E finalmente a seleção dos tratamentos a serem aplicados no campo.

4.1.2 Efeito do fluensulfone sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*

O nematicida sintético não apresentou toxicidade sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* na dose de 2L (0,026mL), uma vez que o crescimento micelial de ambos os fungos foi o mesmo no meio de cultura contido em placas tratadas com o nematicida, além da testemunha que não recebeu nenhum tratamento no meio de cultura.

Silva (2011) testou a sensibilidade de *Trichoderma* spp. à produtos químicos e verificou que dentre os produtos testados o fosfito de potássio não foi capaz de inibir significativamente o crescimento micelial de nenhuma das espécies de *Trichoderma* sp. testadas, possibilitando a associação.

Já a aplicação de 4L (0,053mL) causou a morte dos fungos, não havendo crescimento dos mesmos. Visto o resultado desse teste, prosseguiu-se com as avaliações do efeito da dose 2L/ha de fluensulfone associada aos antagonistas (*P. chlamydosporia* e *T. harzianum*) sobre a mortalidade de J2 de *M. enterolobii*.

4.1.3 Efeito de *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* aplicados isoladamente ou em associação com fluensulfone sobre a mortalidade de J2 de *M. enterolobii*

Após 24 horas, verificou-se que todos os tratamentos (exceto a testemunha) proporcionaram elevado nível de mortalidade de J2 de *M. enterolobii*. Com

exceção do fluensulfone + *T. harzianum*, a mortalidade média dos J2 submetidos aos respectivos tratamentos diferiu estatisticamente da testemunha igualando ao teste positivo carbofuran (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade média de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. enterolobii*, tratados com os nematicidas biológicos e com o nematicida sintético fluensulfone, aplicados isoladamente ou em associação.

| Tratamentos | Mortalidade(%) |
|---|-----------------------|
| <i>P. chlamydosporia</i> | 97,3 a |
| <i>T. harzianum</i> | 91,0 a |
| Fluensulfone 2L/ha | 85,0 a |
| Fluensulfone 2L/ha + <i>P. chlamydosporia</i> | 81,3 a |
| Fluensulfone 2L/ha + <i>T. harzianum</i> | 66,0 ab |
| Carbofuran | 100,0 a |
| Testemunha | 22,7 b |
| CV (%) | 18,7 |
| F | 4,5201 |
| P | 0,0094363 |

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados por \sqrt{x} , apresentados dos originais.

Verificou-se, portanto que o fluensulfone é efetivo na mortalidade de *M. enterolobii* quando aplicado isoladamente. O mesmo foi observado por Kearn et al., (2014), que provaram ainda a eficiência do nematicida quando associado a *P. chlamydosporia* e a *T. harzianum*.

O antagonista *T. harzianum* causou a mortalidade de *M. enterolobii*, provavelmente, devido à produção de toxinas (BENITEZ et al., 2004; EAPEN et al., 2005; FERREIRA et al., 2008 e ZINGER, 2015).

Em geral, *P. chlamydosporia*, coloniza ovos na fase de multiplicação celular e desenvolvimento embrionário, mais agilmente que juvenis (LOPES, 2007), entretanto, alguns autores já verificaram o efeito desse antagonista sobre a supressão e números de fêmeas, juvenis, ovos de juvenis e galhas

de *Meloidogyne* (STIRLING, 1991; DE LEIJ et al., 1992; SIDDIQUI et al., 1999; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2008; FERNANDES, et al., 2014).

Os testes prévios permitiram selecionar os tratamentos a serem testados em nível de campo. Portanto, optou-se por avaliar no campo os tratamentos que tiveram efeito significativo nos testes prévios, sendo: (i) *P. chlamydosporia*, (ii) *T. harzianum*; (iii) fluensulfone, (iv) fluensulfone + *P. chlamydosporia*, (v) fluensulfone + *T. harzianum* e (vi) carbofuran.

4.1.4 Experimento de campo

O nível de matéria orgânica no solo da área experimental foi de 6,1g/Kg, o que tornou o ambiente favorável à manutenção dos agentes de controle biológico introduzidos no solo. De acordo com Rajendran et al. (2001), a matéria orgânica do solo é um fator de extrema importância, visto que funciona como condicionador do solo e favorece a perpetuação dos antagonistas à nematoides, como fungos e bactérias.

Hoitink et al. (2006) comprovaram que nutrientes presentes na matéria orgânica, como lipídios, carboidratos e quitina influenciam de forma positiva no modo de ação do antagonista *Trichoderma* spp., o que pode, segundo Dallemole-Giaretta et al. (2008), refletir na supressão de fitopatógenos de solo.

4.1.5 Presença de *Fusarium* sp. associado ao declínio da goiabeira

As análises de raízes selecionadas aleatoriamente, fragmentadas e incubadas em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA, foram positivas quanto à indicaram a presença *Fusarium* sp. com base na morfologia das colônias e dos esporos visualizados em microscópio (URBEN, 2009).

As placas contendo os isolados estão preservadas em geladeira a 8 °C no Laboratório de Nematologia, Setor de Fitopatologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) e serão analisadas para confirmar se trata-se de *Fusarium solani*, por meio da análise de ácido nucleico através de primers específicos.

Esse teste foi realizado para verificar a possível presença do *F. solani* na área experimental, justificando o estudo sobre o declínio e não apenas sobre o fitonematoides, em que de acordo com Gomes (2011), o declínio não é causado apenas por *M. enterolobii*, mas sim, entre a associação sinérgica do fungo com *F. solani*.

Dessa forma, é visto a importância do manejo da meloidoginose, sendo o *M. enterolobii* quem primeiro parasita a planta deixando-a favorável para *F. solani* causar danos induzidos, infectando e necrosando as raízes, além de reduzir o peso total do sistema radicular.

4.1.6 Eficiência dos produtos químicos e biológicos em raízes de goiabeira

Todos os tratamentos apresentaram níveis satisfatórios de controle de *M. enterolobii*, com Eficiência Relativa (ER) acima de 80% a partir de 120 dias (FIGURA 2).

O fluensulfone; *P. chlamydosporia*; fluensulfone + *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* apresentaram eficiência acima de 90% aos 120 dias, já o fluensulfone + *T. harzianum* e carbofuran apresentam eficiência de 90% após 180 dias. Aos 60 dias, todos os tratamentos apresentaram Eficiência Relativa abaixo de 60% (FIGURA 2).

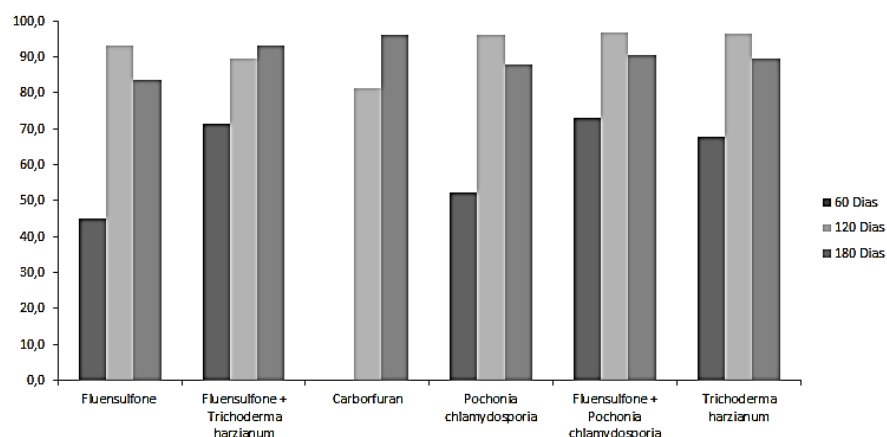


Figura 2. Valores obtidos pela fórmula de Eficiência Relativa (%) de diferentes tratamentos no manejo de *M. enterolobii* em um campo cultivado com goiabeira cv. Paluma apresentando sintomas de declínio em Pedro Canário, ES.

Os dados transformados apresentaram homogeneidade de variâncias pelo teste de Cochran e Bartlett ($p \geq 0,05$) e normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$).

A análise de esfericidade utilizando o teste de Mauchly revelou que tanto a variável PF quanto NG nas raízes foram não significativos de 1 e 5%, respectivamente ($W_{M. enterolobii} = 0,57349$, $p = 0,052334$; $W_{galha} = 0,9373$, $p = 0,93735$, respectivamente), verificando assim, esfericidade dos dados.

Para a variável PF no solo, também verificou-se esfericidade dos dados ($W_{solo} = 0,6699$, $p = 0,16056$). Dessa forma, procedeu-se a análise dos dados por meio da metodologia de subparcelas divididas no tempo.

Com base na análise de variância, verificou-se que para a variável PF ocorreu interação entre os tratamentos e os intervalos de avaliações. Entretanto, para a variável NG a interação foi não significativa (TABELA 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância referente à população final (PF) de raízes computada pela soma de ovos + J2 de segundo estágio (J2) e do número de galhas (NG) induzidas por *M. enterolobii* em goiabeira em Pedro Canário, ES

| Fontes de variação | PF | NG |
|----------------------|---------|---------|
| | F | F |
| Tratamentos (T) | 1,2626 | 0,6319 |
| Bloco | 1,5404 | 0,7342 |
| Tempo (t) | 15,9335 | 20,6545 |
| Interação (Txt) | 1,7883 | 0,9542 |
| CV1 (%) ¹ | 22,72 | 60,75 |
| CV2 (%) ² | 18,36 | 35,56 |

¹ Coeficiente de variação da parcela;

² Coeficiente de variação da subparcela.

O desdobramento do fator Tratamento dentro dos níveis do fator Tempo indicou que somente a partir de 120 dias houve efeito dos tratamentos sobre a PF de *M. enterolobii* em raízes de goiabeira (TABELA 5), sugerindo-se a ação residual dos produtos sistêmicos sobre o nematoide.

Tabela 5. População final (PF) computada pelo somatório de ovos+J2 de *M. enterolobii* extraídos de raízes, tratadas com nematicida sintéticos e biológicos utilizados isoladamente ou em associação, em diferentes períodos após a aplicação

| Tratamentos | Intervalos (dias) | | | |
|--|-------------------|------------------|------------|-------------|
| | 0 ^{ns} | 60 ^{ns} | 120 | 180 |
| Fluensulfone* | 13.250 | 2.945 | 460 b | 873 b |
| <i>P. chlamydosporia</i> * | 9.750 | 1.657,5 | 510 ab | 2.453,3 ab |
| <i>T. harzianum</i> * | 8.750 | 1.115 | 442,5 ab | 1.592,5 ab |
| Fluensulfone+ <i>P. chlamydosporia</i> * | 5.000 | 930 | 432,5 b | 1.403,8 ab |
| Fluensulfone + <i>T. harzianum</i> * | 12.750 | 990 | 1.350 ab | 1.047,5 ab |
| Carbofuran* | 11.750 | 4.695 | 2.425 ab | 582,5 b |
| Testemunha* | 3.215 | 3.465 | 13.008,5 a | 15.060,75 a |

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade;

^{ns} Não significativo pelo teste F no desdobramento da análise de variância;

*Dados transformados por $\log_{10}(x + 1)$ e apresentados de forma original.

O mesmo foi observado por Otoboni (2003), que relatou que o efeito dos produtos testados foi evidente sobre a população do nematoide nas raízes e no solo somente aos 120 dias após a aplicação dos mesmos.

Aos 120 dias, o fluensulfone aplicado isoladamente ou em associação com o *P. chlamydosporia* reduziram a PF comparado à testemunha, já aos 180 dias, quem promoveu a redução dessa variável foram o fluensulfone e o carbofuran (TABELA 5). Resultados similares foram encontrados por Marcuzzo et al. (2000), que observaram reduções populacionais de *M. incognita* e *M. exigua* em cultura perene ao final de 270 dias após a aplicação de nematicidas.

Kearn et al., (2014) relatam que Fluensulfone apresenta amplo espectro de controle, baixa toxicidade a organismo não-alvo, forte e rápida ação letal sobre ovos e nematoides adultos além de ser empregada em baixas dosagens. Segundo o autor, o novo nematicida é eficiente na redução populacional de fitonematoides.

Realizando o desdobramento do fator tempo dentro dos níveis do fator tratamento pôde-se verificar que o fluensulfone + *P. chlamydosporia* e fluensulfone + *T. harzianum* apresentaram melhor ajuste ao modelo polinomial de segundo grau com redução da PF até 120 dias após a aplicação dos tratamentos, porém com ligeiro aumento da população de *M. enterolobii* após esse período (FIGURA 3).

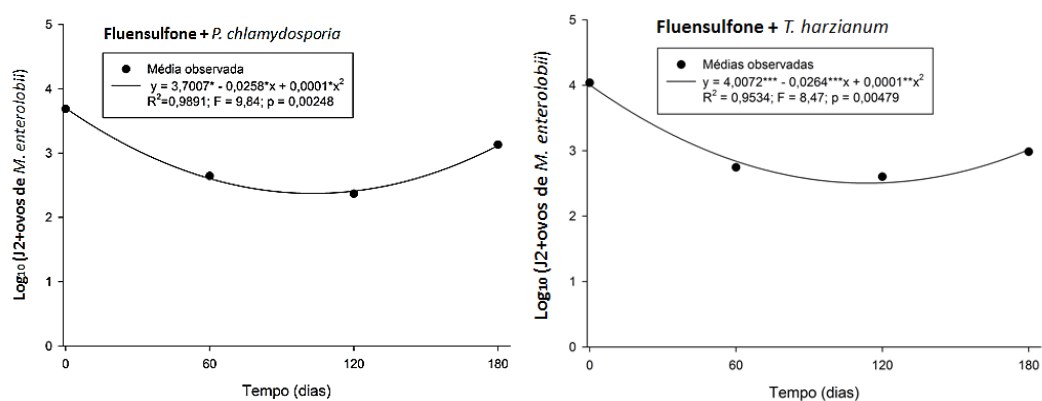


Figura 3. População final de *M. enterolobii* (PF) computada pelo somatório do número J2 + ovos extraídos de raízes de goiabeira, tratadas com fluensulfone associado a *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*.

Os dados demonstram que não foi possível inferir ação dos produtos nos solo, além disso, os controles biológicos não permaneceram atuando após 120 dias, logo, a população de *M. enterolobii* não manteve baixa, após o período residual do fluensulfone. Sugere-se, portanto, a reaplicação do controle biológico, tendo em vista os vários pontos positivos, como inocuidade para os seres humanos e animais, não prejudicando o meio ambiente e outros organismos benéficos presentes no solo (ZINGER, 2015).

Esse aumento da população após 120 dias pode ser explicado pela agressividade da doença que, segundo Taylor e Sasser (1978), a população de nematoides multiplicam-se em escala logarítmica e, assim, uma fêmea produz em torno de 500 ovos, sendo que, apenas uma média de 5% sobrevive para completar seu ciclo, então, tem-se em quatro gerações, respectivamente: 25, 625, 15.625 e 390.625 adultos.

Este estudo é o primeiro a avaliar a compatibilidade ou incompatibilidade de nematicidas químicos do fluensulfone à *P. chlamydosporia* e *T. harzianum*. Entretanto, Siddiqui e Mahmood, (1999) já relatavam que nematicidas químicos podem apresentar um efeito nematostático e, em baixas doses, podendo assim ter efeito benéfico no controle biológico por causarem paralisação dos nematoides expondo-os a antagonistas ou, no caso de parasitas facultativos, reduzindo a população de nematoides a níveis em que esses antagonistas possam ser efetivos.

Em relação ao fluensulfone empregado isoladamente, os dados apresentaram melhor ajuste para o modelo linear, sendo que o nematicida provocou o decréscimo da população de *M. enterolobii* durante todo o período experimental, isso pode ser comparado a tão eficiente quanto o carbofuran, considerado teste positivo no presente estudo que também provou a diminuição significativa da população ao longo do tempo. (Figura 4).

O mesmo ocorreu com Y. Oka et al. (2011) e Kearns et al. (2014), que relataram efeito positivo de fluensulfone sobre *M. incognita* e *M. javanica*, resultando em efeito significativo. Sugeriram que essa molécula nematicida é uma nova promessa para manejo de fitonematoides (SILVA, 2015).

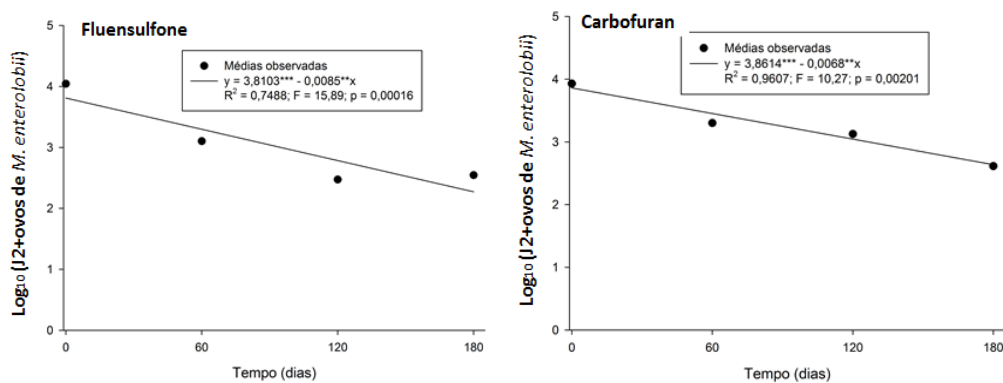


Figura 4. População final de *Meloidogyne enterolobii* (PF) computada pelo somatório do número J2 + ovos extraídos de raízes de goiabeira, tratadas com fluensulfone e carbofuran.

Os dados do tratamento *T. harzianum* ajustaram-se ao modelo quadrático, apresentando redução inicial da PF até os 120 dias após a instalação do experimento, porém com incremento da população do nematoide, após esse período (Figura 5). Com isso, sugere-se nova aplicação dos antagonistas após os 120 dias.

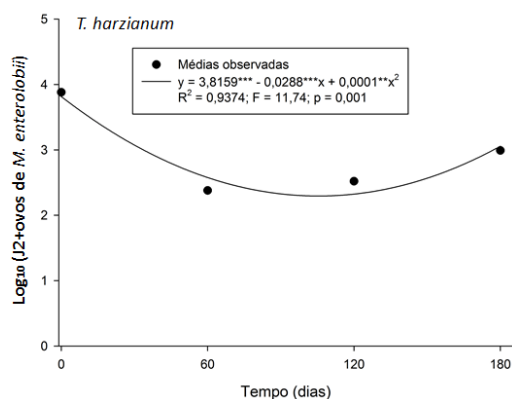


Figura 5. População final de *M. enterolobii* (PF) computada pelo somatório do número J2 + ovos extraídos de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintoma do declínio, tratada com *T. harzianum*.

O resultado positivo do antagonista *T. harzianum* na redução da PF do nematoide ao longo do tempo deve-se ao fato do antagonista inibir e bloquear o desenvolvimento de patógenos no solo devido à antibiose, ao parasitismo e à competição desempenhadas por esse antagonista (BENITEZ et al. 2004). Todavia, as principais características que tornam esse organismo um bom agente de controle biológico para *Meloidogyne* spp. são a produção de compostos tóxicos (SPIEGEL; CHET, 1998; EAPEN et al., 2005; FERREIRA et al., 2008).

Dessa forma, *T. harzianum* é mais uma opção para o manejo da meloidoginose, pelos resultados obtidos na pesquisa e pelas características que o torna um bom agente de controle de fitonematoides, atuando na proteção preventiva das plantas, na restauração da comunidade microbiana e na recuperação da estrutura de solos debilitados pela prática agrícola intensiva, além de liberar metabólitos secundários que estimulam o crescimento das plantas (SPIEGEL et al, 1998; EAPEN et al., 2005).

Fluensulfone aplicado isoladamente ou em associação em dose pura e associada, neste estudo, mostra-se promissor no manejo da meloidoginose (KEARN et al., 2014; TAKACHI et al., 2015; NOVARETTI et al., 2015),

consequentemente, contribuirá no manejo do declínio da goiabeira, considerando que *M. enterolobii* o precursor da doença.

Entretanto, o manejo do declínio da goiabeira não é tarefa tão simples, pois o fato da população de *M. enterolobii* ter sido reduzida no campo devido à aplicação de nematicidas biológicos e sintético, aplicados isoladamente ou em associação, não significa que a área de cultivo onde o experimento foi conduzido ficou isenta do declínio, mesmo porque é importante destacar que se trata de uma doença complexa e muito agressiva. Dessa forma, manter a população de *M. enterolobii* baixa, por meio dessas alternativas de manejo, é uma opção de suma importância para diminuir dos danos causados às plantas.

P. chlamydosporia não apresentou resultado significativo sobre PF dos *M. enterolobii* durante os períodos de avaliação. Entretanto, em outros estudos, *P. chlamydosporia* tem sido apontado como um agente importante de biocontrole de nematoides com expressivo potencial para diferentes culturas. DALLEMOLE-GIARETTA et al., (2013), por exemplo, observaram que a aplicação de 5.000 clamidósporos/g de solo reduziu significativamente o número de ovos de *M. javanica* (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2008). Isso pode ser justificado pela particularidade de cada espécie dentro do gênero *Meloidogyne*, sendo caracterizado, principalmente, pela complexa biologia e distinção dentre as espécies.

Ao se analisar o fator tratamentos para a variável NG, verificou-se que esse fator não foi significativo, sendo constatada média de 45,35 galhas por 10 gramas de raízes (TABELA 6).

Tabela 6. Número de galhas (NG) de *M. enterolobii* (NG) tratadas com fluensulfone e nematicidas biológicos, empregados isoladamente ou em associação, em condições de campo no município de Pedro Canário, ES

| Tratamentos | NG ^{ns} |
|--|------------------|
| Fluensulfone* | 44,75 |
| <i>P. chlamydosporia</i> * | 43,00 |
| <i>T. harzianum</i> * | 28,38 |
| Fluensulfone+ <i>P. chlamydosporia</i> * | 51,94 |
| Fluensulfone + <i>T. harzianum</i> * | 42,75 |
| Carbofuran* | 44,38 |
| Testemunha* | 58,63 |
| Média | 45,35 |

^{ns} Não significativo pelo teste F da análise de variância ao nível de 5% de variância.

* Dados transformados por $\log_{10}(x + 1)$.

Isso pode ter ocorrido devido ao coalescimento de galhas menores, formando, dessa forma, galhas maiores, o que pode levar à subjetividade na contagem, uma vez que a mesma é feita visualmente (Alves, 2000). Apesar disso, o NG em experimentos na área de fitonematologia é mundialmente utilizado e ajuda a explicar resultados da flutuação populacional de nematoides no campo.

Dallemole-Giaretta et al., (2013) aplicaram arroz colonizado por *P. chlamydosporia* em um campo infestado por *M. javanica* e cultivado com alface e cenoura e relataram redução de 46% do NG.

Não ocorreu interação significativa entre os fatores tratamentos e tempos para a PF de *M. enterolobii* no solo. Analisando independentemente os fatores, observa-se que o fator tratamento não afetou significativamente a PF (TABELA 7). Por outro lado, a PF foi afetada pelo fator intervalo de avaliação.

Tabela 7. População final de *M. enterolobii* (PF) extraídos de solo naturalmente infestado pelo nematoide e tratado com um nematicida sintético e dois biológicos utilizados isoladamente ou em associação no município de Pedro Canário, ES

| Tratamentos | PF ^{ns} |
|--|------------------|
| Fluensulfone* | 209,94 |
| <i>P. chlamydosporia</i> * | 277,56 |
| <i>T. harzianum</i> * | 232,50 |
| Fluensulfone+ <i>P. chlamydosporia</i> * | 210,94 |
| Fluensulfone + <i>T. harzianum</i> * | 211,88 |
| Carbofuran* | 210,25 |
| Testemunha* | 389,81 |
| Média | 242,00 |

^{ns} Não significativo pelo teste F no desdobramento da análise de variância;

* Dados transformados por $\log_{10}(x + 1)$.

Apesar da PF não ter sido diferente estatisticamente, a avaliação é importante que se faça algumas observações, principalmente sobre aspectos biológicos de *Meloidogyne* spp.

O menor valor numérico de indivíduos de *M. enterolobii* encontrados no solo em relação ao encontrado nas raízes da goiabeira pode ser explicado pelas características biológicas de *Meloidogyne* spp. Para nematoides desse gênero, os J2 são atraídos pelos exsudados radiculares das raízes, migram por meio do córtex da raiz e estabelecem seus sítios de alimentação (células gigantes) próximos ao periciclo. Nesse ponto, os J2 passam por quatro ecdises, tornam-se fêmeas adultas sedentárias e, geralmente, fazem a postura de seus ovos dentro da própria raiz. Desses ovos, novos J2 irão eclodir. Dessa forma, é comum encontrar maiores números de J2 e ovos dentro da raiz do que no solo (HUSSEY, 1985).

5. CONCLUSÕES

1. A concentração 2L/ha do fluensulfone foi tão eficiente quanto à concentração de 4L/ha, sendo selecionada para os próximos ensaios no ensaio “*in vitro*”;
2. O fluensulfone não apresentou efeito sobre *P. chlamydosporia* e *T. harzianum* na dose de 2L (0,026mL);
3. Exceto a testemunha, os demais tratamentos proporcionaram elevado nível de mortalidade de J2 de *M. enterolobii* no ensaio “*in vitro*”;

4. *T. harzianum* reduziu a PF de *M. enterolobii* até 120 dias no campo;
5. Todos os tratamentos no campo apresentaram eficiência relativa satisfatória sobre *M. enterolobii*, sendo superior a 80% a partir de 120 dias;
6. A população de *M. enterolobii* teve ligeiro acréscimo após 180 dias da aplicação em plantas tratadas com fluensulfone + agentes biológicos no campo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. A.; SANTIAGO, D. C.; BENETTI, E.; FUDO, C.H.; BOSS, A. L.; TAKACHI, M. T. Eficiência do nematicida fluensulfone no controle de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro. **Anais...** XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 99, 2015.

ALVES G. C. S.; SANTOS J. M.; SOARES, P. L. M.; DE JESUS, F. G.; ALMEIDA E. J.; THULER, R. T. Avaliação *in vitro* do efeito de rizobactérias sobre *Meloidogyne incognita*, *m. javanica* e *Pratylenchus zaeae*, **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.78, n.4, p.557-564, out./dez., 2011.

ALVES, F. R.; CAMPOS, V. P.; RABELLO, L. K. C.; LIMA, I. M.; PEREIRA, A. J. Controle biológico de fitonematoides por fungos e bactérias: considerações gerais e mecanismos de ação dos principais antagonistas. UFES, Alegre, ES, p. 249-266, 2011.

ALVES, F. R.; SOUZA, R.M. de. Nematophagous Bacteria: Survival Biology. *Biocontrol Agents of Phytonematodes*. p. 256-275, 2015.

ALVES, F. R.; FREITAS, L. G. Controle biológico de fitonematoides. O essencial da fitopatologia, controle de doenças de plantas. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 235-264, 2014.

ALVES, F.R. Efeito da temperatura na reprodutividade e no controle biológico de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *Meloidogyne incognita* raça 3 (Kofoid & White) Chitwood. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2000.

BAÑOS, Y. S.; CONCEPCIÓN, A. B; LAZO, R. C.; GONZÁLEZ, I. A.; MOREJÓN, L. P. Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. **Rev. Bras. de Agroecologia**. ISSN: 1980-9735 5(2): 224-233, 2010.

BENITEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M.C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v.7, n.4, p.249-260, 2004.

BETTIOL W.; MORANDI M. A. B.; PINTO Z. V.; JÚNIOR T. G. P.; CORRÊA E. B.; MOURA A. B.; LUCON C. M. M.; COSTA J. C. B.; BEZERRA J. L. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2012.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M.C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE A.; JAIME, R.; COLMENÁREZ, Y.C. **Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe**, 404 p. 2014.

BISPO W. M. S. Respostas fisiológicas de goiabeira ‘Paluma’ parasitada por *Meloidogyne mayaguensis* sob condições controladas e de campo. **Tese** Universidade Federal do Espírito Santo, p. 80, 2010.

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

BORGES, F. G.; BATTISTUS, A. G.; MÜLLER, M. A. ; MIORANZA, T. M.; KUHN, O. G., Manejo alternativo de nematoides de galha (*Meloidogyne*

incognita) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), **Scientia Agraria Paranaensis** - SAP Mal. Cdo. Rondon, v.12, suplemento, dez., p. 425-433, 2013.

CARDOSO, V. H. P.; TAKACHI, M. T.; BENETTI, E.; GIRALDI J. B.; SANTIAGO, D. C.; ALMEIDA, A. A. Eficácia do novo nematicida fluensulfone no controle de *Meloidogyne javanica* em *Beta vulgaris*. **Anais...** XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 101, 2015.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.25, n2, p.223-228, 2001.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, F. M. L. Eficiência do fluensulfone no controle de *Pratylenchus zae* em tabuleiros costeiros nordestinos. **Anais...** XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 99, 2015.

CLIFF, G. M., HIRSCHMANN H. Evaluation of morphological variability in *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology* 17:445-459, 1985.

CSINOS, A.; WHITEHEAD, J.; HICKMAN, L. L.; LAHUE S. S.; Evaluation of fluensulfone for root knot nematode on tobacco, *Phytopathology* 100. S28–S28, 2010.

DALLEMOLE-GIARETTA, L.G; FREITAS, S.; FERRAZ, W.S.; NEVES, E.A. LOPES, M.M. Efeito da concentração de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* **Nematol. Bras.**, 32, pp. 327–332, 2008.

DALLEMOLE-GIARETTA, R. Isolamento, identificação e avaliação de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de tomateiro. **Nematologia Brasileira**. v. 32, n. 4, p. 327-332, 2008.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; CAVALLIN, I. C.; MARMENTINI, G.A.; FARIA, C. M. R.; RESENDE, J. T. V. Avaliação de um produto à base de *Pochonia chlamydosporia*, no controle de *Meloidogyne javanica* em alface e cenoura no campo. **Nematropica**, v.43, p.131-137, 2013.

- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; ZOOCA, R. J. F.; CAIXETA, L.B.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* por meio da aplicação de palha de café colonizada por *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n.2, p.137-140, 2010.
- DANIELSON, R. M.; DAVEY, C. B. No nutritional fatores affecting the growth of *Trichoderma* in culture. *Soil Biol. Biochem.*, v.5, p.495-504, 1973.
- DE CAL, A., PASCUAL, S.; MELGAREJO, P. In vitro studies on the effects of fungicides on beneficial fungi of peach twig mycoflora. *Mycopathologia*, 126 (1): 15-20. 1994.
- DE LEIJ, F.A.A.M.; DAVIES, K.G.; KERRY, B.R. The use of *Verticillium chlamydosporium* Goddard and *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr alone and in combination to control *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *Fundamental and Applied Nematology*, v.15, p.235-242. 1992.
- EAPEN, A. J.; BEENA, B.; RAMANA, K. V. Evaluation of fungal bioagents for management of root-knot nematodes in ginger and turmeric fields. **Journal of spices and aromatics Crops**, v.17 p.122-127, 2008.
- EAPEN, S. J.; BEENA, B; RAMANA, K. V. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.88, p.218-225, 2005.
- FERNANDES, R. H. ; VIEIRA B. S. ; FUGA C. A, S. ; LOPES E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 194-200, Jan./Feb. 2014.
- FERRAZ. S.; FREITAS. L. G. de; LOPES. E. A.; DIAS-ARIEIRA. C. R. Manejo sustentável de fitonematoides. Universidade Federal de Viçosa. MG. Ed. UFV.. p. 139-169, 2010.
- FERREIRA , P. A.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FREITAS, L. G. Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, n.3, p.15-21, 2008.

FREITAS, L. G.; DALEMOLLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; PODESTÁ, G. S.; FERRAZ, S. Controle biológico de nematoides: estudo de casos. Editora UFV, Viçosa, p.41-82, 2009.

FUDO, C. H.; SILVA, F. M. L.; BENETTI, E. Avaliação da eficácia do nematicida nimitztm (Fluensulfone 480 EC) no controle de *Meloidogyne javanica* na cultura do pimentão. **Anais...** XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 99, 2015.

GIARETTA, R. D.; FREITAS L. G.; CAIXETA L. B.; XAVIER D. M.; FERRAZ S.; FABRY, C. F. S. Produção de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* em diferentes substratos. **Ciência e Agrotecnologia**. vol.35, n. 2, Lavras (MG), Março de 2011.

GOMES, V. M. Meloidoginose da goiabeira: estudos sobre a sua patogênese e formas de convívio com a doença a campo. **Dissertação** - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes (RJ), 2007.

GOMES, V. M., SOUZA R. M., SILVA M. M., DOLINSKI C. Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne enterolobii*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 154–160, 2008.

GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; MUSSI-DIAS. V.; SILVEIRA, S. F. DOLINSKI, C. Declínio da goiabeira: doença complexa envolvendo *Meloidogine enterolobii* e *Fusarium solani*. **Journal of Phytopathology**, v. 159, p. 45-50, 2011.

GOMES. V. M. Declínio da goiabeira (*Psidium guajava* L.): etiologia e caracterização da sua patogênese. **Tese**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes (RJ). 111 p. 2012.

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.

HOITINK, H. A. J.; MADDEN, L.V.; DORRANCE, A. E. Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agente, and soil onrgnic matter quality. **Phytopathology**, v95, p. 186-189, 2006.

- HUSAIN, K.; ANSARI, R. A. L. Ferder, Pharmacological agents in the prophylaxis/ treatment of organophosphorous pesticide intoxication,. J. Exp. Biol. 48 642–650, 2010.
- HUSSEY, R. S. Host-parasite relationships and associated physiological changes in: SASSER, J.N.; CARTER. An advances treatise on Meloidogyne, Biological and Control, vol. 1, pag. 143-153, 1985.
- HUYNH, H.; FELDT, L. S. Conditions under which mean square ratios in repeated measurements designs have exact F-distributions. Journal of the American Statistical Association, Boston, v.65, n. 322, p 1582-1589, 1979.
- INCAPER. Programa de assistência técnica e extensão rural Proater - São Roque do Canaã. Documentos Institucionais, São Roque do Canaã, Incaper, 2013, 25p.
- JANSSON, H. B.; TUNLID, A.; NORDBRING-HERTZ, B. Biological control: Nematodes. In: ANKE, T. Ed. Fungal Biotechnology. Weinheim: Chapman and Hall, p. 38-50, 1997.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal – flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.
- KEARN, J.; LUDLOW, E.; DILLON.; O’CONNOR V.; HOLDEN-DYE, L. Fluensulfone is a nematicide with a mode of action distinct from anticholinesterases and macrocyclic lactones. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, p. 44–57 janeiro de 2014.
- KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal cyst-nematode, *Heterodera avenae* under continuous cereals, 1975-1978. II. Fungal parasitism of nematode females and eggs. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.100, p.489-499, 1982.
- LIMA, I. M.; MARTINS, M. V. V.; SERRANO, L. A. L.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira cv. 'Paluma' no estado do Espírito Santo. Resumo. In: XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2007, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, p. 96-97, 2007.
- LORITO, M.; WOO, S. L. *Trichoderma*: a multi-purpose tool for integrated pest management. **Principles of Plant-Microbe Interactions**, p.345-353, 2015.

- MARCUZZO, K. V. et al. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *M. exigua* em cafeeiro no município de Indianópolis, Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 105, 2000.
- MAUCHLY, J. W. Significance Test for Sphericity of a Normal n-Variate Distribution. **Anais...** 11 (2): 204209. 1940
- MIRANDA, G. M.; SOUZA, R. M.; GOMES, V. M.; FERREIRA, T. F.; ALMEIDA, A. M. Avaliação de acessos de *Psidium* spp. quanto à resistência a *Meloidogyne enterolobii*. **Bragantia**, v. 71, n. 1, p.52-58, 2012
- MITKOWSKI, N. A.; ABAWI G.S. Root-knot nematodes. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-I-2003-0917-01, 2013.
- MOURA, R. L. Avaliação da qualidade físico - química em doces cremosos de goiaba comercializados em limoeiro do norte - CE. **Revista Verde**, v. 9, n. 3, p. 303 – 306, 2014.
- MOYSÈS, F. Localização estratégica do ES atrai empresas e investimentos. 2006. Disponível em: <http://www.eshoje.com.br/arquivo/07/21_localizacao.htm>. Acesso em: 24 de novembro 2015.
- NOVARETTI, W.R.T.; SILVA, F.M.L.; FUDO, C.H.; BENETTI, E. Eficiência do fluensulfone no controle de *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar. **Anais...** XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 99, 2015.
- OTOBONI, C. E. M. Eficiência do controle de nematoides, ferrugem e bicho mineiro em cafeeiros. **Tese**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal. 2003.
- PHILLION, D. P.; RUMINSKI, P.G. YALAMANCHILI G. Fluoroalkenyl compounds and their use as pest control agents. 968-916, USA, 1999.
- PIMENTEL-GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. 15. Ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.
- PODESTÁ, G. S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; ZOOCA, R.J.F. Atividade nematófaga de *Pochonia chlamydosporia* em solo natural ou autoclavado sobre *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, 33: 191-193. 2009.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2009, ISBN 3-900051-07- 0. Disponível em: <http://www.R-project.org>.

RAO, M. S.; GOWEN, S. R. Bio management of *Meloidogyne incognita* on tomato by integrating *Glomus deserticola* and *Pasteuria penetrans*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 105(1):49-52, 1998.

SEBER, G. A. F.; WILD, C. J. Nonlinear regression. New York: JohnWiley, 2003.

SERRANO L. A. L.; MARINHO C. S.; RONCHI C. P.; LIMA I. M., MARTINS M. V. V.; TARDIN F. D.. Goiabeira 'Paluma' sob diferentes sistemas de cultivo, épocas e intensidades de poda de frutificação. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.42, n.6, p.785-792, jun. 2007.

SHARMA, R. D.; VIVALDI, L. J. Control of *Meloidogyne javanica* by *Pasteuria penetrans*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(11):2065-2069,1999.

SIDDIQUI, M.A.; EHTESHAMUL-HAQUE, S.; GHAFAR, A. Use of *Pseudomonas aeruginosa* and fungal antagonists in the control of root-knot rot disease complex on mungbean and mashbean. **Pakistan Journal of Nematology**, v.17, p.155-167. 1999.

SILVA G. S., KRASUSKI A. I. Reação de algumas espécies frutíferas tropicais a *Meloidogyne enterolobii*. **Nematologia Brasileira**, São Luís (MA) Brasil novembro, 83-86, 2012.

SILVA, F. M. L.; BENETTI, E. Fluensulfone efficiency in control of *Tylenchulus semipenetrans* in citrus. **Anais... XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia**, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 44, 2015.

SOUSA, A. D.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; REGO, T. J. S.; FARIAS, L. M. O.; CASTRO, J. M. C., Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeiras no município de Picos (PI). **Nematologia Brasileira**, Picos, PI, Brasil. Vol. 36 n. 3/4 pp. 87-89 2012.

SOUSA, R. M.; NOGUEIRA, M. S.; LIMA, I. M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C. M. Manejo de nematoides-das-galhas da goiabeira em São João da

Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v.30, p.165-169, 2006.

SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. **Integrated Pest Management Reviews**, v.3, p.169 -175, 1998.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant-parasitic nematodes**. 2 edition, 551p. 2014.

STIRLING, G.R. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and perspectives. Wallingford: CAB International. 282p. 1991.

STOLF, E. C. Efeito de fungos endofíticos sobre o desenvolvimento de nematoides da bananeira (*Musa* spp.). Florianópolis, 2006. Disponível em: <<http://www.cca.ufsc.br/Projetos/Elaine20Cristina20Stolf202005-2.pdf>>.

TAKACHI, M. T.; BOSS, A. L.; CARDOSO, V. H. P.; BENETTI, E.; GIRALDI J. B.; SANTIAGO, D. C.; ALMEIDA, A. A. Efficiency of new nematicide fluensulfone in control of *Pratylenchus zae* in ratoon cane. **Anais...** XXXII Congresso Brasileiro de Nematologia, Sociedade de nematologia brasileira Londrina Paraná, p. 98, 2015.

URBEN, A.F., et al., Embrapa recursos genéticos e biotecnologia. Brasília-DF: Embrapa informação tecnológica, 2009.

VIGGIANO, J. R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. **Biological Control**, v.69, p.72-77, 2014.

Y. OKA, S. SHUKER, N. TKACHI, Nematicidal efficacy of MCW-2, a new nematicide of the fluoroalkenyl group, against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, *Pest. Manag. Sci.* 65 1082–1089, 2009.

Y. OKA; SHUKER S.; TKACHI N. Systemic nematicidal activity of fluensulfone against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on pepper, *Pest. Manag. Sci.* 68, 268–275, 2011.

ZIMMERMANN, F. J. P. Estatística aplicada à pesquisa agrícola. 2. Ed. Brasília: EMBRAPA, 2014.

ZINGER F. D. Estratégias de manejo de *Meloidogyne incognita* raça 1 em cafeeiro conilon. p. 66, 2015. **Tese** - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre (ES), 2015.