

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

**POTENCIAL DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE BAGAÇO DE UVA DE
VINHO NO CONTROLE DE *Meloidogyne enterolobii***

SAMUEL VICTOR CAMPOS DE SIQUEIRA

**PETROLINA, PE
2016**

Samuel Victor Campos de Siqueira

**POTENCIAL DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE BAGAÇO DE UVA DE
VINHO NO CONTROLE DE *Meloidogyne enterolobii***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE *Campus*
Petrolina Zona Rural, exigido para a
obtenção de título de Engenheiro Agrônomo.

**PETROLINA, PE
2016**

SAMUEL VICTOR CAMPOS DE SIQUEIRA

**POTENCIAL DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE BAGAÇO DE UVA DE
VINHO NO CONTROLE DE *Meloidogyne enterolobii***

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado ao IF
SERTÃO-PE *Campus* Petrolina Zona Rural, exigido
para a obtenção de título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovada em: 04 de abril de 2016.

Professor (Membro da banca examinadora)
Julio César Sobreira Ferreira

Pesquisador (Membro da banca examinadora)
José Mauro da Cunha e Castro

Professor (Orientador)
Silver Jonas Alves Farfan

RESUMO

As espécies de *Meloidogyne* estão entre os mais importantes fitonematoides. São patogênicas a várias plantas de importância econômica e podem causar perdas em até 100% da produção. O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo e, também, o terceiro em mortalidade causada por câncer. A utilização de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos fitopatogênicos pode vir a ser uma opção no controle de doenças no campo. Alguns destes produtos têm mostrado boa atividade nematicida. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito nematicida de extratos etanólicos de bagaço de uva de vinho sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne enterolobii*. As análises fitonematológicas e o preparo de extratos vegetais foram conduzidos no Laboratório de Nematologia da Embrapa Semiárido. Para o experimento, a extração de nematoides de amostras de raízes foi feita pelo método do peneiramento seguido do funil de Baermann. A contagem dos nematoides foi feita ao microscópio estereoscópico. As avaliações foram feitas com uma suspensão de 20 µL, contendo 60 nematoides por orifício na placa de ELISA. O experimento foi disposto em esquema fatorial 3 x 4 (três tipos de extratos etanólicos de bagaço de uva de vinho – semente, casca e engaço – vs quatro concentrações: 5 ppm, 50 ppm, 500 ppm e 5000 ppm) em delineamento experimental inteiramente ao acaso com quatro repetições. As avaliações foram feitas por quantificação de número de nematoides mortos (efeito nematicida). Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste F a 5% de probabilidade. O extrato etanólico de casca de uva de vinho se mostrou superior aos demais extratos nos fatores isolados, e a concentração de 5000 ppm nos fatores isolados se mostrou significativamente superior às demais, tendo um bom potencial nematicida. Na interação, nas concentrações de 5 ppm e 50 ppm, não houve diferença significativa entre os extratos. Na concentração de 500 ppm, o extrato da casca se mostrou superior aos outros. Já a 5000 ppm, os extratos da casca e da semente se mostraram iguais, estatisticamente, tendo sido superiores ao extrato do engaço.

Palavras-chave: Manejo em fruticultura, Resíduos de videira, nematoide-das-galhas.

Dedico a Deus por me abençoar e iluminar os meus caminhos, à minha mãe por ser o meu alicerce, e à minha esposa por seu amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por cumprir a promessa de que eu conseguiria chegar até aqui, por ter me abençoado para que isso fosse possível, pela esperança e amor que sempre foram alimentados pela minha fé no Senhor.

À minha mãe, Fátima Campos de Siqueira, pelo amor incondicional, por seu apoio incansável, por sempre se preocupar comigo, enfim por ser o meu alicerce.

Ao meu pai, Daniel Campos de Siqueira, pelo amor, apoio, por me orientar e dar forças nos momentos de grandes dificuldades.

À minha avó, Maria do Socorro Campos de Siqueira, por seu amor, por ter orado tanto por mim, pedindo para que esse dia chegasse e ela pudesse estar aqui para ver.

À minha esposa, Michelle Alves do Vale Campos de Siqueira, pelo amor e apoio, por me entender nos momentos mais difíceis, por orar por mim, e por comemorar comigo cada vitória.

Ao meu orientador, Silver Jonas Alves Farfan, pela amizade, pela confiança em mim depositada na minha trajetória do curso de Bacharelado em Agronomia, no Estágio Curricular e no presente Trabalho de Conclusão de Curso, pelo apoio no CVT-Agroecologia do IF Sertão-PE.

Ao meu orientador de pesquisa, Júlio César Sobreira Ferreira, pelos conselhos, ensinamentos, amizade e confiança, por ter me ensinado sobre a Estatística Experimental a qual será muito importante na minha carreira acadêmica que pretendo seguir.

Ao meu orientador, na fase inicial deste trabalho, Erbs Cintra de Souza Gomes, pelo apoio e confiança, por ter me ensinado sobre Fisiologia Vegetal e sobre a importância dos Extratos Vegetais, por ter sido o meu primeiro orientador de Projeto de pesquisa.

Ao meu orientador na Embrapa Semiárido, José Mauro da Cunha e Castro, por ter me ensinado sobre a Fitonematologia, sobre os principais métodos de campo e de laboratório, pela vivência em visitas técnicas às áreas de produtores, por sua confiança e amizade, pelos conselhos que levarei, como exemplo, no seguimento da minha carreira acadêmica.

À Embrapa Semiárido, CNPq e CVT-Agroecologia, pelo financiamento e apoio na pesquisa.

Ao professor Vitor Prates e ao Laboratório de Química do IF Sertão-PE, pelo apoio na produção dos extratos etanólicos.

À professora Cristiane Lima por sua atenção ao me ajudar a resolver problemas não esperados no experimento.

À Eliatania Clementino Costa por sua ajuda e atenção, com relação à metodologia da produção de extratos etanólicos.

Aos meus amigos, em especial Aline Finotti Torris e Thiago Ferreira da Nóbrega, pela parceria na construção do conhecimento no decorrer da graduação, pelo apoio na minha defesa de trabalho de conclusão de curso, e principalmente pela amizade. Enfim, obrigado a todos que me ajudaram de alguma forma.

E crescia Samuel, e Deus era com ele, e nenhuma de todas as suas palavras deixou cair em terra (1 Samuel 3:19).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1: Método do funil de Baermann.	21
Figura 2: Extratos etanólicos de bagaço de uva de vinho.	22
Figura 3: Vista do experimento instalado em placa de ELISA.	23

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Normalidade dos dados (alfa = 5%)	24
Tabela 2. Quadro de análise da variância- ANOVA.....	25
Tabela 3. Efeito do extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho sobre J2 de <i>M. enterolobii</i> – Dados transformados.	25
Tabela 4. Efeito da concentração de extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho sobre J2 de <i>M. enterolobii</i> – Dados transformados.....	25
Tabela 5. Médias de interação entre os extratos etanólicos de semente, casca e engaço de uva de vinho e as concentrações de 5, 50, 500 e 5000 ppm – Dados transformados.	26
Tabela 6. Porcentagem de mortalidade de J2 de <i>M. enterolobii</i> para o fator extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho – Dados retransformados..	27
Tabela 7. Porcentagem de mortalidade de J2 de <i>M. enterolobii</i> para o fator concentração de extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho em ppm – Dados retransformados	27
Tabela 8. Médias de interação entre os extratos etanólicos de semente, casca e engaço de uva de vinho e as concentrações de 5, 50, 500 e 5000 ppm – Dados retransformados.	28

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 MÉTODO DE BAERMANN	17
2.2 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	18
3 OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo Geral	19
3.2 Objetivos Específicos	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

As espécies de *Meloidogyne* estão entre os mais importantes fitonematoides. São patogênicas a várias plantas de importância econômica e podem causar perdas em até 100% da produção. As perdas causadas por esse nematoide em cinco estados brasileiros é da ordem de R\$ 112,7 milhões (PEREIRA et al., 2009). *Meloidogyne enterolobii* foi identificado pela primeira vez no Brasil em 2001, nos municípios de Petrolina-PE, Curaçá e Maniçoba-BA, causando transtornos aos pequenos e médios produtores (CARNEIRO et al., 2001), sendo em seguida, encontrado em outras áreas do Submédio do Vale do São Francisco (MOREIRA et al., 2003). Segundo Carneiro et al. (2001) os sintomas primários são as galhas, em grande quantidade, formadas no sistema radicular e necroses associadas, conseqüentemente ocorrendo a diminuição das raízes finas. Os sintomas secundários são bronzeamentos na borda das folhas, seguidas de um amarelecimento, ocasionando o desfolhamento total da parte aérea, que antecede a morte da planta.

O Brasil é o maior mercado consumidor de agrotóxicos do mundo, incluindo os nematicidas (LONDRES, 2015; CASALII et al., 2015), e também, o terceiro em mortalidade causada por câncer. Sabe-se que existe correlação entre o aumento da incidência de câncer e o uso de agrotóxicos na agricultura (ASSAD, 2012). O uso de produtos derivados da indústria química no controle de doenças na agricultura moderna tem sido amplamente questionado pela sociedade, em decorrência dos efeitos adversos causados por estes (KOEPPF, 1986; PAULA JÚNIOR. et al., 2005). Dentre estes efeitos, é possível enumerar a poluição da água e do ar, a contaminação de alimentos, o aumento da resistência de patógenos aos produtos e os seus efeitos sobre as plantas, os animais e o homem (SOUZA, 1998).

Em decorrência dos malefícios que os pesticidas vêm causando ao homem e à natureza, torna-se imprescindível buscar medidas alternativas de controle de pragas e doenças, com o uso de produtos naturais, eficientes e de baixo impacto ambiental. A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas pode constituir, ao lado da indução da resistência, em uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas (DIAS, 1993).

O uso de extratos vegetais e óleos essenciais tem sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (HERNANDEZ et al., 1998; OWOLADE et al., 2000; SOUZA et al., 2002; MORAIS, 2004).

A utilização de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos fitopatogênicos pode vir a ser uma opção no controle de doenças no campo (COUTINHO et al., 1999). Tais compostos são encontrados em um grande número de famílias botânicas, com muitos deles apresentando atividade antimicrobiana, como é o caso dos alcaloides. Algumas espécies estudadas a este respeito são: *Baccharis trimera*, *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *C. martinii*, *Ocimum gratissimum* (SCHWAM-ESTRADA et al., 2000). Outra planta que vem apresentando resultados interessantes na defesa de plantas é o nim (*Azadirachta indica*). Nativo da Índia, vem sendo muito utilizado em diversos países do mundo. Muitas formulações de pesticidas à base de nim têm sido desenvolvidas nos Estados Unidos, na Índia e em outros países, principalmente para uso como inseticidas. Alguns destes produtos têm mostrado boa atividade nematicida. O efeito do nim contra nematoides, provavelmente, seja devido à presença de várias substâncias químicas, tais como azadirachtina, nimbin, salanim, nimbidin, kaempferol, thionemone, quercetin e outros.

Segundo Anjo (2004), as antocianidinas são flavanoides solúveis em água e são consideradas antioxidantes, podendo apresentar propriedade antioxidante e antimutagênica. Catequinas, flavanoides, antocianinas e ácidos fenólicos estão presentes no vinho e apresentam ação antioxidante. Os compostos fenólicos da uva de vinho originam-se de uma das principais classes de metabólitos secundários e são essenciais para o crescimento e reprodução das plantas, além do efeito contra patógenos. Ainda sobre esses compostos, são componentes importantes nos vinhos, contribuindo para as características sensoriais como cor, sabor, adstringência e dureza do vinho, por ação direta ou por interação com proteínas,

polissacarídeos ou outros compostos fenólicos. Também, são considerados importantes para a higiene do vinho, por sua ação bactericida, e para o envelhecimento da bebida. Se as substâncias presentes na composição da uva de vinho têm essas características de combater patógenos e ter ação bactericida, isso explica o seu potencial nematicida no experimento, verificado, principalmente, no extrato etanólico da casca de uva de vinho.

Neste contexto, o trabalho objetivou estudar o efeito nematicida de extratos vegetais obtidos de diferentes partes da videira de vinho (*Vitis vinifera*) sobre a mortalidade de J2 de *M. enterolobii*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial, obtidos de plantas e sais inorgânicos, têm indicado o potencial dos mesmos no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela proteção das mesmas por meio de barreiras protetoras formadas pela deposição destes produtos sobre as partes das plantas, impedindo a penetração do patógeno. Além disso, nos últimos anos, algumas estratégias, como o controle biológico, vêm se tornando importantes opções no combate a diversos fitopatógenos associados a culturas de importância econômica (MENEZES, 2006).

Apesar de estas estratégias serem utilizadas há muito tempo, pesquisas nessa área são extremamente importantes e necessárias à medida que cresce a restrição ao controle químico devido aos potenciais problemas à saúde pública. Além disso, no caso de oídios, fungos que facilmente desenvolvem resistência a fungicidas, outros métodos podem ser utilizados visando minimizar esse problema (STADNIK & RIVERA, 2001).

Um método para o controle de nematoides, bastante estudado atualmente, é a incorporação de matéria orgânica ao solo, que pode atuar alterando a composição da sua microbiota e, ou produzindo gases letais a patógeno (STAPLETON, 2000). O efeito anti-helmíntico da semente de mamoeiro [*Carica papaya* (Caricaceae)] tem sido comprovado em testes in vitro e em animais (KRISHNAKUMARI & MAJUMDER, 1960; DAR et al., 1965; LAL et al., 1976). Essas sementes contêm glicosinolatos que dão origem a isotiocianatos (DAR et al., 1965; MAYTON et al., 1996; KERMANSHAI et al., 2001). Neves et al. (2005a) estudaram a atividade de extrato aquoso de sementes de mamão sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica* e de *M. incognita*,

em testes realizados in vitro, e constatarem redução na eclosão de *M. javanica* em 95,3% e de *M. incognita* em 99,3%. Em outro trabalho, Neves et al. (2005b) também estudaram o efeito nematostático e nematicida de sementes de mamão sobre *M. javanica* e *M. incognita* e relataram que houve 100% de eficiência na morte de juvenis de ambas as espécies do nematoide, demonstrando que os compostos presentes nessa semente podem ser eficiente opção de controle desses organismos.

O controle de várias espécies desses nematoides pode ser obtido pela incorporação ao solo de resíduos vegetais, como mucuna-preta, casca de uva, pó de semente de mamão e torta de nim (NICO et al., 2004; LOPES et al., 2005; COSMIS et al., 2007; LOPES et al., 2008).

O manejo de nematoides é muito complexo, pois, uma vez presente em uma área de cultivo, a erradicação é praticamente impossível. Entretanto, após a sua introdução na área, devem ser utilizados métodos de controle, levando à redução das populações a níveis toleráveis (CAMPOS et al., 1998).

Dentre as diversas táticas de manejo de nematoides, encontra-se o uso de nematicidas que, além de aumentarem os custos de produção, apresentam riscos ao homem e ao meio ambiente (CAMPOS et al., 1998). Por essas razões, outros métodos de controle têm sido estudados, a exemplo do uso de extratos de diferentes espécies e partes de plantas com propriedades nematicidas (FERRIS & ZHENG, 1999; NEVES et al., 2005c). A aplicação de extratos naturais pode representar a substituição de produtos químicos convencionais e tornar-se uma medida alternativa de controle de nematoides, viável para pequenas áreas (SCRAMIN et al., 1987).

Outra característica interessante no uso de extratos botânicos é que existem diferentes técnicas de aplicação destes extratos. As aplicações de extratos via solo e via foliar estão dentre elas. Estudos da aplicação destes extratos via solo têm apresentado bons resultados no controle de fitonematoides, todavia, a aplicação de tais extratos, principalmente na forma de pulverização sobre a parte aérea, vem sendo pouco estudada para o controle destes patógenos (GARDIANO et al., 2008). Algumas plantas são mais comumente estudadas como matérias-primas para o preparo de extratos ou para a extração de óleos essenciais com propriedades nematicidas como é o caso de *Mucuna prurienses* L. (mucuna); *Tagetes* spp. (cravo-de-defunto); *Crotalaria* spp.; *Azadirachta indica* A. Juss. (nim); algumas gramíneas;

Ricinus communis L. (mamona); brássicas; plantas medicinais e aromáticas (FERRAZ et al., 2010).

Em função destes fatores, a procura por produtos alternativos que sirvam como defensivos, e que ocasionem menos danos ao ambiente, sejam estes químicos, biológicos, orgânicos ou naturais, vem crescendo devido às seguintes características: baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, eficiência no combate aos insetos e aos micro-organismos nocivos, não favorecendo a ocorrência de formas de resistência em pragas e patógenos, custo reduzido para aquisição e emprego, simplicidade quanto ao manejo e aplicação e a alta disponibilidade para aquisição.

O aumento da contaminação do ambiente pelos pesticidas utilizados na agricultura causa problemas tais como a redução da biodiversidade, alterações na ciclagem de matéria orgânica e dos nutrientes, no controle biológico natural de doenças e de pragas, nas atividades microbianas no solo, na seleção de organismos resistentes aos pesticidas e alterações das populações de organismos do solo e água, entre outros. Assim, é necessária a busca por métodos alternativos para a proteção de plantas sem o uso de pesticidas (BETTIOL et al., 1997; BETTIOL et al., 2005).

Como opção ao uso de agrotóxicos, têm sido pesquisados produtos naturais, como extratos hidro-alcoólicos e óleos essenciais de origem vegetal (SOUZA et al., 2007), que podem apresentar propriedades antimicrobianas capazes de controlar a microflora associada às sementes (MORAIS et al., 2001). Várias plantas apresentam propriedades antifúngicas em seus extratos. Essas propriedades dependem de uma série de fatores inerentes às plantas, como órgãos utilizados, idade e estágio vegetativo. A eficiência do produto também depende da espécie envolvida, do tipo de doença a ser controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato (SILVA et al., 2005). As plantas, por suas propriedades terapêuticas ou tóxicas, adquiriram fundamental importância na medicina popular. A flora brasileira é riquíssima em exemplares que são utilizados pela população como plantas medicinais, com atividade farmacológica sobre animais e o homem. As plantas medicinais sempre foram objeto de estudo na tentativa de descobrir novas fontes para obtenção de princípios ativos (SOSSAE, 2002).

Considerando que a flora brasileira possui inúmeras espécies de plantas nativas, fazem-se necessárias novas pesquisas para verificar o potencial destas plantas para serem utilizadas no controle de fitopatógenos.

O difícil controle de nematoides em campo, mesmo com a aplicação de moléculas químicas, as quais são de custo elevado e danosas ao meio ambiente, enfatiza a necessidade do estudo de outros métodos de controle, os quais contribuam para a preservação do ambiente (HALBRENDT & LAMONDIA, 2004). Um exemplo disso é a manipueira, um resíduo líquido, de aspecto leitoso e de cor amarelo-claro, obtido da prensagem de raízes de mandioca para a produção de fécula ou farinha (PONTE, 2001). A quantidade de manipueira gerada pelas indústrias de beneficiamento da mandioca equivale a um volume mínimo de 250 L por tonelada de raiz processada (FERREIRA et al., 2001). As características químicas e orgânicas da manipueira possibilitam sua utilização na agricultura para diferentes fins (PONTE & FRANCO, 1981; PONTE et al., 1987; VIEITES & BRINHOLI, 1995). Em sua composição, são encontrados macro e micronutrientes, além de glicosídeos cianogênicos, principalmente linamarina, que quando hidrolisada libera o gás cianeto, tóxico às mais variadas formas de vida, incluindo os nematoides (FIORETTO, 1994; MAGALHÃES et al., 2000; PONTE, 2001).

Portanto, torna-se necessário estudar mais e avaliar o efeito de novos extratos vegetais como alternativa no controle de fitonematoides.

2.1 MÉTODO DE BAERMANN

A técnica, segundo Baermann (1917), consiste basicamente em um funil cônico de vidro ou plástico, com tubo de borracha ligado ao pé do funil e preso na extremidade com uma presilha (pinça de Mohr), um suporte de malha de aço inox ou tela plástica de coador de chá dentro do topo do funil, um lenço de papel facial que é colocado sobre a tela para reter a amostra (raiz). Para encher os funis, é usada água de torneira. A amostra, segundo o autor, deve ser cuidadosamente misturada, visando a homogeneidade da mesma, e despejada sobre o papel facial, que já está na tela plástica. O conjunto, assim instalado, deve ser mantido por 24 a 48 horas, após o que deve-se coletar uma alíquota da água do funil por meio da abertura da presilha. O funil de Baermann pode ser usado para extrair nematoides de tecidos

vegetais (raiz, por exemplo). É comum a sua utilização após o método do peneiramento, mas, por este método de extração, somente nematoides ativos e móveis podem ser recuperados porque, com o movimento, os nematoides passam pelos orifícios do papel facial e tela plástica, entram em contato com a água do funil e, devido à maior densidade dos nematoides que a da água, por gravidade eles se sedimentam no fundo do funil, podendo ser recolhidos.

2.2 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

É um método utilizado para realizar o teste imunoenzimático que se baseia na interação antígeno-anticorpo (CAI et al., 2014). Normalmente é usada uma placa de superfície inerte com poços onde serão adsorvidos os antígenos de interesse. Entre as doenças passíveis de diagnóstico pelo teste, estão várias doenças infecciosas, uma vez que a maioria dos agentes patológicos desencadeia a produção de imunoglobulinas. Também pode ser usado no diagnóstico de doenças autoimunes ou alergias. O teste ELISA também pode ser utilizado de diversas outras formas. Utilizando-se de um método semelhante ao método de radioimunoensaio, pode-se transformar muitas outras substâncias em antígeno e obter um anticorpo do mesmo. Assim, é possível utilizar o teste para se detectar outras substâncias de interesse como, por exemplo, hormônios.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de extratos vegetais obtidos de diferentes partes da videira de vinho no controle de *M. enterolobii*.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o tipo de produto (extrato etanólico de semente de uva de vinho, extrato etanólico de casca de uva de vinho e extrato etanólico de engaço de uva de vinho) e identificar a melhor concentração para causar a mortalidade J2 de *M. enterolobii*;
- Produzir conhecimentos técnico-científicos sobre o uso de extratos vegetais e o seu potencial de controle da meloidoginose;
- Contribuir para a formação de novos profissionais na área de Fitonematologia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento, análises e extração de ovos e de J2 a partir das raízes de goiabeira foram conduzidos no Laboratório de Fitonematologia da Embrapa Semiárido - CPATSA, Petrolina, PE. O material vegetal (fonte de inóculo de *M. enterolobii*) foi coletado em área de produção de Goiabeiras nos perímetros irrigados de Petrolina-PE. Os Extratos vegetais foram produzidos no Laboratório de Química do IF SERTÃO-PE, *Campus* Petrolina Zona Rural.

A extração de nematoides de amostras de raízes foi feita pelo método de Hussey & Barker (1973). As raízes foram cortadas e trituradas em liquidificador, em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 20 a 30 segundos, com menor velocidade para liberação dos ovos, conforme procedimento descrito. O sobrenadante foi despejado em um conjunto de peneira de 200 mesh sobre outra de 500 mesh, com a retenção dos ovos na peneira de menor abertura. O excesso de hipoclorito foi eliminado com água de torneira e, o conteúdo retido na peneira de 500 mesh (aproximadamente 20 mL) foi recolhido em um béquer e em seguida colocado em um tubo plástico identificado, centrifugando-se por 5 min a 1750 rpm. Logo após, o sobrenadante foi descartado, adicionando-se sacarose (454 g de açúcar em 1000 mL de água) com uma nova centrifugação por 1 min a 1750 rpm. A sacarose foi descartada na peneira de 500 mesh, retirando-se o excesso em água corrente. Os ovos retidos na peneira foram recolhidos em um béquer, para posterior instalação do método do funil de Baermann (1917) descrito no referencial teórico do presente trabalho, a fim de se obter os J2 de *M. enterolobii* (Figura 1).



Figura 1: Método do funil de Baermann.

O teste *in vitro* obedeceu a um esquema fatorial 3 x 4 (três tipos de extratos etanólicos de bagaço de uva de vinho – semente, casca e engaço – vs quatro concentrações: 5 ppm, 50 ppm, 500 ppm e 5000 ppm) num delineamento experimental inteiramente ao acaso com quatro repetições. Para a obtenção dos extratos etanólicos, as sementes, cascas e engaços de uva de vinho (*Vitis vinifera*) foram coletados em área de produção de uva de vinho em Petrolina-PE, e

submetidos à secagem em estufa com circulação de ar a 50 °C por 24 horas. Após a retirada da umidade, o material foi pulverizado em moinho mecânico no Laboratório de Solos do IF Sertão-PE, *Campus Petrolina Zona Rural*, obtendo-se 60 g de cada material (semente, casca e engaço). O material seco e pulverizado foi macerado à temperatura ambiente com álcool etílico a 99% em recipiente de vidro, sendo realizadas três extrações a intervalos de 72 horas, no Laboratório de Química do IF Sertão-PE, *Campus Petrolina Zona Rural*. A solução extrativa foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura de aproximadamente 50°C, obtendo-se 20 g de extrato etanólico bruto (EEB) de cada produto (Figura 2) (SIMÕES et.al., 2010).

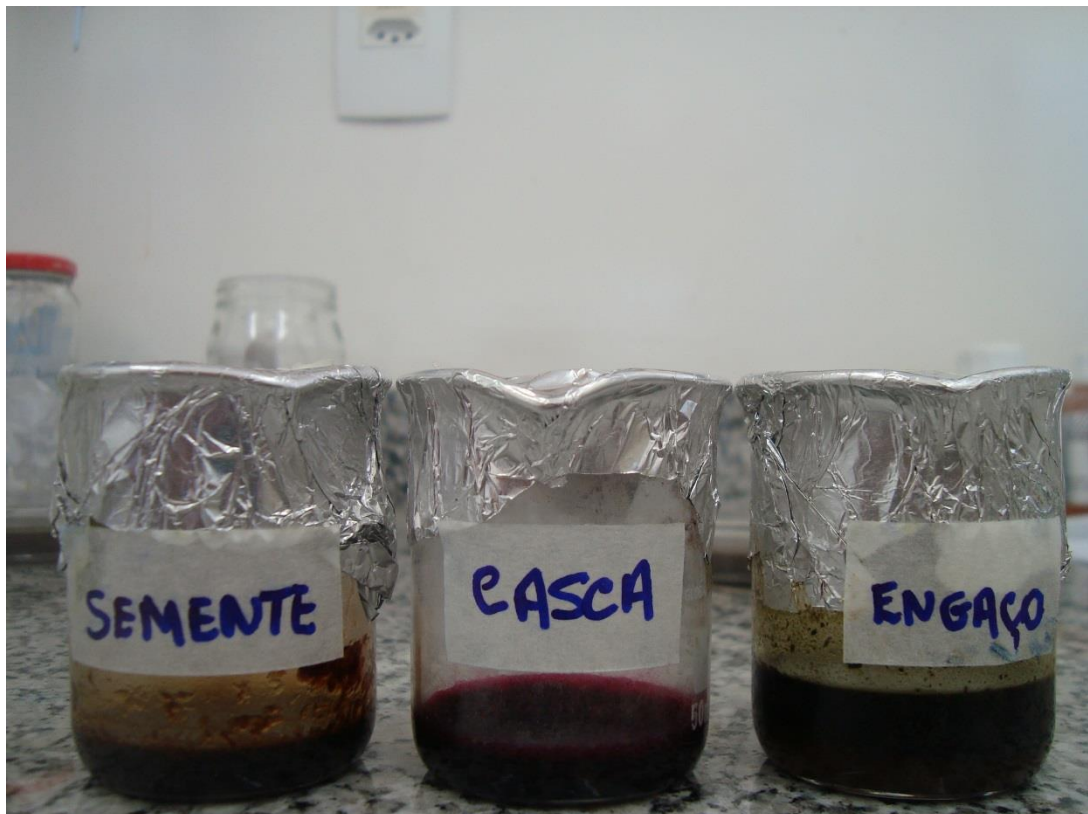


Figura 2: Extratos etanólicos de bagaço de uva de vinho.

A partir disso, foi realizada a diluição das concentrações por meio da fórmula $C1.V1 = C2.V2$ (Concentração x volume), sendo: C1 e V1, respectivamente, a concentração e o volume da amostra inicial, e C2 e V2, respectivamente, a concentração e o volume da amostra final. A partir disso, fez-se a calibragem de 20

μL de água contendo 60 J2 de *M. enterolobii*, aplicando-se, em seguida, 280 μL dos extratos etanólicos para cada orifício na placa de ELISA (Figura 3).

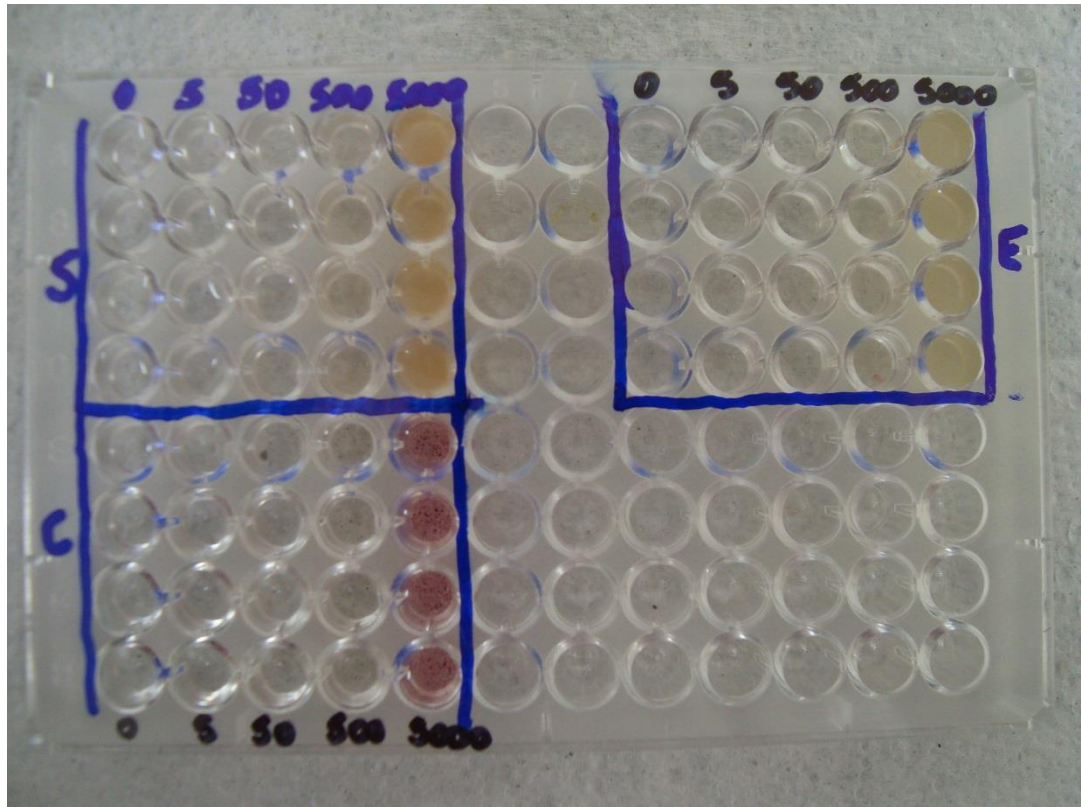


Figura 3: Vista do experimento instalado em placa de ELISA.

Após 24 horas, foi feita a avaliação do efeito nematicida dos diferentes tipos de extratos etanólicos de uva de vinho sobre os J2. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste F ao nível de 1% de probabilidade e suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo utilizado o software estatístico ASSISTAT.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente experimento, a testemunha (0%) foi omitida na análise estatística, devido ao fato de não ter havido variância, ocasionando assim a não normalidade dos dados estatísticos, pois todos os resultados foram 0,00, por não ter ocorrido morte de nematoides pela aplicação de água. Após isso, a normalidade dos dados ocorreu. A fim de atender a hipótese da normalidade, tornando-se possível a análise da variância, foi realizada a transformação dos dados por meio da equação $\sqrt{x + 1}$, (Tabela 1), em que:

x = Porcentagem de nematoides mortos

1 = constante utilizada, devido à ocorrência de valores iguais 0 nos dados coletados.

Tabela 1. Normalidade dos dados (alfa = 5%)

Teste (Estatística)	Valor	p-valor	Normal
Shapiro-Wilk (W)	0,95415	0,05863	Sim

De acordo com o teste F a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), foi verificada a existência de significância na interação entre as concentrações (ppm) e os compostos analisados, indicando a existência de dependência entre os fatores. É possível também perceber a significância dos fatores isolados, tanto nas concentrações quanto de nos extratos etanólicos de bagaço de uva de vinho em suas três partes analisadas (Tabela 2).

Tabela 2. Quadro de análise da variância- ANOVA.

FV	GL	SQ	QM	F
Extratos	2	17,49063	8,74531	17,8236**
Concentrações	3	30,76282	10,25427	20,8989**
Int. ExtratosXConcentrações	6	22,76777	3,79463	7,7337**
Tratamentos	11	71,02122	6,45647	13,1587**
Resíduo	36	17,66378	0,49066	--
Total	47	88,68500		

**significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade, considerando a análise dos fatores isolados, o extrato da casca mostrou-se significativamente superior em causar a mortalidade *M. enterolobii*, em comparação ao extrato da semente e do engaço, que se mostraram estatisticamente iguais entre si (Tabela 3). Para as concentrações isoladas, a dosagem de 5000 ppm se mostrou com potencial nematicida significativamente superior às demais concentrações no controle do nematoide, sendo que as concentrações de 500 ppm e 50 ppm e 5 ppm não diferiram estatisticamente (Tabela 4).

Tabela 3. Efeito do extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho sobre J2 de *M. enterolobii* – Dados transformados.

Semente	2,99625 b
Casca	4,00500 a
Engaço	2,56438 b

dms = 0,60474

Tabela 4. Efeito da concentração de extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho sobre J2 de *M. enterolobii* – Dados transformados.

5 ppm	2,21750 c
50 ppm	2,91417 bc
500 ppm	3,19083 b
5000 ppm	4,43167 a

dms = 0,76974

Porém, como no experimento fatorial o objetivo principal é analisar as interações dos fatores entre si, foi possível concluir o comportamento das concentrações em cada extrato pelo teste de Tukey.

Nas concentrações de 5 ppm e de 50 ppm, todos os extratos se mostraram iguais significativamente em causar a mortalidade de *M. enterolobii*. Quando a concentração é aumentada para 500 ppm dos extratos analisados, o extrato da casca se mostra mais eficaz significativamente em comparação aos demais extratos. A 5000 ppm, tanto os extratos da casca quanto da semente se mostraram semelhantes quanto à mortalidade dos J2 em comparação ao extrato de engaço (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de interação entre os extratos etanólicos de semente, casca e engaço de uva de vinho e as concentrações de 5, 50, 500 e 5000 ppm – Dados transformados.

Extratos	Concentrações (ppm)			
	5	50	500	5000
Semente	2,0675 aB	2,4200 aB	2,9175 bB	4,5800 aA
Casca	2,4775 aB	2,8775 aB	5,1375 aA	5,5275 aA
Engaço	2,1075 aBC	3,4450 aA	1,5175 cC	3,1875 bAB

dms para colunas = 1,2095 dms para linhas = 1,3332

CLASSIFIC.C/LETRAS MINÚSCULAS (COLUNAS) CLASSIFIC.C/LETRAS
MAIÚSCULAS (LINHAS) MG = 3,18854

O coeficiente de variação para os dados transformados apresentou-se satisfatório, com o valor de 21,97%, indicando, assim, uma precisão aceitável para esse tipo de experimento.

Para facilitar a compreensão da análise, os dados transformados foram retransformados para os dados originais (Tabelas 6, 7 e 8). Na tabela 6, observa-se que, nos extratos isolados, o extrato etanólico de casca causou a morte de 15,04% dos J2 de *M. enterolobii*, significativamente superior aos extratos da semente (7,98%) e do engaço (5,58%).

Tabela 6. Porcentagem de mortalidade de J2 de *M. enterolobii* para o fator extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho – Dados retransformados

Semente	7,98 b
Casca	15,04 a
Engaço	5,58 b

dms = 0,60474

Na tabela 7, observam-se as concentrações isoladas, em que a concentração de 5000 ppm apresentou 18,64% de mortalidade dos J2, significativamente superior às demais concentrações, que apresentaram 9,18% (500 ppm), 7,49% (50 ppm) e 3,92% (5 ppm).

Tabela 7. Porcentagem de mortalidade de J2 de *M. enterolobii* para o fator concentração de extrato etanólico de semente, casca e engaço de uva de vinho em ppm – Dados retransformados

5 ppm	3,92 c
50 ppm	7,49 bc
500 ppm	9,18 b
5000 ppm	18,64 a

dms = 0,76974

Conforme os resultados apresentados na tabela 8, na concentração de 5 ppm, não houve diferença significativa entre os extratos da semente, da casca e do engaço da uva de vinho, que ocasionou a mortalidade de 3,27%, 5,14% e 3,44% dos J2, respectivamente. Na concentração de 50 ppm, também não houve diferença significativa entre os extratos já citados, respectivamente, com 4,86%, 7,28% e 10,87% de mortalidade. A 500 ppm, o extrato da casca se mostrou significativamente superior aos demais extratos com 25,39% de mortalidade dos J2. A 5000 ppm, os extratos da semente e da casca ocasionaram, respectivamente 19,98% e 29,55% de mortalidade dos J2, valores estatisticamente iguais entre si, e que foram superiores ao extrato do engaço da uva de vinho que resultou em 9,16% de mortalidade. Com relação à interação entre o extrato da semente e as suas concentrações, a melhor concentração foi 5000 ppm, que se apresentou superior às

demais concentrações, com 19,98% de controle. Já com relação à interação entre o extrato da casca e as suas concentrações, 500 ppm e 5000 ppm foram iguais estatisticamente, obtendo-se, respectivamente, 25,39% e 29,55% de mortalidade, sendo superiores às demais concentrações. Com relação à interação entre o extrato do engaço e as suas concentrações, foi observado um erro na concentração de 500 ppm, devido a uma possível não homogeneização do extrato antes da aplicação sobre os J2 de *M. enterolobii*, pois os extratos a 5000 ppm e a 50 ppm, respectivamente, levaram a 9,16% e 10,87% de mortalidade, valores iguais estatisticamente, sendo que a concentração de 5 ppm apresentou-se igual estatisticamente às concentrações de 500 ppm e 5000 ppm, porém inferior à concentração de 50 ppm.

Tabela 8. Médias de interação entre os extratos etanólicos de semente, casca e engaço de uva de vinho e as concentrações de 5, 50, 500 e 5000 ppm – Dados retransformados.

Extratos	Concentrações (ppm)			
	5	50	500	5000
Semente	3,27 aB	4,86 aB	7,51 bB	19,98 aA
Casca	5,14 aB	7,28 aB	25,39 aA	29,55 aA
Engaço	3,44 aBC	10,87 aA	1,30 cC	9,16 bAB

dms para colunas = 1,2095 dms para linhas = 1,3332
 CLASSIFIC.C/LETRAS MINÚSCULAS (COLUNAS) CLASSIFIC.C/LETRAS
 MAIÚSCULAS (LINHAS) MG = 3,18854

Na literatura, não há trabalhos com extratos de uva de vinho no controle de *M. enterolobii* para comparar com o presente estudo, o que mostra a necessidade de haver mais estudos de tipos de extratos de uva vinho e diferentes concentrações. Porém, existem experimentos com extratos de outras plantas, como por exemplo os estudos dos efeitos de extratos botânicos com ação nematicida que estão sendo evidenciados e, dentro deste contexto, algumas plantas têm apresentado um grande potencial como matéria-prima para produção de nematicidas naturais (NEVES et al., 2005c). Também, estudos com diferentes espécies vegetais já foram realizados quanto à possibilidade de serem usadas no controle de nematoides. Neste sentido,

maior atividade nematicida sobre juvenis de *M. incognita* foi observada em macerados de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), bardana (*Arctium lappa* L.), artemísia (*Artemisia vulgaris* L.), losna (*Artemisia absinthium* L.), confrei (*Symphytum officinale* L.) e catinga-de-mulata (*Tanacetum vulgare* L.) (DIAS et al., 2000). Outro exemplo pode ser citados com os testes feitos com óleo de mostarda (*Sinapsis alba* L.) e dois produtos à base de capsaicina, capsainides e alil-isotiocianato. Na concentração mais baixa (5,0%), observaram-se 90 % de redução na eclosão de juvenis J2 de *M. javanica* (NEVES et al., 2005a), contrastando com os resultados do presente estudo, pois à medida que a concentração aumenta, o percentual de morte de J2 de *M. enterolobii* aumenta. Segundo Ferraz & Freitas (2004), o gênero *Tagetes*, família Asteraceae, conhecido popularmente como cravo-de-defunto, contém mais de 50 espécies, das quais somente seis anuais e três perenes são atualmente cultivadas. Em muitos estudos, tem sido demonstrada a eficácia de *Tagetes* spp. para controlar fitonematoides, havendo um considerável tomo de pesquisas que tem sido conduzido nesta área. A maioria dos resultados indica que estas plantas são muito eficientes nesta função, especialmente contra espécies de *Pratylenchus* e de *Meloidogyne*.

6 CONCLUSÕES

O extrato etanólico de casca de uva de vinho apresentou, neste experimento, um bom potencial de efeito nematicida sobre os J2 de *M. enterolobii*. A 5 ppm e a 50 ppm, todos os extratos se mostraram iguais no combate a este nematoide. Quando a concentração é aumentada para 500 ppm dos extratos analisados, o extrato da casca se mostra mais eficaz em comparação aos demais extratos. A 5000 ppm, tanto os extratos da casca quanto da semente se mostraram semelhantes em relação à mortalidade dos J2 em comparação ao extrato de engaço.

Há necessidade de mais estudos sobre extratos vegetais como opção de controle de *M. enterolobii* e de outros fitonematoides.

REFERÊNCIAS

ANJO, D. F. C. **Alimentos funcionais em Angiologia e Cirurgia Vascular.** J Vasc Br 2004; 3 (2): 145-54. (Artigo de Revisão).

ASSAD, L. **Agricultura brasileira é a maior consumidora mundial; gasto em 2011 chegou a R\$ 14 bilhões.** Cienc. Cult., São Paulo, v. 64, n. 4, Dec. 2012. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000967252012000400003&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 14 Junho de 2015.

BAERMANN, G. **Eine einfache Methode Zur Auffindung von Ankvlostomum (Nematoden) Larven in Erdproben.** Tijdschr. Ned.-Indie, v.57, p. 131-137, 1917.

BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. **Controle, com matéria orgânica, do tombamento do pepino, causado por *Pythium ultimum* Trow.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 32, n. 1, p. 57-61, 1997.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B. **Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil.** In: VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2005. p. 163-183.

CAI, Y.; WANG, Z.; LI, J.; LI, N.; WEI, F.; LIU, Q. **Evaluation of an indirect ELISA using recombinant granule antigen GRA7 for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in cats.** Journal of Parasitology. Feb;101(1):37-40. doi: 10.1645/14-575.1. Epub 2014. Sep 12.

CAMPOS, V. P.; SOUZA, J. T.; SOUZA, R. M. **Controle de fitonematóides por meio de bactérias.** Revisão Anual de Patologia de Plantas 285-327. 1998.

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, v. 25(2), p. 223-238, 2001.

CASALII, A. L.; SCHLOSSERI, J. F.; GANDOLFOII, M. A.; RODRIGUESI, D. U. F. A. **Nível de capacitação e informação dos operadores de máquinas para a aplicação de agrotóxicos**. Ciência Rural, 45(3). 2015.

COSMIS, F. C. W. B.; MORAES, L. N. S.; SANTOS, W. B.; MORES II, F. R.; ALVES & W. C. JESUS JUNIOR. 2007. **Avaliação de sementes de mamão no manejo de *Meloidogyne javanica* em plantas de tomate em casa de vegetação**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXVII, Goiânia. Resumos, p. 63.

COUTINHO, W. M.; ARAUJO, E.; MAGALHÃES, F. H. L. **Efeitos de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a microflora e qualidade fisiológica de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Ciência e Agrotécnica, 1999; 23: 560-68.

DAR, R. N.; L. C. GARG & R. D. PATHAK. 1965. **Anthelmintic activity of *Carica papaya* seeds**. Indian Journal of Pharmacy, 27: 335-336.

DIAS, C. R.; SCWAN, A. V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO M. C.; FERRAZ, S. **Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de *Meloidogyne incognita***. Nematologia Brasileira, v. 24, n. 2, p. 202-210. 2000.

DIAS, F. L. 1993. **Estudo da genotoxicidade in vivo e in vitro dos cercaricidas naturais óleo de sucupira e cremantina em células de mamíferos**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo. 105 p.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. **Use of antagonistic plants and natural products**. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. **Nematology advances and perspectives: Nematode Management and Utilization**. Beijing: CAB International, p. 931-977. 2004.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 245 p. 2010.

Ferreira, W. A.; Botelho, S. M.; Cardoso, E. M. R.; Poltronieri, M. C. **Manipueira: um adubo orgânico em potencial**. Belém, PA. Embrapa Amazônia Oriental. Documento, 107. 2001.

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.

FIORETTO, R. A. **Uso direto da manipueira em fertirrigação**. 1994.

GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; CARVALHO, S. L.; FREITAS, L. G. **Avaliação de extratos aquosos de espécies vegetais, aplicados via pulverização foliar, sobre *Meloidogyne javanica***. Summa Phytopathologica, v. 34, n. 4, p. 376-377, 2008.

HALBRENDT, J. M.; LAMONDIA, J. A. **Crop rotation and other cultural practices**. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. (eds.) Nematology advances and perspectives. Wallingford, UK. CABI. 2004. pp. 908-930.

HERNANDEZ, A. A. M.; ROSAS, R. M.; AGUILERA, P. M. M.; LAGUNES, T. A. **Use of plant and mineral powders as an alternative for the control of fungi in stored maize grain**. Agrociencia 32:75-79. 1998.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. **A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique**. Plant Disease Reporter, v. 57, p.1025-1028, 1973.

KERMANSHAI, R.; B. E. MCCARRY, J. ROSENFELD, P. S. SUMMERS, E.A. WERETILNYK & G.J. SORGER. 2001. **Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts**. Phytochemistry, 57: 427-435.

KRISHNAKUMARI, M. K. & S. K. MAJUMDER. 1960. **Studies on anthelmintic activities of seeds of *Carica papaya* Linn**. Annals of Biochemistry and Experimental Medicine, 20: 551-556.

KOEPF, H. H. **Agricultura Biodinâmica**. 4. Ed. São Paulo: Nobel, 1986.

LAL, J., S. CHANDRA, V. RAVIPRKASH & M. SABIR. 1976. **In vitro anthelmintic action of some indigenous medicinal plantas on *Ascaridia gali* worms**. Indian Journal of Physiology and Pharmacology, 20: 64-68.

LOPES, E. A.; S. FERRAZ, L. G.; FREITAS, P. A.; FERREIRA & D.X. AMORA. 2005. **Efeito da incorporação da parte aérea de mucuna preta e de tomateiro sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica***. Nematologia Brasileira, 29 (1): 101-104.

LOPES, E. A.; S. FERRAZ, L. G.; FREITAS & P. A. FERREIRA. 2008. **Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*)**. Revista Trópica, 1 (2): 17-21.

LONDRES, F. (2015). **Agrotóxicos: um mal realmente necessário?** MMA/Coleciona: fichário d@ Educador Ambiental, v. 1, n. 13 (maio 2015) Brasília, Edição Especial. 96 p., 1(13), 23.

MAGALHÃES, C. P.; XAVIER-FILHO, J.; CAMPOS, F. A. P. **Biochemical basis of the toxicity of manipueira (liquid extract of cassava roots) to nematodes and insects.** *Phytochemical Analysis* 11:57-60, 2000.

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

MENEZES, J. P. **Controle biológico.** Agronline.com.br. 2006. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=42>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

MORAIS, L. A. S.; SILVA, M. A. S.; GONÇALVES, M. A.; SILVA, S. M. P.; CARDOSO, A. I. I. 2001. **Interferência de extratos de alho na germinação e no vigor de sementes de tomate.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 41. *Horticultura Brasileira* 19: 241. 2001.

MORAIS, M. S. **Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão-vagem.** Dissertação de Mestrado. Areia PB. Universidade Federal da Paraíba. 2004.

MOREIRA, W.A., MAGALHÃES, E.E., PEREIRA, A.V.S., BARBOSA, F.R., LOPES, D.B., MOURA, A.O.S. **Espécies de nematóides das galhas associadas a culturas no Submédio São Francisco.** *Nematologia Brasileira*, v. 27, n 2, p. 257, 2003.

NEVES, W. S.; M. M. COUTINHO, R. J. F. ZOOCA, R. DALLEMOLE-GIARETTA & L. G. FREITAS. 2005a. **Inibição da eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* por extrato aquoso de sementes de mamão.** *Fitopatologia Brasileira*, 32 (Suplemento).

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FABRY, C. F. S.; COUTINHO, M. M.; DHINGRA, O. D.; FERRAZ, S.; DEMUNER, J. A. **Atividade de extratos de alho (*Allium sativum*), mostarda (*Brassica campestris*) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) sobre eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*.** *Nematologia Brasileira*, v. 29, p. 273-278, 2005c.

NEVES, W. S.; M. M. COUTINHO, R. DALLEMOLEGIARETTA, R. J. F. ZOOCA, L. G. FREITAS & C. F. S. FABRY. 2005b. **Atividade nematocida de extratos de semente de mamão sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*.** *Fitopatologia Brasileira*, 32 (Suplemento).

NICO, A. I.; R. M. JIMÉNEZ-DÍAZ & P. CASTILLO. 2004. **Control of root-knot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures.** Crop Protection, 23 (7): 581-587.

OWOLADE, O. F.; AMUSA, A. N.; OSIKANLU, Y. O. Q. **Efficacy of certain indigenous plant extracts against seed-borne infection of *Fusarium moniliforme* on maize (*Zea mays* L.) in south western Nigeria.** Cereal Research Communications 28:323-27. 2000.

PAULA JÚNIOR, T. J. de.; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. da. **Controle alternativo de doenças de plantas - histórico.** In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças.** Viçosa/MG: EPAMIG/CTZM, 2005. p. 135-162.

PEREIRA, F.O.M., SOUZA, R.M., SOUZA, P.M, DOLINSKI, C.; SANTOS, G.K. **Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiabeira no Brasil.** Nematologia Brasileira, v.33, p. 176-181, 2009.

PONTE, J. J.; FRANCO, A. **Manipueira, um nematicida não convencional de comprovada potencialidade.** Publicação da Sociedade Brasileira de Nematologia 5:25-33, 1981.

PONTE, J. J.; FRANCO, A.; PONTES, A. E. L. **Estudo sobre a utilização da manipueira, como nematicida, em condições de campo.** Nematologia Brasileira 11:42-47, 1987.

PONTE, J. J. **Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante.** In: Cereda MP (Ed.) **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** Fundação Cargill. São Paulo SP. pp. 80-95. 2001.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. **Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos.** Floresta, v. 30, n. 1 / 2, p. 129-137, 2000.

SCRAMIN, S.; SILVA, H. P.; FERNANDES, L. M. S.; YHAN, C. A.; **Biological evaluation of fourteen extracts of plant species on *Meloidogyne incognita* race 1.** Nematologia Brasileira, v. 11, p. 89-102, 1987.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. A. **Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas.** In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças.** Viçosa: Epamig/CTZM, p. 221-46. 2005.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Editora UFSC, Florianópolis, 1104 p. 2010.

SOUZA, J. L. Agricultura Orgânica. **Tecnologias para a produção de alimentos saudáveis**. Vitória: EMCAPA, 1998.

SOUZA, M. A. A.; BORGES, R. S. O. S.; STARK, M. L. M.; SOUZA, S. R. **Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola**. Revista Universidade Rural 22:181-185. 2002.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. **Atividade antifúngica de extratos de alho e capim santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolados de grão de milho**. Fitopatologia Brasileira 32: 465-470. 2007.

SOSSAE, F. C.; PEREIRA, S. A. C.; TAMBELINI, M. **Utilização de plantas medicinais nativas do Cerrado pela comunidade do Distrito de Nova América - Município de Itápolis/SP**. In: 1o Colóquio, 2002, Araraquara. Revista do Centro Universitário de Araraquara, v. 11. p. 211-212. 2002.

STADNIK, M. J.; RIVERA, M. C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 484 p.

STAPLETON, J. J. 2000. **Soil solarizations in various agricultural production systems**. Crop Protection, 19: 837-841.

VIEITES, R. L.; BRINHOLI, O. **Efeitos da aplicação da manipueira na conservação pós-colheita da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Energia na Agricultura 10:20-21,1995.

