



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DE *Meloidogyne*
incognita E *M. javanica* EM TOMATEIRO**

PATRÍCIA HONORATO DE CARVALHO

Brasília – DF

2017

PATRÍCIA HONORATO DE CARVALHO

**CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DE *Meloidogyne incognita* E *M.*
javanica EM TOMATEIRO**

Dissertação apresentada à
Universidade de Brasília como
requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre
em Fitopatologia pelo
Programa de Pós-Graduação
em Fitopatologia

Orientador

Prof. Dr. Cleber Furlanetto

BRASÍLIA

DISTRITO FEDERAL – BRASIL

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Carvalho, Patrícia Honorato de.

Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro/Patrícia Honorato de Carvalho.

Brasília, 2017.

98p.

Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

1. Fitopatologia – Nematologia

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT

II. Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro/Patrícia Honorato de Carvalho.

*A Lindalva Antônia de Carvalho e Maria Euzébio Mateus Pereira,
As mulheres mais fortes que conheci e tive o prazer de conviver.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre iluminando meu caminho.

A meus pais e meu irmão que sempre estiveram comigo e me incentivaram nessa caminhada e também a toda minha família.

Aos melhores amigos que se pode ter e que estiveram ao meu lado diariamente.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Departamento de Ciências biológicas da Universidade de Brasília e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Prof. Dr. Cleber Furlanetto, pela orientação e parceria construída durante o desenvolvimento do trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente contribuíram para que eu completasse mais esta etapa, em especial ao Prof. Dr. Juvenil Enrique Cares e aos colegas do Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitopatologia da UnB.

A Fernanda de Lima Mesquita, que sempre esteve ao meu lado durante o desenvolvimento do trabalho, ajudando e apoiando na construção deste trabalho.

Aos funcionários da Estação Experimental Biológica da UnB pela grande ajuda durante o desenvolvimento dos experimentos.

A Profa. Dra. Regina Célia de Oliveira, pelo apoio financeiro no desenvolvimento desse trabalho.

A Fecularia Panero, por ceder a manipueira utilizada nos experimentos.

Ao Prof. Dr. Leandro Grassi por ceder o produto Rizotec. Ao Grupo Farroupilha por ceder os produtos Onix e Quality. A FMC por ceder o nematicida Rugby.

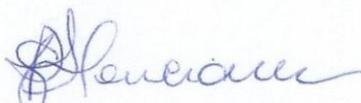
Meus sinceros agradecimentos!

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do **Professor Cleber Furlanetto**, com apoio do CNPq.

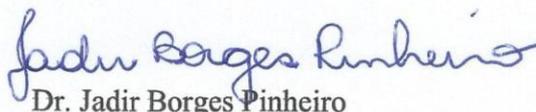
CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DE *Meloidogyne incognita* E *M. javanica* EM TOMATEIRO

PATRÍCIA HONORATO DE CARVALHO

DISSERTAÇÃO APROVADA em 20/02/2017 por:



Dra. Gisele Pereira Domiciano
Examinador (Membro interno)



Dr. Jadir Borges Pinheiro
Examinador (Membro externo)



Cleber Furlanetto, PhD
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL
BRASIL
2017

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO GERAL.....	xiii
GENERAL ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TOMATEIRO	4
2.1.1. Origem e dispersão	4
2.1.2. Aspectos botânicos	4
2.1.3. Classificação de cultivares de tomate	7
2.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CULTURA DO TOMATEIRO	7
2.3. NEMATÓIDES NA CULTURA DO TOMATEIRO	8
2.3.1. O gênero <i>Meloidogyne</i> spp.	10
2.3.1.1. <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid e White, 1919) Chitwood (1949)	12
2.3.1.2. <i>Meloidogyne javanica</i> (Treub, 1885) Chitwood (1949)	13
2.4. CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATÓIDES	15
2.4.1. Fungos no controle de fitonematoides	16
2.4.1.1. <i>Pochonia chlamydosporia</i>	16
2.4.1.2. <i>Trichoderma</i> spp.	18
2.4.2. Bactérias no controle de fitonematoides	19
2.4.3. Associação de antagonistas para o controle de fitonematoides	21
2.5. MANIPUEIRA	21
2.5.1. Constituintes químicos e orgânicos	21

2.5.2. Toxidez e danos ambientais	22
2.5.3. Aproveitamento do resíduo manipueira.....	24
2.5.3.1. Fertilizante	24
2.5.3.2. Ação nematicida	25
2.5.3.3. Ação inseticida.....	26
2.5.4. Recomendações à aplicação de manipueira.....	26
2.6. INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO CONTROLE DE FITONEMATOIDES	27
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1. Caracterização da área experimental.....	30
3.2. Origem e multiplicação de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i>	30
3.3. Identificação de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i>	30
3.4. Extração de ovos de raízes de tomateiros para inoculação	31
3.5. Instalação dos ensaios	32
3.5.1. Semeadura, transplântio e manejo de tomateiros cv. Santa Cruz Kada.....	32
3.5.2. Delineamento experimental	32
3.5.3. Inoculação de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> em tomateiro	33
3.6. Manipueira	34
3.6.1. Coleta.....	34
3.6.2. Quantificação de cianeto.....	34
3.6.3. Análise química	34
3.7. Análise Química e Física do solo antes e após a aplicação de Manipueira	35
3.8. Aplicação dos tratamentos	35
3.9. Avaliações	36
3.10. Análise estatística	37
4. RESULTADOS	38

4.1.COMPOSIÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO SOLO	38
4.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MANIPUEIRA	39
4.3. EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS SOBRE <i>M. INCOGNITA</i> E <i>M. JAVANICA</i> EM TOMATEIRO	40
5. DISCUSSÃO.....	50
5.1. Manipueira: composição e efeito em solo e plantas.....	50
5.2. Efeito dos tratamentos sobre <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i>	52
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
7. CONCLUSÕES.....	58
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos utilizados no controle de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> em casa de vegetação	33
Tabela 2. Análise química de solo em parcelas sem tratamento e tratadas com manipueira 50%	39
Tabela 3. Composição química de manipueira coletada para este estudo na Fecularia Panero (GO) em comparação com a de outras fontes da literatura	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema do ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i> spp.	11
Figura 2. Fórmulas estruturais da linamarina e da lotaustralina, respectivamente.	22
Figura 3. Hidrólise enzimática da linamarina - cianogênese.	23
Figura 4. A) 1 e 2 - Fenótipo I1 de esterase (EST) de população de <i>M. incognita</i> ; A) 3 – Padrão com <i>M. javanica</i> ; B) 1 - Padrão com <i>M. javanica</i> ; B) 2 e 3 - Fenótipo J3 de população de <i>M. javanica</i>	38
Figura 5. Massa radicular de tomateiros inoculados com <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> sob diferentes tratamentos.	41
Figura 6. Análise conjunta da massa radicular de tomateiros inoculados com <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> sob diferentes tratamentos.	42
Figura 7. Total de ovos por sistema radicular de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> em tomateiros submetidos a diferentes tratamentos.	43
Figura 8. Análise conjunta do total de ovos por sistema radicular produzidos por <i>M. javanica</i> e <i>M. incognita</i> em tomateiros sob diferentes tratamentos.	44
Figura 9. Média de ovos por grama de raiz em tomateiros inoculados com <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> sob diferentes tratamentos.	45
Figura 10. Fator de Reprodução de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> em tomateiros sob diferentes tratamentos.	46
Figura 11. Análise conjunta do FR de <i>M. javanica</i> e <i>M. incognita</i> em tomateiros sob diferentes tratamentos.	47

Figura 12. Porcentagem de redução do Fator de Reprodução de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> em tomateiros sob diferentes tratamentos em relação a testemunha inoculada e tratada com água.	48
Figura 13. Análise conjunta da Porcentagem de redução do FR de <i>M. javanica</i> e <i>M. incognita</i> em tomateiros sob diferentes tratamentos em relação a testemunha inoculada e tratada com água.	49

RESUMO GERAL

CARVALHO, P.H. **Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro.** 2017, 98p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

O tomate é a segunda hortaliça mais cultivada em todo o mundo e no Brasil apresenta elevada importância econômica. Vários patógenos afetam essa cultura, entre elas os nematoides, principalmente do gênero *Meloidogyne*, responsáveis por perdas em produtividade do fruto. Dessa forma, se faz importante técnicas que reduzam as perdas ocasionadas por nematoides. Nesse trabalho, objetivou-se testar a ação individual de produtos biológicos e indutor de resistência em associação com a manipueira, subproduto da mandioca, para o manejo de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Universidade de Brasília, Brasília, DF. Os experimentos seguiram delineamento inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e 5 repetições em ambos, sendo os tratamentos: 1. Testemunha sem inóculo; 2. Testemunha + Manipueira 50%; 3. Testemunha com inóculo; 4. Rizotec (*Pochonia chlamydosporia*); 5. Rizotec + Manipueira 50%; 6. Onix (*Bacillus methylotrophicus*) + Quality (*Trichoderma asperellum*); 7. Onix + Quality + Manipueira 50%; 8. Bion (Acibenzolar-S-metil); 9. Bion + Manipueira 50%; 10. Nematicida Rugby (Cadusafós). Os experimentos foram conduzidos de maio a setembro de 2016. Mudanças de tomate cv. Santa Cruz Kada gigante foram transplantadas para sacos plásticos após 30 dias da semeadura. Os produtos biológicos e o nematicida foram aplicados uma semana após o transplante e o indutor de resistência uma semana antes da inoculação. Cinco mil ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. javanica* e *M. incognita* foram inoculados isoladamente 15 dias após o transplante. Setenta dias após inoculação foram avaliadas as variáveis de massa radicular, análise da infecção de raízes por escala de notas, total de ovos/raiz

de tomateiro e fator de reprodução. A análise química da manipueira apresentou os macronutrientes N, P, Ca, K, S e Mg e os micronutrientes Zn, Mn, Cu, Fe, Co, Mo e B; pH de 5,40 e teor de cianeto estimado em 30 ppm. A análise conjunta dos ensaios demonstrou que o tratamento que causou maior redução populacional do nematoide foi Rizotec + Manipueira 50%. O tratamento nematicida (Rugby) foi efetivo como controle positivo. Os demais tratamentos tiveram performance inferior em relação a testemunha com inóculo.

Palavras-chave: controle alternativo, controle biológico, nematoide das galhas radiculares, resistência sistêmica adquirida, *Solanum lycopersicum* L.

Orientador: Prof. Cleber Furlanetto, Ph.D – UnB

GENERAL ABSTRACT

CARVALHO, P.H. **Biological and alternative control of *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* in tomato.** 2017, 98p. Dissertation (Master in Plant Pathology) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil.

Tomato is the second most cultivated vegetable in the world and in Brazil presents high economic importance. Several pathogens affect this crop, among them the nematodes, mainly of the genus *Meloidogyne*, responsible for losses in fruit productivity. Thus, techniques that reduce the losses caused by nematodes are important. The objective of this work was to test the individual action of biological products and inducer of resistance in association with the manipueira, by-product of manioc, for the management of *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita*. The experiments were conducted in greenhouse at the University of Brasília, Brasília, DF. The experiments followed a completely randomized design, with 10 treatments and 5 replicates in both treatments: 1. Control without inoculum; 2. Control + Manipueira 50%; 3. Control with inoculum; 4. Rizotec (*Pochonia chlamydosporia*); 5. Rizotec + Manipueira 50%; 6. Onix (*Bacillus methylotrophicus*) + Quality (*Trichoderma asperellum*); 7. Onix + Quality + Manipueira 50%; 8. Bion (Acibenzolar-S-methyl); 9. Bion + Manipueira 50%; 10. Nematicide Rugby (Cadusafos). The experiments were conducted from May to September 2016. Tomato seedlings cv. Santa Cruz Kada giant were transplanted to plastic bags after 30 days of sowing. Biological products and nematicide were applied one week after transplanting and resistance inducer one week prior to inoculation. Five thousand eggs and occasional juveniles of second stage (J₂) of *M. javanica* and *M. incognita* were inoculated alone 15 days after transplanting. Seventy days after inoculation, the variables of root mass, roots infection analysis by note scale, total egg / tomato root, and reproduction factor were evaluated.

The chemical analysis of the manipueira showed the macronutrients N, P, Ca, K, S and Mg and the micronutrients Zn, Mn, Cu, Fe, Co, Mo and B; pH of 5,40 and cyanide content estimated at 30 ppm. The joint analysis of the trials showed that the treatment that caused the greatest reduction of the nematode population was Rizotec + Manipueira 50%. The nematicidal treatment (Rugby) was effective as a positive control. The other treatments had inferior performance in relation to the control with inoculum.

Key words: alternative control, biological control, root knot nematode, systemic acquired resistance, *Solanum lycopersicum* L.

Advisor: Prof. Cleber Furlanetto, Ph.D – UnB

1. INTRODUÇÃO GERAL

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) pertence a família das Solanáceas, que inclui também a batata, as pimentas e pimentões, a berinjela, o jiló, entre outros. A cultura do tomateiro tem boas perspectivas econômicas, tendo em vista o alto rendimento proporcionado. Dessa forma, a produção de tomate tende a aumentar cada vez mais (Naika *et al.*, 2006), visto que, por exemplo, em 2013 a produção mundial de tomates foi de 164,5 milhões de toneladas. A China foi o maior produtor de tomates mundial nesse ano, com 50,7 milhões de toneladas, representando 31% da produção mundial. China, Índia, Estados Unidos da América, Turquia, Egito, Irã, Itália e Brasil produzem 71% do total mundial dessa solanácea. Neste ano, a produção do Brasil correspondeu a 3% do total mundial (FAOSTAT, 2016). Do fruto dessa cultura se obtém vitamina C, pró-vitamina A (beta caroteno) e antioxidantes (licopeno e outros carotenoides), importantes ao homem (Reifschneider *et al.*, 2015).

Vários fatores limitam a produtividade do tomateiro, entre eles destacam-se as doenças, visto que podem levar a perdas econômicas elevadas se medidas de manejo não forem tomadas a tempo. Atualmente, o uso de melhoramento genético proporcionou o advento de plantas resistentes a diversas doenças, porém em alguns casos, ainda há ocorrência quando se utilizam plantas suscetíveis ou através da pressão de seleção em plantas resistentes, associadas à falta de rotação de culturas e solos que apresentem baixo teor de matéria orgânica (Costa & Ventura, 2010).

Os nematoides são responsáveis por problemas em tomateiros em diversas áreas de plantio. Os principais nematoides que causam danos ao tomateiro no Brasil pertencem ao gênero *Meloidogyne*, conhecido popularmente como nematoide das galhas, destacando-se as espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood,

causando maiores prejuízos econômicos em regiões quentes, com solos arenosos e baixos teores de matéria orgânica (Pinheiro *et al.*, 2014).

O sucesso dos pesticidas em meados do século XX permitiu o controle de muitos organismos prejudiciais, porém introduziram novas condições ambientais as quais os fitopatógenos se adaptaram, frequentemente adquirindo resistência, através da pressão de seleção. Além disso, atualmente a importância do alimento saudável e a identificação de riscos ambientais inclinaram o campo da pesquisa para estratégias de controle alternativas de doenças, como agentes de controle biológico (Lamovšek *et al.*, 2013) e agentes alternativos, como resíduos orgânicos - manipueira, e indutores de resistência aliados ao controle de doenças (Ponte, 2001; Puerari *et al.*, 2013).

Considerando que a manipueira em ação combinada com produtos biológicos comerciais Rizotec, Onix e Quality, além da combinação com indutor de resistência Acibenzolar-S-Metil (Bion) ainda não foram testados no controle de *M. incognita* e *M. javanica*, a fim de proporcionar alternativas de manejo ao produtor de tomate, justifica-se a realização desse projeto.

O objetivo geral desse estudo é buscar alternativas no controle de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiro, utilizando produtos biológicos, subproduto líquido de feccularia (manipueira) e produto indutor de resistência (acibenzolar-S-metil).

Os objetivos específicos englobam a avaliação do efeito de produtos biológicos separadamente e em combinação com manipueira no controle de *M. javanica* e *M. incognita*; avaliação do efeito de produto indutor de resistência e de sua combinação com manipueira no controle de *M. javanica* e *M. incognita*.

Espera-se então que a aplicação individual ou em combinação de algum dos tratamentos reduza as populações dos nematoides. Além disso, que a manipueira possa ser aplicada em combinação com pelo menos um dos produtos a serem testados e que a testemunha tenha um

desempenho inferior à pelo menos um dos tratamentos. Finalmente, com esse trabalho espera-se que pelo menos um dos tratamentos possa ser indicado para o manejo de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TOMATEIRO

2.1.1. Origem e dispersão

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) apresenta como centro de origem a parte ocidental da América do Sul, mais especificamente a região andina, que vai desde o Equador até a Colômbia, sendo *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* a espécie silvestre a dar origem a espécie atualmente cultivada (Taylor, 1986).

Apesar disso, sua ampla domesticação se deu no México, sendo considerado centro de origem secundário do tomate (Naika *et al.*, 2006). Após a sua descoberta pelos espanhóis, no século XVI, o tomate foi levado da América para a Europa, sendo inicialmente cultivado como planta ornamental em jardins da Espanha, Itália e Inglaterra, de onde então se difundiu por todo o mundo. No Brasil, a introdução do tomate deve-se a imigrantes europeus no final do século XIX (Alvarenga, 2004).

A adaptação mundial do tomateiro está relacionada à tolerância a diferentes condições edafoclimáticas como diferentes tipos de solo e temperaturas variando entre 5° e 36°C, sendo o ótimo entre 13° e 28°C (Filgueira, 2008).

2.1.2. Aspectos botânicos

O tomateiro é uma dicotiledônea pertencente à Ordem Tubiflorae, família Solanaceae, gênero *Solanum*, cuja espécie domesticada e amplamente cultivada é *S. lycopersicum* (Gould, 1992). Diferentes espécies do gênero *Solanum* vêm sendo utilizadas em programas de melhoramento de tomateiro, visando a introgressão de genes que conferem resistência a pragas e doenças, melhoria da qualidade nutricional e nutracêutica dos frutos e tolerância a estresses

abióticos. Dentro do complexo *esculentum*, os acessos das espécies *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* cruzam-se com facilidade. Porém uma incompatibilidade unilateral é observada nos cruzamentos envolvendo acessos de *S. cheesmaniae*; *S. galapagense*; *S. chmielewskii*; *S. neorickii*; *S. habrochaites* e *S. pennellii*. As espécies do complexo *peruvianum* também apresentam barreiras nos cruzamentos com as espécies do grupo *esculentum*, resultando em incompatibilidade. Nos cruzamentos interespecíficos ocorre, primordialmente, incompatibilidade de endosperma, resultando no abortamento do embrião. Tais barreiras podem ser superadas via estratégias de resgate de embrião *in vitro* (Reifschneider *et al.*, 2014).

O tomate é uma planta anual, que pode atingir mais de dois metros de altura. Porém, na América do Sul, devido ao clima favorável, pode-se colher frutos das mesmas plantas durante vários anos consecutivos. A primeira colheita pode-se realizar 45-55 dias após a florescência ou 90-120 dias depois da sementeira (Naika *et al.*, 2006).

O sistema radicular do tomateiro é pivotante, sendo composto por uma raiz principal, raízes secundárias e adventícias, com a maior parte das raízes se concentrando na faixa de solo de até 20 cm de profundidade (Mattedi *et al.*, 2007).

É uma solanácea herbácea, com caule flexível e piloso composto por abundantes ramificações laterais (Silva & Vale, 2007). As folhas são compostas e alternadas por um folíolo terminal e por seis a oito folíolos laterais, os quais apresentam formato lobado, peciolado e bordos dentados (Mattedi *et al.*, 2007). As flores são hermafroditas, pequenas e amarelas, dispostas em cachos e cujos cálices apresentam 5 sépalas, o que caracteriza o tomateiro como planta autógama (Gould, 1992).

O fruto é carnoso, com 2 ou mais lóculos e cujo desenvolvimento pleno se completa em sete a nove semanas. No Brasil, a colheita é feita logo no início da maturação, pois a mesma se completa em pós-colheita devido ao aumento da taxa respiratória e conseqüente produção de etileno (Melo, 1989). O licopeno é um pigmento responsável pela coloração vermelho intensa

dos frutos de tomate. A sua síntese é favorecida por temperaturas entre 24 e 28 °C e afetada por temperaturas acima de 30 °C (Sedyama *et al.*, 2003). As faixas de temperatura, diurnas e noturnas, ideais para a floração e frutificação do tomateiro variam de 18 a 25 °C e 13 a 24 °C, respectivamente (Alvarenga, 2004).

As sementes de tomate são leves, com massa de 2,4 a 4,4 mg e 2 a 3 mm de diâmetro, sendo de formato oval e cobertas por pelos (tricomos) (Rubatzky & Yamaguchi, 1997). A germinação é influenciada por fatores hormonais, em especial pela ação de ácido giberélico e ácido abscísico, e por fatores ambientais como umidade, luz e temperatura, os quais modulam a taxa ou percentagem de germinação (Bradford *et al.*, 2000).

O hábito de crescimento do tomateiro pode ser determinado ou indeterminado. Cultivares com hábito indeterminado podem atingir até 2,5 m de altura e apresentam grande quantidade de folhas, que se sobrepõe aos frutos. Entende-se então que variedades indeterminadas deverão ser suportadas com estacas, a fim de facilitar a poda, a colheita e outras práticas de cultivo (Silva & Giordano, 2000).

Plantas com hábito determinado cessam o desenvolvimento após a florescência, não sendo necessário o estaqueamento, exceto durante as chuvas, onde os frutos não deverão ficar em contato com solo, evitando assim o aparecimento de pragas e doenças (Naika *et al.*, 2006). São plantas rasteiras e sua produção é destinada a indústria, enquanto variedades indeterminadas são destinadas a consumo *in natura* (Silva & Vale, 2007).

A cultura destaca-se por apresentar duas cadeias distintas, caracterizadas pelos segmentos de mesa e de indústria. De tal forma há diferenciação desde a produção, na escolha de cultivares e forma de cultivo, até seu beneficiamento, comercialização e processamento, e consumo final (Santos, 2009).

2.1.3. Classificação de cultivares de tomate

A produção de tomates para consumo *in natura* no mercado brasileiro sofreu grandes transformações tecnológicas nas últimas décadas, dentre elas a utilização de sementes híbridas de variedades que produzem frutos do tipo “longa vida” (Della Vecchia; Koch, 2000).

De acordo com Naika *et al.* (2006) foram as companhias fitogenéticas que produziram os chamados híbridos F1 do tomate. Estes desenvolveram-se a partir de sementes produzidas através de uma polinização manual, controlada, das linhas paternas masculina e feminina. Estes híbridos combinam rendimentos elevados, resistência a doenças e outras características de produção. Quando se utiliza semente híbrida, deve-se comprar novas sementes para cada estação, o que acarreta maiores custos, porém a resistência a doenças implica redução nos custos de produção e também maior produtividade.

Entre os diversos grupos de tomate existentes, os híbridos do tipo Santa Cruz vêm mantendo sua participação no mercado, por apresentarem melhor qualidade e serem versáteis em termos de uso culinário. Entretanto, o mercado de variedades de tomate se diversificou e se segmentou de maneira muito intensa. Atualmente, os grupos predominantes no mercado de tomate de mesa no Brasil são: Salada, Italiano ou Saladete, Santa Cruz e Cereja ou Grape (Reifschneider *et al.*, 2014).

2.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CULTURA DO TOMATEIRO

O tomate é a segunda hortaliça mais cultivada em todo o mundo, atrás somente da batata e apresenta diferentes segmentos varietais para atender as diversas demandas do mercado (Silva & Giordano, 2000). A produção mundial de tomates é liderada pela China, Índia e Estados Unidos da América, sendo que somente a Ásia é responsável por 59,5% da produção mundial. As Américas produzem aproximadamente 15,7% do total mundial. A produção brasileira

corresponde a aproximadamente 3% da produção mundial, sendo destinada principalmente ao mercado interno (Faostat, 2016).

No Brasil, a produção de tomate se concentra principalmente nos estados de São Paulo, Goiás e Minas Gerais (IBGE, 2016). Na região Centro-Oeste a cultura do tomateiro vem se expandindo desde a década de 90, devido as condições climáticas da região, além do uso de estratégias e tecnologias, que favorecem o cultivo principalmente do tomateiro rasteiro (Marouelli *et al.*, 2007).

O uso de tecnologias se faz importante para o correto desenvolvimento do tomateiro, visando a otimização da rentabilidade da cultura, como época de implantação e cultivares adaptadas, que permitem maior desenvolvimento da planta, menos ataques de pragas e doenças e assim maiores rendimentos econômicos (Filgueira, 2008).

Para que essa atividade se torne sustentável, é fundamental que se procure, mais do que um produto de qualidade, uma produção de qualidade. No sentido amplo, implica que os produtos devam apresentar certos requisitos como sabor, consistência, maturação, apresentação, inexistência de resíduos tóxicos acima dos níveis permitidos, e além disso, que a tecnologia utilizada seja de mínimo impacto sobre o meio ambiente e não prejudique a saúde do agricultor (Protas, 2003).

2.3. NEMATOIDES NA CULTURA DO TOMATEIRO

Em diferentes países, nematoides pertencentes a diferentes gêneros causam danos à cultura do tomateiro como *Meloidogyne*, *Belonolaimus*, *Trichodorus* e *Paratrichodorus* (Pinheiro *et al.*, 2014). Em regiões tropicais estima-se que as perdas decorrentes do parasitismo por nematoides em tomateiro atinjam 30% da produção (Naika *et al.*, 2006).

Os nematoides das galhas radiculares, *Meloidogyne* spp., são os de maior importância econômica para a cultura do tomateiro, principalmente em sistemas de cultivo extensivo (Netscher, 1978).

Dentre as espécies parasitas do tomateiro, *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood (1949), *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood (1949) e *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood (1949) são as mais importantes pela ampla distribuição geográfica e elevada gama de hospedeiras. Outras espécies como *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback, 1983 (sin= *M. mayaguensis*, Rammah & Hirschmann, 1988) têm sido ocasionalmente relatadas infectando tomateiros com resistência genética às três espécies citadas anteriormente (Carneiro *et al.*, 2006). O gene Mi constitui-se num gene que confere resistência a fitopatógenos e por essa razão é amplamente utilizado em trabalhos de desenvolvimento de cultivares de tomateiro (Williamson, 1998). Sabe-se que esse gene confere resistência a espécies de *Meloidogyne*, tais como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* (Roberts & Thomason, 1989) e *M. chitwoodi*, além de diminuir a taxa reprodutiva de *M. hapla* (Brown *et al.*, 1997), a qual tem se mantida por mais de 60 anos.

Em recente estudo, Rosa *et al.* (2014) detectaram suscetibilidade a *M. enterolobii* em genótipos e híbridos de tomateiro desafiados mediante testes em condição controlada. Levantamento recente realizado por Pinheiro *et al.* (2014), em áreas de produção comercial de tomate no Brasil, indicam prevalência de *M. javanica* (50% das amostras coletadas), seguido de *M. incognita* (28,5 %), *M. ethiopica* (14,2%), *M. enterolobii* (7,14%) e *M. morocciensis* (3,57%). Esses resultados complementam levantamento anterior realizado por Lopes & Reis (2011) onde *M. incognita* e *M. javanica* foram as espécies mais comumente encontradas na cultura do tomateiro.

Os sintomas provocados por *Meloidogyne* spp. em tomateiro são nanismo, clorose de folhas e conseqüente redução da produção, aliada à formação de galhas por todo o sistema

radicular. Plantas quando infectadas por *Meloidogyne* spp. também se tornam vulneráveis a outros patógenos, em especial a fungos e bactérias do solo (Asmus, 2001).

A alta incidência de *M. incognita* e *M. javanica* é atribuída à habilidade de se reproduzirem em uma faixa ampla de temperaturas, entre 18 a 31,5°C, diferentemente de *M. arenaria* e *M. hapla* que requerem temperaturas mais baixas e constantes (Charchar & Moita, 2001).

2.3.1. O gênero *Meloidogyne* spp.

Meloidogyne é uma palavra de origem grega que significa fêmea em forma de maçã. O primeiro relato de um nematoide das galhas foi feito em 1855, por Berkeley, observando galhas radiculares em pepino (Moens *et al.*, 2009).

Atualmente são conhecidas mais de 100 espécies de *Meloidogyne* (Hunt & Hadoo, 2009). Nematoides desse gênero possuem alto grau de polifagia, podendo ser encontrados em diversas culturas, pois apresentam alta competitividade biológica. Durante sua evolução foram capazes de desenvolver estratégias de parasitismo como as galhas, que são respostas fisiológicas das plantas hospedeiras, onde as células das raízes são induzidas a se transformar em tecido nutridor diferenciado, provendo-lhe nutrientes necessários ao desenvolvimento e reprodução. Estas células atacadas apresentam alterações morfológicas (hipertrofias) e fisiológicas, em que o citoplasma fica denso, granuloso e associado a sucessivas divisões nucleares, não acompanhada da divisão celular (hiperplasia), conhecidas como células gigantes ou nutridoras. Nestas células modificadas (sítio de alimentação) o nematoide passa a ingerir o conteúdo citoplasmático (Moura, 1997; Ferraz, 2001).

O parasitismo desses nematoides influencia diretamente o desenvolvimento da planta, ocasionando deformação, subdesenvolvimento radicular e redução da absorção de água e

nutrientes, tendo como consequência um menor desenvolvimento da parte aérea, clorose generalizada, redução na produtividade e possível morte da planta (Tihohod, 2000).

A infecção por *Meloidogyne* se inicia com juvenis de segundo estágio (J₂) que eclodem dos ovos e migram pelo solo em direção à raiz da planta hospedeira, na qual penetram através da região meristemática. Em seguida, os J₂ migram até a zona de diferenciação das células vegetais. Através de um estilete, o J₂ deposita vários produtos salivares nas células vegetais para induzi-las à formação de células gigantes, das quais retirará os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. Uma vez estabelecido o seu sítio de alimentação, os J₂ se tornam sedentários, passando por mais três ecdises até a fase adulta (Hunt & Handoo, 2009). Os nematoides de terceiro e quarto estágio, J₃ e J₄ respectivamente, não possuem estilete, portanto não se alimentam. Os estiletos reaparecem na fase adulta. Os machos não se alimentam, já as fêmeas sim. Tornam-se esferoidais, produzem massas de ovos envoltos por matrizes gelatinosas que são secretadas pelas glândulas retais (Manzanilla-López; Evans; Bridge, 2004) (Figura 1).

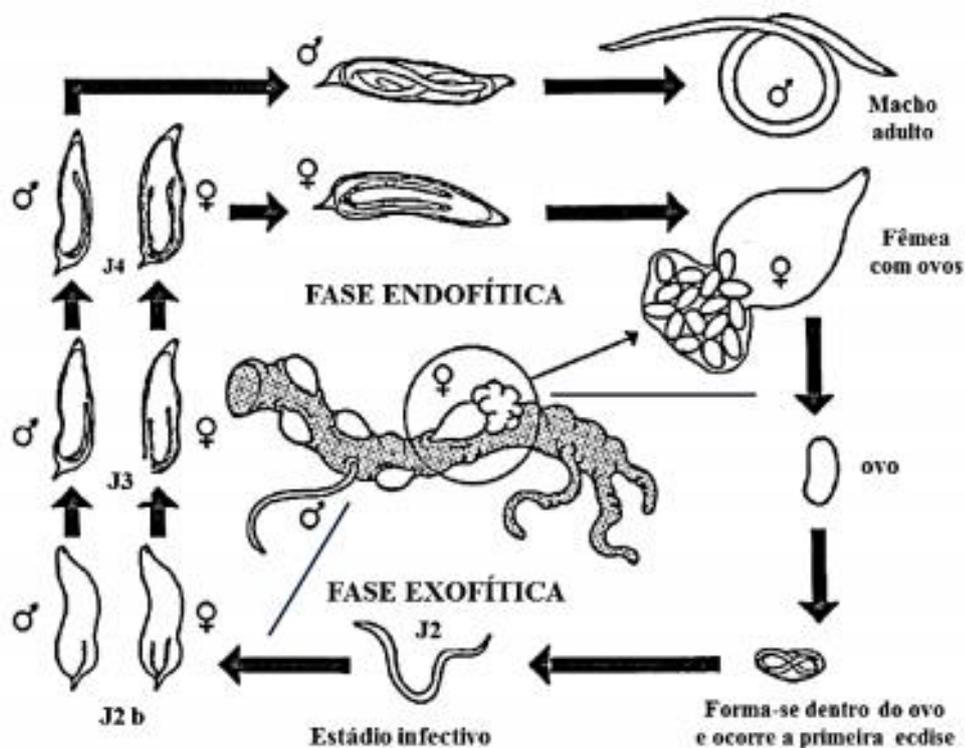


Figura 1. Esquema do ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. Fonte: Adaptado de Karssen e Moens, 2006.

A reprodução das fêmeas geralmente é partenogenética, mitótica ou meiótica, e a presença de machos está relacionada às condições ambientais adversas (Siddiqui, 2000). A temperatura é um dos fatores mais limitantes para o desenvolvimento dos nematoides, por exemplo, para as espécies de maior importância econômica, *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*, as temperaturas ótimas estão entre 25 e 30 °C. Temperaturas acima de 40 °C ou abaixo de 5 °C reduzem as atividades vitais dos nematoides (Brass *et al.*, 2008).

2.3.1.1. *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood (1949)

Essa espécie tem impacto mundial devido as perdas econômicas proporcionadas em diversas culturas, sob diferentes condições climáticas (Lopes & Santos, 1994). É encontrada em todas as regiões tropicais, sendo restrita a casa de vegetação em regiões temperadas (Karssen & Moens, 2006).

As primeiras fêmeas aparecem de 13 a 15 dias após a penetração nas raízes e as primeiras massas de ovos após 19 a 21 dias, numa temperatura média de 29 °C. Normalmente, as fêmeas produzem ovos por três semanas (Hunt & Handoo, 2009).

O padrão perineal das fêmeas de *M. incognita* consta de arco dorsal relativamente alto, sem linhas laterais, sendo que machos apresenta disco labial elevado. Algumas populações importantes para a agricultura, inicialmente identificadas como *M. incognita*, foram descritas como novas espécies, isto é, *M. brasilensis*, *M. enterolobii*, *M. hispanica*, *M. floridensis* e *M. microtyla*. Esses nematoides se desenvolvem tanto em mono quanto em dicotiledôneas (Perry & Moens, 2013).

É considerada uma espécie pouco variável tanto citológica como molecularmente (Blok *et al.*, 1997). Do ponto de vista citológico, praticamente todas as populações desse nematoide são diplóides com 42 a 48 cromossomos (Triantaphyllou *et al.*, 1985).

Segundo Santos *et al.* (2012) *M. incognita* apresenta 4 raças fisiológicas, identificadas com base na reação de plantas hospedeiro-diferenciadoras desafiadas com o nematoide, além de fenótipos isoenzimáticos para diferentes isoenzimas como esterase e malato desidrogenase. A raça 1 deste nematoide não se reproduz em fumo, algodão e amendoim; a raça 2 não se reproduz em algodão e amendoim; a raça 3 não se reproduz em fumo e amendoim e raça 4 só não se reproduz em amendoim (Freitas *et al.*, 2006).

Os fenótipos de isoenzimáticos EST-I1 e EST-I2 são os mais frequentemente encontrados (Blok & Powers, 2009). Segundo estudos realizados por Esbenshade & Triantaphyllou (1985), confirmados por Carneiro *et al.* (2004), Castro *et al.* (2003) e Medina *et al.* (2006), o fenótipo de malato-desidrogenase (MDH) N1 é característico de todas as populações estudadas.

Fenótipos de esterase atípicos como S1/N1, S2/N1 e B2/N3 foram caracterizados a partir de pesquisas realizadas no Brasil e em Guadalupe para diferentes culturas, como café, banana, soja e figueira (Castro *et al.*, 2003; Cofcewicz *et al.*, 2004; Carneiro *et al.*, 2005; Medina *et al.*, 2006). Dessa forma, se faz comum o uso da eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) para identificação desses nematoides (Carneiro *et al.*, 2016).

2.3.1.2. *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood (1949)

A espécie de maior importância econômica à cultura do tomateiro é *M. javanica* devido à sua ampla disseminação em áreas produtoras no Brasil (Pinheiro *et al.*, 2014). Trata-se de uma espécie polífaga e predominante em regiões com estações secas bem definidas (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

As fêmeas de *M. javanica* apresentam forma de pêra e os machos apresentam disco labial não elevado e ausência de lábios laterais. Esses nematoides são capazes de se reproduzir em mono e dicotiledôneas (Perry & Moens, 2013), apresentando 4 raças fisiológicas baseadas em

reação de plantas hospedeiro-diferenciadoras desafiadas com o nematoide (Carneiro *et al.*, 2003), apresentando condições poliploide (Triantaphyllou, 1962), raça 1 parasitando fumo, melancia e tomate, raça 2 que parasita além dessas plantas, o pimentão, raça 3 que parasita as mesmas plantas da raça 1 além do amendoim (Rammah & Hirschmann, 1990) e, por fim, raça 4 que infecta fumo, melancia, tomate, pimentão, amendoim, sendo que o algodão se apresenta imune (Carneiro *et al.*, 2003). Normalmente esse nematoide é diplóide com 42 a 44 cromossomos (Freire *et al.*, 2002).

Padrões de esterase e malato desidrogenase já foram descritos para essa espécie, sendo que a maior parte das populações apresenta fenótipos EST-J3 e MDH-N1. No entanto, algumas populações apresentaram perfis J2 e J2a, diferenciando de J3 pela ausência de uma das bandas (Castro *et al.*, 2003; Cofcewicz, *et al.*, 2004).

Essa espécie pode ser facilmente identificada pela configuração da região perineal, com dois campos laterais distintos, claramente demarcados por estrias mais ou menos paralelas. A diagnose tradicional a partir da configuração perineal tem sido substituída pela diagnose molecular com marcadores SCAR e eletroforese de isoenzimas (Carneiro *et al.*, 2016).

Para Ferris & Van Gundy (1979) existem diferentes faixas ótimas de temperatura para *M. javanica*, de acordo com as fases do ciclo de vida. Apesar disso, esses nematoides se adaptam a diversas condições climáticas (Dao, 1970), como por exemplo, na Austrália, a temperatura ótima de desenvolvimento está em torno de 25 a 30 °C, enquanto na Califórnia, entre 32 e 34 °C (Luc *et al.*, 2005). Temperaturas acima de 45°C por períodos superiores a três horas limitam o desenvolvimento desse nematoide (Demeure, 1978).

2.4. CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATOIDES

Vários são os métodos de controle que podem ser empregados no manejo de fitonematoides. Dentre os métodos de controle indicados, o controle químico, mediante o emprego de moléculas com ação nematicida, é o mais danoso ao meio ambiente, além de ser tóxico a animais e ao homem (Dias *et al.*, 2010).

Tendo em vista uma agricultura sustentável, o uso de moléculas químicas está se tornando inviável devido ao seu elevado custo e toxidez. Espera-se o desenvolvimento de novas tecnologias em detrimento ao controle químico e entre elas está o controle biológico (Agrios, 2005).

De acordo com Baker & Cook (1974), controle biológico envolve a ação de um ou mais organismos, resultando na redução de populações de nematoides ou na capacidade dos mesmos se alimentarem ou causar danos em plantas. Segundo os mesmos autores, o controle biológico pode ocorrer de forma natural, pela manipulação do ambiente ou pela introdução de um ou mais organismos antagonistas.

Dentre os organismos antagônicos a nematoides, os mais empregados em agricultura são fungos e/ou bactérias (Stirling, 1991).

Algumas características são essenciais na escolha desses microrganismos como agentes de controle de fitopatógenos, entre elas: não ser patogênico a plantas, seres humanos e outros animais; capacidade de reduzir alta densidade de nematoides; sobreviver no solo em condições extremas, até sem a presença do hospedeiro; parasitar diversas espécies de fitonematoides; alta capacidade de disseminação no solo; facilidade de produção e economicamente viável; compatível com fertilizantes, defensivos e outras práticas culturais; permanecer infectivo ao longo do tempo de armazenamento (Ferraz *et al.*, 2010).

2.4.1. Fungos no controle de fitonematoides

Existem quatro grupos de fungos parasitas de nematoides: endoparasitas, predadores, produtores de metabólitos tóxicos e parasitas de ovos e fêmeas. Os fungos endoparasitas produzem zoósporos que aderem a cutícula do nematoide hospedeiro e se alimentam do conteúdo pseudocelomático. Geralmente esses fungos dependem do parasitismo de nematoides e apresentam fase saprofítica limitada, além de não desenvolverem hifas externas, dificultando sua disseminação no solo (Siddiqui & Mahmood, 1996).

Os fungos predadores produzem armadilhas aos nematoides através, por exemplo, de hifas adesivas e anéis constritores. Apesar disso, a garantia de sucesso desses fungos depende dos nematoides não entrarem nas raízes, da quantidade de matéria orgânica no solo e da suscetibilidade ao antagonismo de outros fungos (Stirling, 1991).

Alguns fungos produzem metabólitos tóxicos aos nematoides, exercendo efeito sobre eclosão, mobilidade e capacidade de penetração dos nematoides no hospedeiro. Também podem alterar a fisiologia da planta, tornando-a menos atrativa ao nematoide (Khan *et al.*, 1984), entre eles, espécies de *Trichoderma*, como *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. asperellum*, *T. atroviride* e *T. longibrachiatum* (Hermosa *et al.*, 2000).

Os fungos parasitas de ovos e fêmeas eliminam grande número de nematoides de uma só vez (Kerry, 1981), colonizando apenas formas imóveis dos patógenos (ovos e fêmeas). Dentre esses fungos destaca-se *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams (sin= *Verticillium chlamydosporium* Goddard).

2.4.1.1. *Pochonia chlamydosporia*

O fungo *P. chlamydosporia* pertence ao grupo dos parasitas de ovos e possui alto potencial em programas de biocontrole de nematoides (Nordbring-Hertz *et al.*, 2002; Manzanilla-López *et al.*, 2013). Seu uso aliado a culturas de cobertura, como algumas

gramíneas, aveia preta e milho, por exemplo, pode reduzir drasticamente a população de nematoides no solo (Dallemole-Giaretta *et al.*, 2011).

Esse fungo libera exoenzimas que são responsáveis pela desintegração parcial da camada vitelínica dos ovos, seguida da penetração da hifa e a dissolução enzimática das camadas de quitina e de lipídios (Manzanilla-López *et al.*, 2013). Além do parasitismo, o fungo inibe diretamente o desenvolvimento embrionário do nematoide, sendo que a liberação de enzimas aumenta a permeabilidade da casca do ovo e facilita a passagem de micotoxinas, impedindo a eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) (Stirling, 1991). O fungo também é saprófita, permitindo seu desenvolvimento sem a presença do patógeno, e ainda produz clamidósporos, estruturas responsáveis pela resistência do fungo no solo e o tempo de prateleira de bioprodutos (Kerry, 2001).

Além da capacidade de redução da produção de ovos dos patógenos nas raízes das plantas, a habilidade desse fungo em produzir clamidósporos durante o cultivo massal em substrato sólido é um dos critérios usualmente utilizados para a seleção de isolados em programas de controle biológico de nematoides (Kerry & Bourne, 2002).

Esses clamidósporos são estruturas responsáveis pela sobrevivência do fungo no solo e, por essa razão, são utilizadas como fonte de inóculo, em detrimento ao micélio e conídios (Mauchline *et al.*, 2004). Alguns estudos avaliam a eficiência de controle desse fungo apenas com a presença de micélio e conídios. Dessa forma, pode-se observar que a incorporação ao solo de grãos de arroz infectados por *P. chlamydosporia* contendo apenas micélio e conídios do fungo é eficiente no controle de *M. javanica*, principalmente em doses superiores a 5g/kg de solo (Dallemole-Giaretta *et al.*, 2014). A temperatura ótima de infecção desse fungo é de 25°C, mas isso pode ser variável dependendo do tipo de isolado (Kerry *et al.*, 1986).

Pochonia chlamydosporia pode ser utilizado com compostos orgânicos a fim de melhorar sua eficiência, possivelmente devido a otimização de carbono e nitrogênio (Luambano *et al.*,

2015). Existem algumas fórmulas comerciais desse fungo, já disponíveis para agricultura, em alguns países, como por exemplo em Cuba e no Brasil (Freitas *et al.*, 2009; Montes de Oca *et al.*, 2009).

2.4.1.2. *Trichoderma* spp.

Além de *P. chlamydosporia*, o uso de fungos do gênero *Trichoderma* tem sido muito estudado para o controle de nematoides. São fungos de vida livre, presentes em muitos ecossistemas de solo e raízes, além de oportunistas, vivendo em simbiose com plantas e como parasitas de outros fungos. Algumas espécies estabelecem grandes colônias de longa duração em superfícies radiculares, podendo penetrar a epiderme das mesmas. A colonização desse fungo em raízes frequentemente reforça o crescimento e desenvolvimento destas, aumentando a resistência a estresses abióticos, a produtividade das culturas e a utilização dos nutrientes (Harman *et al.*, 2004).

Espécies de *Trichoderma* atuam numa temperatura ótima de aproximadamente 25°C, produzindo enzimas que podem ter aplicações industriais, como polissacaridases, proteases e lipases. Na natureza, tais enzimas estão envolvidas na degradação da parede celular de fitopatógenos (Hjeljord *et al.*, 2001).

Várias tentativas têm sido feitas para usar o fungo *Trichoderma* spp. como um agente de controle biológico contra fitonematoides (Sharon *et al.*, 2007; Sahebani & Hadavi, 2008; Sharon *et al.*, 2009; Al-Hazmi & TariqJaveed, 2016). A interação do fungo com o nematoide de cisto da batata, *Globodera rostochiensis* foi demonstrada com efeitos positivos (Saifullah & Thomas, 1996). Também há relatos no controle de *M. javanica* com o uso de *Trichoderma harzianum* e *T. lignorum* (Spiegel & Chet, 1998).

Alguns mecanismos são sugeridos para o controle biológico com *Trichoderma* spp. para o controle de fungos fitopatogênicos, como: antibiose, competição, micoparasitismo e

hidrólise enzimática (Elad, 1995; Sivan & Chet, 1992). Enzimas como quitinases, proteases e glucanases são muito importantes para o processo de micoparasitismo (Haran *et al.*, 1996). Todos os mecanismos, exceto competição, possuem potencial para controle de nematoides. Esse fungo penetra cistos e ovos no interior destes cistos, resultando em morte de juvenis (Khan & Saxena, 1997).

Trichoderma harzianum demonstrou potencial de biocontrole para *M. javanica* em tomates em casa de vegetação (Sharon *et al.*, 2001). Entende-se que as interações estabelecidas entre *Trichoderma* e nematoides podem ocorrer no solo, nas superfícies radiculares (Sharon *et al.*, 2007) e na rizosfera (Harman *et al.*, 2004).

Em relação a *T. asperellum* alguns estudos demonstram sua eficiência no biocontrole de agentes fitopatogênicos, por exemplo, Sharon *et al.* (2001) demonstraram as atividades da estirpe *T. asperellum*-203 no controle de *M. javanica* no solo, além da capacidade de parasitar ovos e J₂.

Atualmente diversos produtos a base de *Trichoderma* são vendidos em formulações comerciais no Brasil. Entre eles, destacam-se o Quality, Trichodermax e Organic WP, ambos a base de *Trichoderma asperellum*, além de Ecotrich WP, Smuticontrol, Predatox e Trichodermil SC 1306, todos a base de *Trichoderma harzianum* (Agrofit, 2017).

2.4.2. Bactérias no controle de fitonematoides

O uso de rizobactérias na supressão de *Meloidogyne* spp. em tomate tem sido frequentemente estudado, principalmente com o uso de bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (Burkett-Cadena *et al.*, 2008; Siddiqui & Mahmood, 1999; Tian *et al.*, 2007).

O uso de *Bacillus methylophilicus* (sin=*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*) apresentou ação efetiva na redução de nematoides para ensaios em casa de vegetação e ensaios *in vitro*, segundo Zhou *et al.* (2016). Antes disso, essa bactéria era utilizada para supressão da

bruzone em arroz, doença fúngica ocasionada por *Magnaporthe oryzae* (Shan *et al.*, 2013). As bactérias afetam os nematoides por dois mecanismos principais de ação: parasitismo obrigatório direto e com efeitos indiretos, apresentando, desse modo, grande potencial nematicida (Tian *et al.*, 2007).

Os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* pertencem ao grupo das bactérias saprófitas. *Bacillus* spp. produzem proteases que destroem a cutícula dos nematoides, confirmando a atividade nematicida (Niu *et al.*, 2006). E algumas espécies de *Pseudomonas*, como *P. fluorescens* (Chao), são capazes de destruir a massa gelatinosa de ovos de nematoides e também diminuir significativamente a eclosão dos juvenis (Tavakol-Norabadi *et al.*, 2013).

Estirpes selecionadas de *Bacillus subtilis* foram relatadas como antagonistas de nematoides formadores de galhas, podendo ser utilizada no manejo de culturas de interesse econômico, visando diminuir o efeito negativo desse patógeno (Li *et al.*, 2005). As endotoxinas produzidas por *B. subtilis* no solo interferem no ciclo reprodutivo dos nematoides, principalmente na oviposição e eclosão de juvenis (Sharma & Gomes, 1996).

Bactérias do gênero *Bacillus* são gram-positivas, aeróbicas e formam endósporos, características de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. Numerosos relatos sugerem que algumas estirpes desse gênero possuem propriedades nematicidas (Kloepper *et al.*, 1992; Krebs *et al.*, 1998; Siddiqui & Mahmood, 1999; Siddiqui, 2002; Li *et al.*, 2005).

De acordo com Xia *et al.* (2011), estirpes de *B. subtilis* (OKB105, 69, B3, FZB42) foram testadas *in vitro* e apresentaram potencial para controle biológico. A estirpe OKB105 apresentou-se com potencial para controle de *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* e *M. arenaria*. Existem relatos de que bactérias desse gênero atuam no crescimento da planta, a partir do efeito inibidor contra patógenos, produzindo substâncias biologicamente ativas ou transformando compostos minerais e orgânicos indisponíveis em formas disponíveis para a

planta (Broadbent *et al.*, 1977). Além disso, entende-se que há um incremento da produção a partir do uso dessa bactéria (Merriman *et al.*, 1974; Turner & Backman, 1986).

2.4.3. Associação de antagonistas para o controle de fitonematoides

O uso de antagonistas em combinação tem sido estudado a fim de aumentar a eficácia e confiabilidade do controle, em vista da ampliação do espectro de ação dos agentes. Além dessas vantagens, a associação de agentes antagonistas afeta mais de um estágio do ciclo de vida do patógeno-alvo, aumenta a consistência de desempenho em ampla gama de condições de solo e tem potencial para selecionar organismos que afetem mais de um patógeno ou praga, aumentando o espectro de uso do produto (Ferraz *et al.*, 2010).

Alguns estudos relatam a associação de fungos e bactérias no controle de doenças. De Leij *et al.* (1992) relataram a eficácia da aplicação conjunta de *P. chlamydosporia*, parasita de ovos e fêmeas, com *Pasteuria penetrans*, parasita de juvenis e inibidora da produção de ovos, para o controle de *M. incognita* em tomateiro.

A aplicação de rizobactérias promotoras de crescimento e fungos antagonistas foram mais eficazes quando usados em conjunto para proteção contra *M. incognita* e para aumentar o crescimento do tomate, do que quando utilizados individualmente (Siddiqui & Akhtar, 2009).

2.5. MANIPUEIRA

2.5.1. Constituintes químicos e orgânicos

A manipueira, palavra oriunda de vocábulo indígena, é um líquido de aspecto leitoso, de cor amarela, que escorre das raízes da mandioca por ocasião da sua moagem e prensagem. É um subproduto ou resíduo da industrialização da mandioca, que, fisicamente, se apresenta na forma de suspensão aquosa e, quimicamente, apresenta-se como uma mistura de amido, glicose

e outros açúcares, sendo composta também por proteínas, glicosídeos cianogênicos e seus derivados, além de substâncias orgânicas diversas e sais minerais, muitos dos quais são fontes de macro e micronutrientes às plantas (Magalhães, 1998).

A mandioca contém quatro glicosídeos cianogênicos. São eles a lotaustralina, o β -glicosídeo de acetonacianidrina, a linamarina e o β -glicosídeo de etil-metil-cetona-cianidrina. Destes, a linamarina é a mais abundante com concentração variando de 92 a 98% em manipueira (Cuzin & Labat, 1992) (Figura 2).

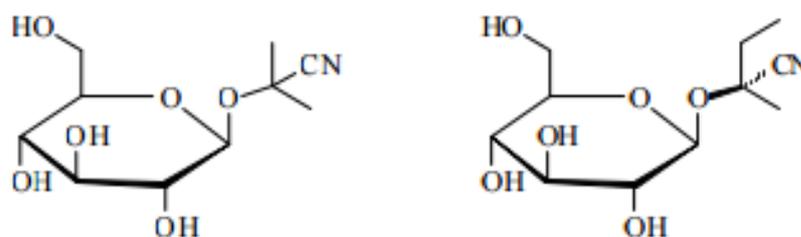


Figura 2. Fórmulas estruturais da linamarina e da lotaustralina, respectivamente. Fonte: Wood, 1966.

Enzimas presentes na planta são responsáveis pela degradação desses compostos, especialmente linamarase, liberando o ácido cianídrico (HCN) e o CN^- , que são os componentes tóxicos. O teor de HCN varia em função do genótipo da mandioca, sendo que as cultivares de mesa são classificadas como mansas (menos de 100 ppm de HCN na polpa crua das raízes), enquanto as intermediárias (100 – 200 ppm) e bravas (mais de 200 ppm) se destinam para farinha e fécula (Lorenzi, 1993).

2.5.2. Toxidez e danos ambientais

A hidrólise dos glicosídeos cianogênicos, como linamarina e lotaustralina, leva à formação de CN^- livre, o qual é volátil e extremamente tóxico a seres vivos em geral. Em mamíferos, o CN^- se liga à hemoglobina do sangue, afetando o sistema nervoso, e inibindo a

cadeia respiratória (Cereda, 2001a). Uma tonelada de mandioca produz cerca de 300 L de manipueira que, quando depositada em lagoas de decantação nas indústrias, forma verdadeiros lagos. Dessa forma uma fecularia que utilize uma tonelada de raízes de mandioca/dia equivale à poluição ocasionada por 200-300 habitantes/dia (Hess, 1962).

O processamento das raízes para fabricação da farinha resulta em alta concentração de matéria orgânica, elevando a Demanda Química de oxigênio (DQO) e a Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) quando despejada em fontes de água natural. Existem relatos de morte de animais que beberam da água aonde ocorreram descargas da manipueira, sendo a morte de peixes fato comum. A manipueira apresenta gosto adocicado pela glicose que contém, sendo muito procurada pelos animais (Fioretto, 1985).

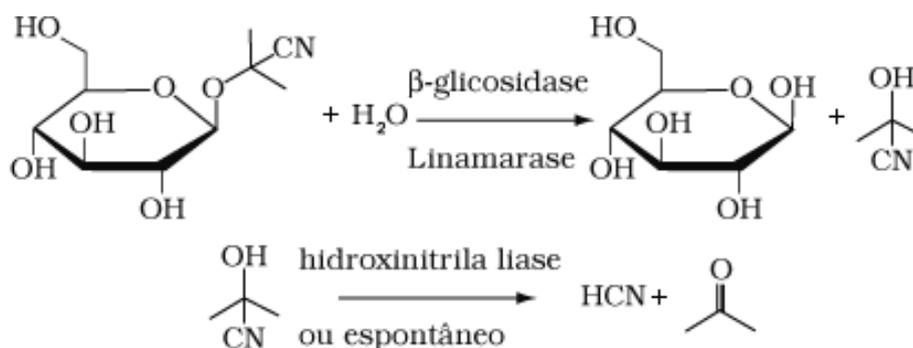


Figura 3. Hidrólise enzimática da linamarina - cianogênese. Fonte: McMAHON *et al.*, 1995.

A poluição ambiental, proveniente da manipueira, restringe-se aos locais de produção, devido a formação de enormes volumes de líquido residual, provocando desequilíbrio ambiental e elevando as condições de insalubridade da população (Santos, 2009).

A liberação de manipueira em fontes de água gera contaminação ambiental, devido à elevada Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) presentes nesse tipo de resíduo. Quanto maiores os valores de DBO e DQO em manipueira, mais elevada é a carga orgânica do efluente, alterando a capacidade de autodepuração de fontes

de água, bem como a sua eutrofização pelo excesso de nutrientes (Wosiacki & Cereda, 2002; Santos, 2009).

O valor médio da DBO encontrada em manipueira varia de 14.000 mg.L⁻¹ até 34.000 mg.L⁻¹ (Fioretto, 1985). Quando se compara a DBO de dejetos orgânicos gerados pela agroindústria da mandioca, com a contribuição normal “per capita” de esgotos domésticos, uma fecularia que processe individualmente uma tonelada de raízes por dia equivale à poluição ocasionada por 150 a 250 hab/dia (Cereda, 2001b).

2.5.3. Aproveitamento do resíduo manipueira

Devido às suas características químicas e orgânicas e sua abundância, a cada 3 kg de raízes de mandioca processadas é gerado 1 litro de manipueira, que tem sido testada para diferentes finalidades (Ponte & Franco, 1981; Ponte *et al.*, 1987; Vieites & Brinholi, 1995).

Embora restrito, a manipueira tem sido usada para a confecção de molhos de pimenta e de tucupi (este no Estado do Pará) e na fabricação da tiquira, bebida alcoólica de consumo praticamente limitada ao Estado do Maranhão (Ponte, 2006). Em larga escala, também pode ser utilizada como matéria-prima para a produção de etanol, sendo necessária a hidrólise e sacarificação do amido presente para obtenção de glicose, pois este carboidrato não é diretamente fermentável. Baixas condições de temperatura de fermentação e com menores percentagens de levedura inoculada são as mais adequadas para a obtenção de destilado alcoólico de manipueira (Suman *et al.*, 2011).

2.5.3.1. Fertilizante

A manipueira pode ser usada em agricultura com fonte alternativa à adubação mineral, incrementando o pH dos solos e elevando os teores de minerais do solo como nitrogênio,

fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro e outros micronutrientes (Cardoso *et al.*, 2009).

Segundo Magalhães *et al.* (2014) o uso de manipueira é uma alternativa de adubação para a cultura do milho, sendo necessária a utilização de doses adequadas para evitar o efeito nocivo de alguns elementos contidos no resíduo. Santos *et al.* (2010) avaliaram o uso da manipueira como fonte de potássio na cultura da alface (*Lactuca sativa* L.) em casa de vegetação. Os resultados sugerem que a utilização de doses adequadas de manipueira aumentou significativamente a quantidade de massa fresca de raiz, além de ganhos com área foliar.

2.5.3.2. Ação nematicida

Os primeiros testes envolvendo a ação nematicida de manipueira foram realizados por Ponte e colaboradores no final de décadas de 70 e anos 80. Os testes iniciais envolveram nematoides indutores de galhas radiculares, especialmente *M. javanica* e *M. incognita* nas culturas do quiabo (Ponte *et al.*, 1979), tomateiro (Ponte & Franco, 1981) e cenoura (Sena & Ponte, 1982). Em todos esses trabalhos houve redução significativa de nematoides no solo e nas raízes das plantas avaliadas.

Trabalhos mais recentes foram realizados por diferentes autores tendo em vista o controle de nematoides. Baldin *et al.* (2012) relataram redução populacional de *M. incognita* em raízes de cenoura e no solo com aplicação de manipueira. No entanto, a cenoura produzida não atendeu às exigências mínimas para comercialização.

Trabalhos realizados por Nasu e colaboradores em tomateiro cultivado em vasos e em campo (Nasu *et al.*, 2010; Nasu *et al.*, 2015) resultaram na redução populacional do nematoide com aplicação de manipueira a 25% e 50% de concentração. Na cultura do figo e café, plantas cultivadas em campo e tratadas com manipueira 25% e 50% tiveram produção superior à testemunha água e manipueira a 10% de concentração (Formentini, 2009; Esteves, 2009).

A ação nematicida de manipueira foi comprovada *in vitro* para outros nematoides como *Scutellonema bradys*, agente causal da casca preta do inhame (Barbosa *et al.*, 2010) e *Tubixaba tuxaua* (Monteiro & Lordelo, 1980; Grabowski *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que fatores como dosagens a serem aplicadas e seus efeitos sobre diferentes patossistemas, bem como a estimativa da concentração mínima letal de cianeto a nematoides e microrganismos ainda não foram determinados (Grabowski, 2007).

2.5.3.3. Ação inseticida

A manipueira também pode ser utilizada em agricultura como inseticida, por exemplo para o controle do pulgão preto (*Toxoptera citricida* Kirkaldy, 1907) na concentração 50mg/ml. Observou-se mortalidade de 100% quando o extrato aquoso foi aplicado via foliar, tendo sido detectada ação translaminar (Gonzaga *et al.*, 2008). Ponte (2006) também avaliaram o efeito da aplicação foliar de manipueira sobre a lagarta-peluda (*Agraulis* spp.) e o pulgão preto dos citros.

A ação biocida da manipueira é causada pela elevada concentração de CN^- e HCN. No entanto, alguns minerais como o enxofre, além do efeito nutricional, apresentam também ação inseticida-fungicida-acaricida, com ótima eficiência quando a concentração atinge ou supera os 200 ppm. Outras substâncias que exercem também ação antifúngica são cetonas, aldeídos, cianalaninas, lectinas e outras proteínas tóxicas, inibidoras de amilases e proteinases, que atuam como ingredientes ativos complementares (Ponte, 2006).

2.5.4. Recomendações à aplicação de manipueira

A manipueira pode ser estocada a temperatura ambiente por um período de três dias, sem prejuízo de sua potencialidade nematicida ou pesticida em geral (Ponte & Franco, 1983). Todavia, em refrigerador (8 a 10°C), o período de estocagem pode estender-se por 60 ou mais

dias, sem que haja fermentação do composto e, por consequência, sem perda dessa potencialidade (Magalhães, 1998).

Quando aplicada ao solo, há a necessidade do revolvimento do mesmo, oito dias após a aplicação, para prevenir efeitos residuais fitotóxicos (Franco, 1986). A diluição em água, na proporção (1:1) é indicada para tornar o composto menos viscoso e, assim, melhorar a sua penetração e ampliar o raio de difusão nos solos. Diluições maiores reduzem a carga tóxica e nutricional. No entanto, diluição 1:4 (25%) também pode ser usada em caso de áreas mais extensas (Nasu *et al.*, 2010).

2.6. INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO CONTROLE DE FITONEMATÓIDES

O uso de resistência sistêmica adquirida (RSA) é uma defesa natural, por se tratar de uma resposta que a planta expressa a uma infecção por patógeno (Ryals *et al.*, 1996). É uma alternativa de longa duração e amplo espectro. Ela é mediada pelo ácido salicílico (AS) e associada com a ativação de genes relacionados a patogênese (Van Loon & Van Strien, 1999). Na cultura do tabaco, por exemplo, a indução de RSA reduziu os sintomas de doenças fúngicas, virais e bacterianas (Vernooij *et al.*, 1995).

Os chamados indutores ou elicitores podem ser substâncias químicas, extratos de plantas ou microrganismos vivos (Benhamou & Bélanger, 1998; Fabry *et al.*, 2007; Franzener *et al.*, 2007; Dias-Arieira *et al.*, 2012). Dentre as vantagens dos indutores sintéticos está a capacidade de evitar a atividade microbiana direta. Os produtos tradicionais, extraídos de plantas são mais seguros ao ambiente, além de reduzirem a pressão de seleção sobre populações de patógenos (Vallad & Goodman, 2004). No entanto Walters *et al.* (2005) demonstraram que tais produtos não estabelecem controle duradouro e completo da infecção.

Os produtos químicos utilizados para ativar mecanismos de resistência incluem fosfitos, ácido salicílico (SA), ácido acetilsalicílico, metil-jasmonato e acibenzolar-S-metil (ASM) (Oostendorp *et al.*, 2001, Salgado *et al.*, 2007, Dias-Arieira *et al.*, 2012).

Atualmente, o ASM é recomendado para aplicações sob forma de pulverizações a diversas culturas, como tomate, citros, trigo, algodão, batata, entre outras (AGROFIT, 2017). Apesar da ação desse produto não ser direta, ou seja, apresentar atividade tóxica sobre fitopatógenos, as plantas tratadas são protegidas contra os patógenos mediante resistência sistêmica adquirida, induzida pelo composto (Ishii *et al.*, 1999).

O acibenzolar-S-metil (ASM), também denominada benzothiazole (BTH) é uma molécula química sintética capaz de induzir a resistência sistêmica adquirida (RSA), por exemplo em trigo no combate ao fungo *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* (Görlach *et al.*, 1996), em tabaco para o controle do vírus TMV, para os fungos *Cercospora nicotianae*, *Peronospora tabacina*, *Phytophthora parasitica* e para a bactéria *Pseudomonas syringae* (Friedrich *et al.*, 1996), em tomate na redução de doenças de pós-colheita (Benhamou & Bélanger, 1998) e por esse motivo, é um dos indutores químicos mais testados contra fitonematoides.

Owen *et al.* (1998) avaliaram o efeito do ASM na indução de resistência contra *M. javanica* e *M. arenaria* em videira. Nesse estudo, foi constatado que o produto aplicado via pulverização foliar, sete dias antes da inoculação, promoveu reduções de 40 a 80% no número de galhas e ovos em relação à testemunha. A resposta de defesa da planta foi verificada pelo aumento significativo na atividade de β -1,3-glucanases em raízes de plantas tratadas cinco dias após a aplicação desse indutor.

O ASM mostrou-se eficaz no controle de populações mistas de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* em cana-de-açúcar (Chaves *et al.*, 2004), porém este efeito não foi eficiente em trabalhos posteriores, como demonstrado por exemplo, por Chaves e colaboradores (2012) tornando necessário maiores estudos envolvendo esse indutor de resistência no controle desses

fitonematoides em cana de açúcar. Segundo Puerari *et al.* (2015) essa molécula foi eficiente no controle de *P. brachyurus* em cultivares suscetíveis de milho, sob condições controladas.

Uma única aplicação de ASM reduziu *M. javanica* e *Rotylenchulus reniformis* em feijão caupi e soja em casa de vegetação. Os tratamentos que receberam ASM atrasaram o desenvolvimento e reduziram a taxa de fecundação de *M. javanica*, justificando então a redução da reprodução (Chinnasri *et al.*, 2006). Além disso, a aplicação dessa molécula reduziu a incidência de murcha bacteriana em tomateiros moderadamente resistentes (Pradhanang *et al.*, 2005).

No patossistema *M. incognita*-tomateiro, a aplicação prévia do ASM antes da inoculação promoveu reduções significativas no número de galhas, massas de ovos e ovos/g raiz em relação ao controle. Nesse estudo, o produto possivelmente interferiu na formação de células gigantes, por meio de alguma proteína essencial à formação destas, o que afetou a reprodução do nematoide (Silva *et al.*, 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área experimental

Foram conduzidos dois ensaios em casa de vegetação da Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, Gleba C. As avaliações foram realizadas no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília.

3.2. Origem e multiplicação de *M. incognita* e *M. javanica*

O inóculo de *M. javanica* foi cedido pela Embrapa Hortaliças (Dr. Jadir Borges Pinheiro) e o de *M. incognita* foi obtido de uma população isolada de raízes de banana e multiplicado em vasos com tomateiros da cultivar Santa Cruz, cedido pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Dr. Dilson Cunha Costa).

Os inóculos iniciais foram reproduzidos em tomateiros cv. Santa Clara, semeados em bandejas com substrato Plantmax e transplantados para sacos plásticos de 2L com mistura de terra, substrato e areia esterilizados na proporção 1:1:1. Os tomateiros inoculados foram mantidos por 3 meses em casa de vegetação. O manejo dos tomateiros em casa de vegetação envolveu adubação com NPK 4-14-8 por ocasião do transplante e manejo de pragas (inseticidas e acaricidas) e de doenças (fungicidas).

3.3. Identificação de *M. incognita* e *M. javanica*

Fêmeas individuais de coloração branco-leitosa de ambas populações de *Meloidogyne* foram extraídas de raízes de tomateiro para identificação. Utilizou-se a técnica eletroforese de isoenzimas (Alonso & Alfenas, 1998) para obtenção do fenótipo das esterases. Fêmeas de *Meloidogyne* foram maceradas em 10 µl de solução extratora (constituída por 2 g de sacarose, 0,2 µl de Triton X-100, 1 mg de azul de bromofenol e 7,8 ml de água destilada). Até o momento

da utilização, o extrato foi mantido em gelo. A corrida eletroforética foi realizada em aparelho vertical modelo LCV – 10 x 10 NC (Loccus do Brasil), com gel de poliacrilamida na concentração de 7,5%, seguindo metodologia descrita por Esbenshade & Triantaphyllou (1990), adaptada por Alonso & Alfenas (1998). O gel foi corado em solução contendo os corantes Fast Blue RR e α -naftil acetato e o padrão de bandas fotodocumentado.

A caracterização bioquímica de *Meloidogyne* spp. foi feita utilizando o padrão de esterase de *M. javanica*. Os padrões de banda são baseados na Mobilidade Relativa (Rm) de cada fêmea individual em relação às bandas padrão de *M. javanica* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990; Carneiro & Almeida, 2001; Cofcewicz *et al.*, 2004; Carneiro & Cofcewicz, 2008).

3.4. Extração de ovos de raízes de tomateiros para inoculação

Para a extração de ovos e J₂ de *M. incognita* e *M. javanica* utilizou-se a metodologia de Hussey & Baker (1973) com modificações. A parte aérea dos tomateiros foi separada do sistema radicular e as raízes lavadas, seccionadas em partes e trituradas em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5%, sob baixa rotação por 30 segundos. A solução foi passada em peneiras de 60, 150 e 500 mesh. O conteúdo da peneira de 500 mesh foi lavado com água para eliminar todo o hipoclorito de sódio e logo em seguida, recolhido em béquer e quantificado em microscópio de luz marca Nikon, Modelo Eclipse E200, em objetiva de 40x para posterior inoculação. Foram realizadas duas contagens, com auxílio da lâmina de contagem contendo 2 ml da solução e, a partir da média, calibrado a fim de conter 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio.

3.5. Instalação dos ensaios

3.5.1. Semeadura, transplântio e manejo de tomateiros cv. Santa Cruz Kada

Sementes de tomateiro cv. Santa Cruz Kada, tratadas com Captan 500 WP, foram semeadas em bandejas com substrato estéril Plantmax. Trinta dias após a sementeira, mudas individuais de tomateiro foram transplantadas para sacos plásticos de 5 L, contendo 3 L de substrato estéril composto por terra, areia e Plantmax na proporção 1:1:1. Durante o ensaio foram realizadas duas adubações com 4 g de NPK 4-14-8 por planta, sendo a primeira no transplântio e a segunda no início da floração. A temperatura variou de 15 a 40 °C e a umidade do ar foi de aproximadamente 80%. Foram realizadas irrigações diárias, com auxílio de um regador, sendo aplicado uma quantidade de água suficiente para atingir 60% da capacidade de campo do vaso.

Durante o período experimental, os tomateiros foram tratados com soluções fungicidas para o controle de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary e também de oídio. Além disso, foram feitas inspeções semanais para o manejo de pragas como ácaros, cochonilhas e pulgões. Os fungicidas foram aplicados seguindo a dosagem do fabricante, sendo aplicados num intervalo de dez dias após a detecção da doença.

3.5.2. Delineamento experimental

Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 10 tratamentos tanto para *M. incognita* quanto *M. javanica* (Tabela 1), ambos com 5 repetições. Esses ensaios foram conduzidos em casa de vegetação em período compreendido entre maio a setembro de 2016.

Utilizou-se como testemunha positiva tomateiro com inóculo e como testemunhas negativas o tratamento com nematicida Rugby e tomateiro não inoculado.

Tabela 1. Tratamentos utilizados no controle de *M. incognita* e *M. javanica* em casa de vegetação.

Nº	Tratamento	Ingrediente ativo	Dose	Dose/planta	Volume calda/planta
01	Testemunha Água - sem inóculo	-----	-----	200 ml	250 ml
02	Manipueira 50% - sem inóculo	Ácido cianídrico e CN ⁻	Diluição 1:1	150 ml	250 ml
03	Testemunha Água - com inóculo	-----	-----	200 ml	250 ml
04	Rizotec (5,2x10 ⁷ UFC/ml)	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	2 kg/ha	0,96 g	250 ml
05	Rizotec + Manipueira 50%	<i>Pochonia chlamydosporia</i> + Ácido cianídrico e CN ⁻	-----	0,96 g + 150 ml	500 ml
06	Onix SC (1x10 ⁹ UFC/ml) + Quality WG (1x10 ¹⁰ UFG/g)	<i>Bacillus methylotrophicus</i> + <i>Trichoderma asperellum</i>	4 L/ha e 100 g/ha	1 ml + 10ml	250 ml
07	Onix + Quality + Manipueira 50%	<i>Bacillus methylotrophicus</i> + <i>Trichoderma asperellum</i> + Ácido cianídrico e CN ⁻	-----	1 mL + 10mL + 150 ml	500 ml
08	Bion 500 WG	S-methyl benzo[1,2,3]thia diazole-7-carbotiólico	3 g/100L (via foliar)	0,3 g/L (via foliar)	10 ml (via foliar)
09	Bion 500 WG + Manipueira 50%	S-methyl benzo[1,2,3]thia diazole-7-carbotiólico + Ácido cianídrico e CN ⁻	-----	0,3g/L (via foliar) + 150ml (via solo)	10ml (via foliar) + 250 ml (via solo)
10	Rugby 200 CS	Cadusafós	15 L/ha	1 mL	250 ml

3.5.3. Inoculação de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiro

Foram inoculados 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J₂) em ambos os ensaios. Os tomateiros foram transplantados com 30 dias de idade da sementeira para os vasos e foram inoculados com 45 dias de idade, ou seja, 15 dias após o transplante, quando as plantas apresentavam 4 pares de folhas. O inóculo foi aplicado com auxílio de uma micropipeta (5 ml),

aplicando-se 1 ml por orifício distante 5 cm do caule. Esses orifícios foram abertos utilizando palito de madeira, sendo trocados a cada tratamento.

3.6. Manipueira

3.6.1. Coleta

A manipueira utilizada nos ensaios foi coletada na Fecularia Panero, localizada no município de Nerópolis, Estado de Goiás. Foi realizada uma coleta de manipueira, 30 dias após a inoculação dos nematoides nos ensaios, antes da liberação da mesma para as “lagoas de estabilização”. Após a coleta, a amostra de manipueira foi armazenada em um galão de 20 litros, vedado com tampa própria e mantido em temperatura ambiente até o momento de sua aplicação.

3.6.2. Quantificação de cianeto

A determinação de cianeto livre (CN^-) em manipueira foi realizada com o uso do Kit Quantofix Cyanid, marca Macherey-Nagel (Germany). A avaliação foi realizada no mesmo dia da coleta da amostra. Retirou-se uma alíquota de 1 ml da amostra coletada e diluiu-se 10x. Da amostra diluída, retirou-se 5 ml para a quantificação. Adicionou-se 1 colher de pó da solução 1 (CN^{-1}) ou solução tampão e 5 gotas de solução 2 (CN^{-2}). Após a adição das soluções 1 e 2, a amostra foi homogeneizada lentamente e a tira de teste imersa na amostra por 45 segundos. Após esse tempo, retirou-se a tira, eliminou-se o excesso de líquido e fez-se a leitura em escala colorimétrica fornecida.

3.6.3. Análise química

Após a coleta, a manipueira foi levada ao Laboratório Agropecuário SOLOCRIA, localizado no município de Goiânia, Goiás. Realizou-se análise de macronutrientes, micronutrientes e pH.

3.7. Análise Química e Física do solo antes e após a aplicação de Manipueira

O solo utilizado nos ensaios em casa de vegetação foi analisado pelo Laboratório Agropecuário SOLOCRIA, Goiânia, Goiás, com relação às características físicas e químicas. Após a obtenção dos valores, retirou-se a média dos tratamentos Testemunha com água e Manipueira 50%, ambos sem inóculo, e então procedeu-se com o teste T para comparação das médias.

3.8. Aplicação dos tratamentos

Durante o período experimental, todos os produtos biológicos e o indutor de resistência foram mantidos em câmara fria a uma temperatura de 4 °C. As doses dos produtos foram preparadas no Laboratório de Nematologia - UnB, depositadas em recipientes com tampa e levadas à Estação Experimental de Biologia para diluição e aplicação.

A aplicação dos produtos biológicos e nematicida Rugby foi realizada uma semana após o transplântio das mudas de tomateiro de bandejas para sacos plásticos. Todos os produtos biológicos e o nematicida foram diluídos em água para posterior aplicação, sendo que o volume aplicado foi de 200 ml de calda por produto.

O produto Bion 500 WG foi aplicado um dia antes da inoculação, de acordo com Puerari *et al.* (2013). Cada planta recebeu 10 ml de solução via pulverização foliar com auxílio de borrifador. Com o intuito de favorecer a aderência do produto nas folhas, foi adicionado 1ml do adjuvante foliar Disperse Ultra (Ubyfol).

A manipueira utilizada foi diluída em água na concentração 1:1 aplicando-se 300 ml de calda por planta/saco plástico. A aplicação da manipueira foi realizada 30 dias após a inoculação dos nematoides via rega no solo.

Os tratamentos foram aplicados uma única vez, sendo alguns por ocasião do transplântio e outros após a inoculação.

3.9. Avaliações

A avaliação do ensaio com *M. javanica* foi iniciada com 67 dias e a de *M. incognita* com 80 dias. Para ambos ensaios se avaliou as seguintes variáveis: a) massa fresca de raiz; b) índice de galhas e de massas de ovos; c) total de ovos por raiz; d) nematoides/grama de raiz; e) Fator de Reprodução. Os valores de massa fresca foram estimados em balança eletrônica, marca Even, modelo BL-1200AS-BI. Após a pesagem, raízes de tomateiro foram imersas por 10 minutos em solução de fucsina ácida e posteriormente lavadas em água corrente para eliminar o excesso de corante. O corante foi preparado diluindo-se 3,5g de fucsina ácida em 250 ml de ácido acético (99,7%) e 750 ml de água destilada (Byrd *et al.*, 1983). A contagem de massas de ovos e de galhas foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópio binocular marca Leica, modelo MZ 7.5 (Alemanha) e os índices obtidos de acordo com escala proposta por Taylor & Sasser (1978).

A estimativa do total de ovos por raiz de tomateiro foi realizada inicialmente conforme descrito no item 3.4. Em seguida, essa suspensão foi transferida para tubos de centrífuga de 9 ml e centrifugado a fim de eliminar resíduos de raiz. Numa primeira centrifugação, utilizou-se rotação de 3.500 rpm por 5 minutos, eliminou-se o sobrenadante e adicionou-se solução de sacarose 50%. Então essa solução foi levada a uma segunda centrifugação, com rotação de 1.500 rpm por 2 minutos. O sobrenadante em questão foi recolhido numa peneira de 500 mesh e armazenada em béqueres. As amostras foram submetidas a temperatura de 60 °C por 1 minuto para morte dos nematoides e posteriormente armazenadas com solução de Golden 2x. A quantificação de ovos e J₂ foi realizada com auxílio de microscópio de luz, marca Nikon, modelo Eclipse E200. O fator de reprodução (FR) foi determinado pela razão entre a população final (Pf) e a população inicial (Pi), segundo Oostenbrink (1966). A porcentagem de redução do FR foi calculada considerando a testemunha positiva (Tratamento água com inóculo) como

0% de redução e obtendo a redução dos demais tratamentos inoculados comparando com o valor do FR dessa testemunha.

3.10. Análise estatística

Foram realizados testes de normalidade, análise de variância, testes de diferença de médias e testes de agrupamento de médias pelo programa estatístico Assistat (Silva & Azevedo, 2016). Dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados para $x = \sqrt{x}$ e resubmetidos ao teste de normalidade. Uma vez obtida a distribuição normal, os dados foram submetidos à análise de variância e teste Scott-Knott a 5% de probabilidade para agrupamento de médias.

4. RESULTADOS

As populações de *M. incognita* e *M. javanica* utilizadas neste estudo apresentaram fenótipo EST-I1 para *M. incognita* e EST-J3 para *M. javanica* (Figura 4).

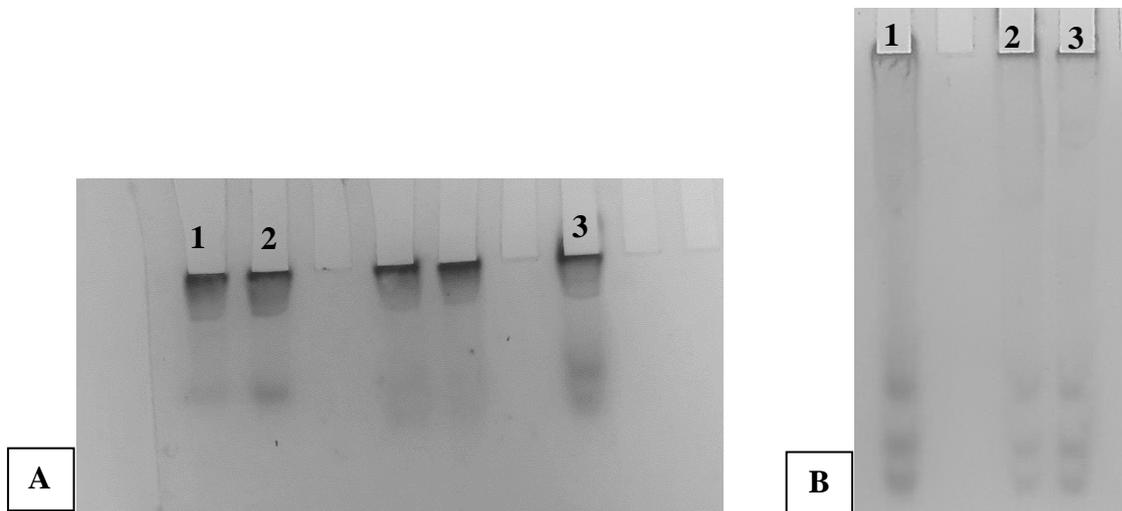


Figura 4. A) 1 e 2 - Fenótipo I1 de esterase (EST) de população de *M. incognita*; A) 3 – Padrão com *M. javanica*; B) 1 - Padrão com *M. javanica*; B) 2 e 3 - Fenótipo J3 de população de *M. javanica*.

4.1. COMPOSIÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO SOLO

O solo utilizado nos ensaios apresentou 32,3% g de argila, 8,7% de silte e 59% de areia. A incorporação de manieira 50% ao solo, em comparação com o solo de vasos tratados somente com água, causou diferença significativa nos níveis de diferentes nutrientes. A adição de manieira resultou em aumento significativo nos teores de K^+ , redução nos teores de Al^{3+} , aumento na saturação de bases e na relação K^+/CTC (Tabela 2). Não houve diferença significativa para os demais nutrientes do solo.

Tabela 2. Análise química de solo em parcelas sem tratamento e tratadas com manipueira 50%.

UNIDADE	NUTRIENTES	AMOSTRAS	
		Testemunha	Manipueira 50%
cmol/dm ³ (mE/100ml)	Ca ²⁺	7,43 a	7,32 a
	Mg ²⁺	1,93 a	1,90 a
	Al ³⁺	0,13 a	0,00 b*
	H ⁺ +Al ³⁺	4,23 a	3,10 b*
	K ⁺	0,44 a	0,93 b*
mg/dm ³ (ppm)	K ⁺	171,67 a	372,33 b*
	P (Melich)	99,33 a	133,33 a
mg/dm ³ (ppm)	Zn ⁺²	17,40 a	18,43 a
pH em CaCl ₂	pH	4,73 a	4,97 a
Relação	CTC	14,04 a	13,52 a
	Ca/Mg	3,90 a	3,83 a
	Sat. Bases	69,66 a	76,67 b*
	Sat. Al	1,31	-
	(%)	Ca/CTC	52,78 a
	Mg/CTC	13,71 a	14,35 a
	K/CTC	3,17 a	7,42 b*
	H+Al/CTC	30,34 a	23,78 b*
g/dm ³	Mat. Org.	35,67 a	43,33 a
	Carbono	20,69 a	24,82 a

* Teste T de comparação de médias, comparando 3 amostras da Testemunha e 3 amostras do tratamento Manipueira 50% somente com água sem inóculo, obtendo diferença significativa para Al³⁺, H⁺+Al³⁺, K⁺, Saturação de Bases, K/CTC e H+Al/CTC.

4.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MANIPUEIRA

Dentre os macronutrientes detectados, os que apresentaram maiores valores foram potássio e nitrogênio, seguidos de magnésio, fósforo, cálcio e enxofre. Dentre os micronutrientes, ferro e cobre foram os mais abundantes seguidos de manganês e zinco. Foram

detectados também cobalto, molibdênio e boro, mas não sódio. O pH foi de 5,40 e a concentração de CN⁻ foi em torno de 30 ppm (Tabela 3).

Tabela 3. Composição química de manipueira coletada para este estudo na Fecularia Panero (GO) em comparação com a de outras fontes da literatura.

Nutrientes (mg.L⁻¹)	Fecularia Panero*	Cereda (1994) **	Barana (2000) **	Fernandes Jr. (2001) **	Duarte (2012) **
Potássio	2.800,0	1.863,0	1.972,0	2.810,0	1.977,0
Fósforo	330,0	160,0	325,0	250,0	740,0
Cálcio	250,0	227,0	838,0	200,0	240,0
Magnésio	360,0	405,0	326,0	290,0	360,0
Enxofre	150,0	195,0	60,0	78,0	-
Nitrogênio	1.700,0	4.900,0	1.242,0	2.000,0	980,0
Sódio	-	-	-	-	-
Zinco	0,03	4,0	32,5	3,0	2,60
Manganês	0,03	3,7	2,2	3,3	2,80
Cobre	0,07	1,1	3,1	1,2	20,0
Ferro	0,10	15,3	12,4	7,0	10,0
Cobalto	0,001	-	-	-	-
Molibdênio	0,002	-	-	-	-
Boro	0,003	-	-	-	-
CN⁻	30	-	-	-	-
pH H₂O	5,40	-	-	-	4,08

* Amostra de manipueira retirada da Fecularia Panero (Município de Nerópolis/Goiás); ** Literatura consultada.

4.3. EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS SOBRE *M. INCOGNITA* E *M. JAVANICA* EM TOMATEIRO

A massa fresca de raízes de tomateiros inoculados com *M. incognita* foi significativamente superior à massa de raízes não inoculadas. Para *M. javanica*, a massa radicular de tomateiros inoculados não se diferenciou da massa radicular de tomateiros não inoculados, com exceção ao tratamento 9 (Bion 500 WG + Manipueira 50%) que foi

significativamente inferior em massa. Não houve diferença significativa entre as testemunhas sem inóculo, tratamentos 1 (água) e 2 (Manipueira 50%), indicando que não houve indução de crescimento radicular pela aplicação de manipueira (Figura 5).

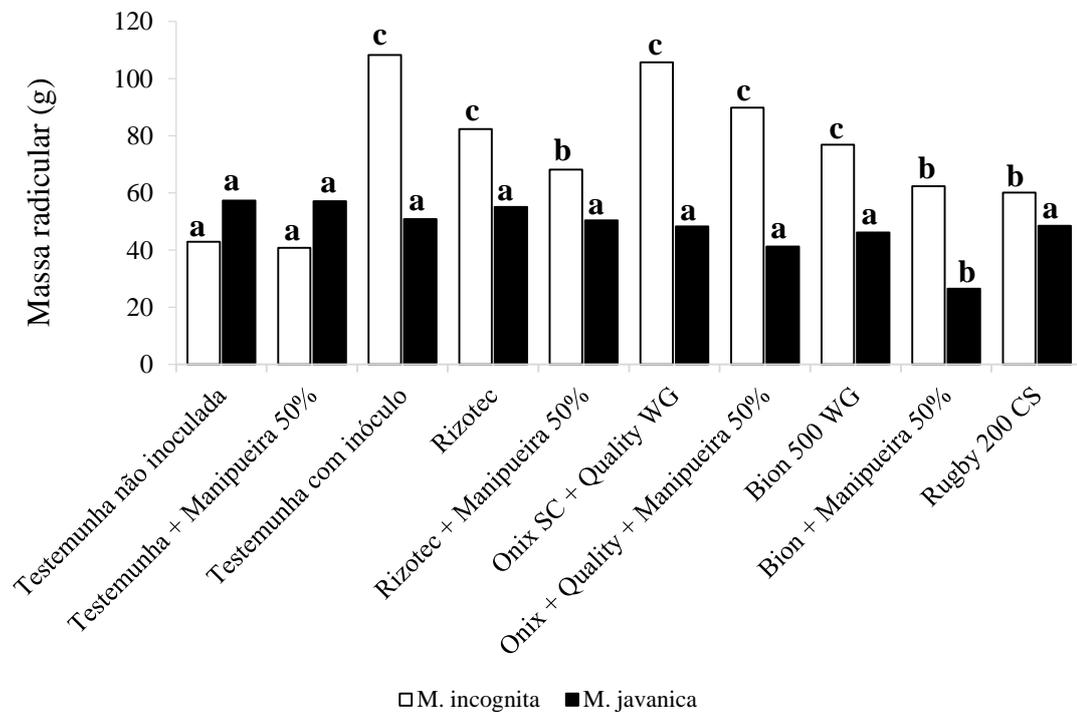


Figura 5. Massa radicular de tomateiros inoculados com *M. incognita* e *M. javanica* sob diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{x}$. CV (%) para *M. incognita* 13,10 e 11,25 para *M. javanica*.

A análise de ambos os ensaios em conjunto (Figura 6) demonstrou que as testemunhas não inoculadas e o nematicida Rugby 200 CS apresentaram uma menor massa de raízes quando comparados aos demais tratamentos.

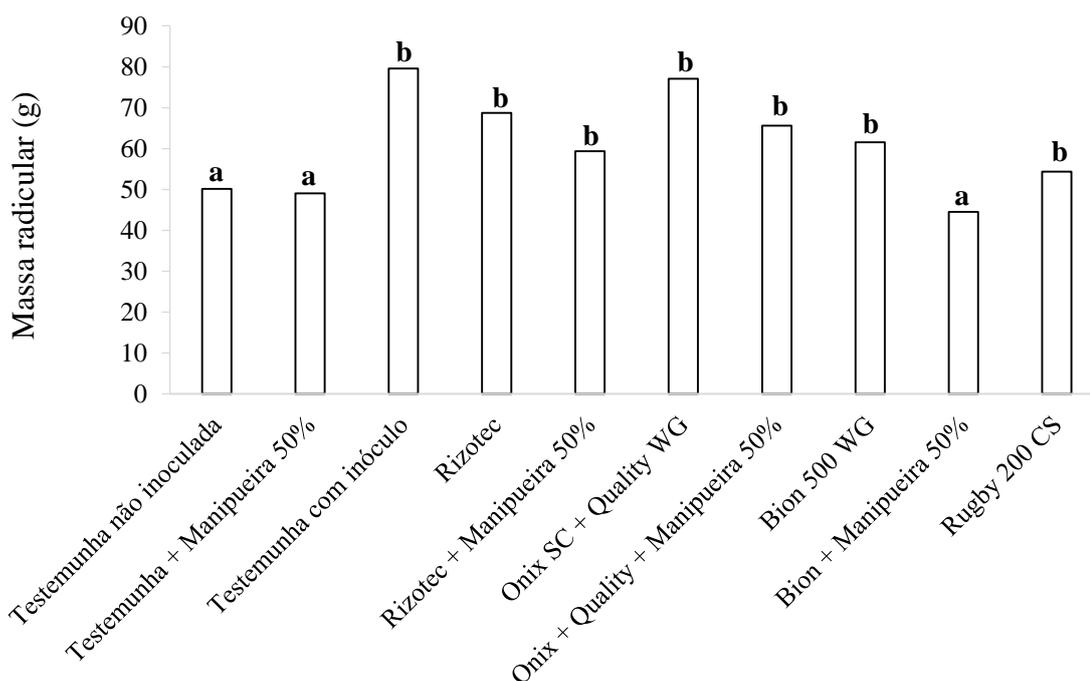


Figura 6. Análise conjunta da massa radicular de tomateiros inoculados com *M. incognita* e *M. javanica* sob diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{x}$ e o CV (%) foi de 18,18.

Não houve infecção por *M. incognita* e *M. javanica* nos tratamentos sem inoculação (água e manipueira 50%), demonstrando que não houve contaminação das testemunhas não inoculadas.

Houve redução significativa de ovos de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiros tratados com Rugby 200 CS (10), em relação à testemunha inoculada e aos demais tratamentos. As testemunhas inoculadas apresentaram as mais elevadas taxas de infecção demonstrando a viabilidade dos inóculos de ambos nematoides (Figura 7).

Para o ensaio com *M. incognita*, não houve diferença significativa entre os tratamentos Rizotec, Rizotec + manipueira 50%, Onix SC + Quality WG, Onix + Quality + manipueira 50%, Bion 500 WG e Bion + manipueira 50%, os quais apresentaram taxas intermediárias de

infecção, inferiores à testemunha e superiores ao tratamento nematicida (Rugby 200 CS) (Figura 7).

Para o ensaio com *M. javanica*, os tratamentos Rizotec e Onix SC + Quality WG não apresentaram diferença significativa para a testemunha inoculada. Os demais tratamentos apresentaram taxa de infecção intermediária, ou seja, inferior à testemunha inoculada e superior ao tratamento nematicida (Rugby 200 CS) (Figura 7).

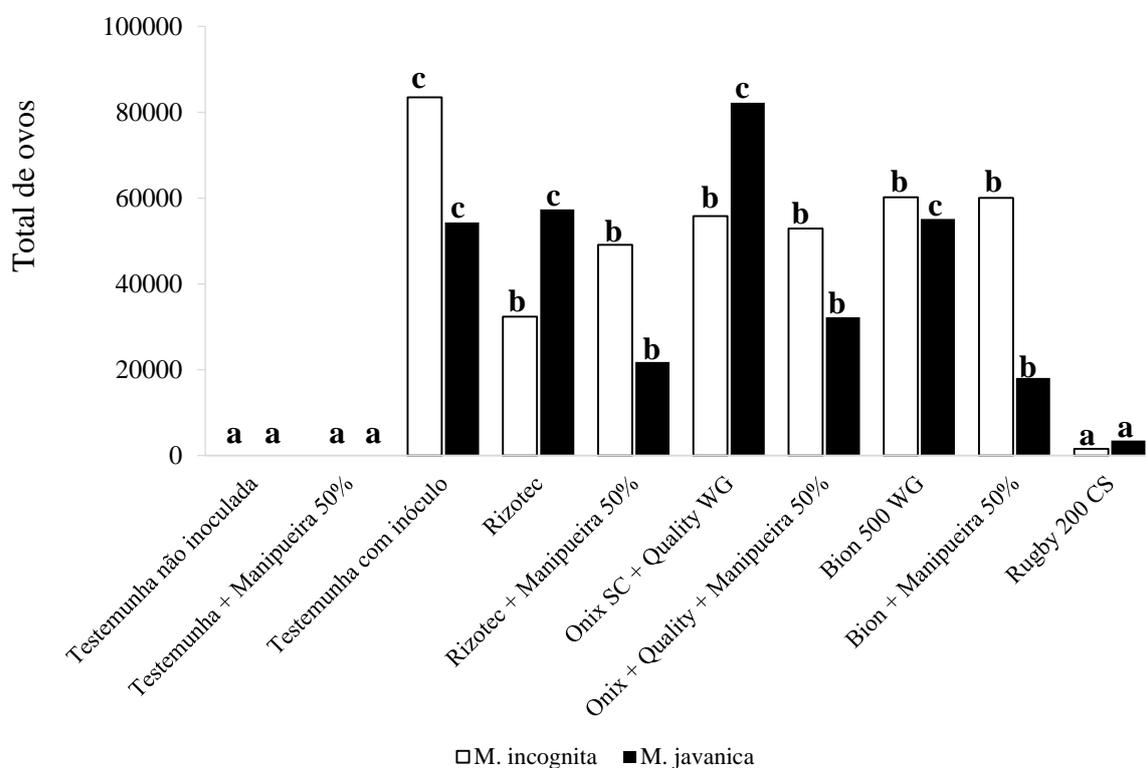


Figura 7. Total de ovos por sistema radicular de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiros submetidos a diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{x}$. CV (%) para *M. incognita* 28,31 e 41,11 para *M. javanica*.

A análise conjunta dos dados incluiu Bion 500 WG e Onix SC + Quality WG como tratamentos que não se diferenciaram da testemunha inoculada, enquanto as testemunhas não inoculadas não se diferenciaram do nematicida Rugby 200 CS, mas sim em relação aos demais

tratamentos. Os tratamentos que apresentaram taxa reprodutiva intermediária foram Rizotec, Rizotec + manipueira 50%, Onix + Quality + manipueira 50% e Bion + manipueira 50% (Figura 8).

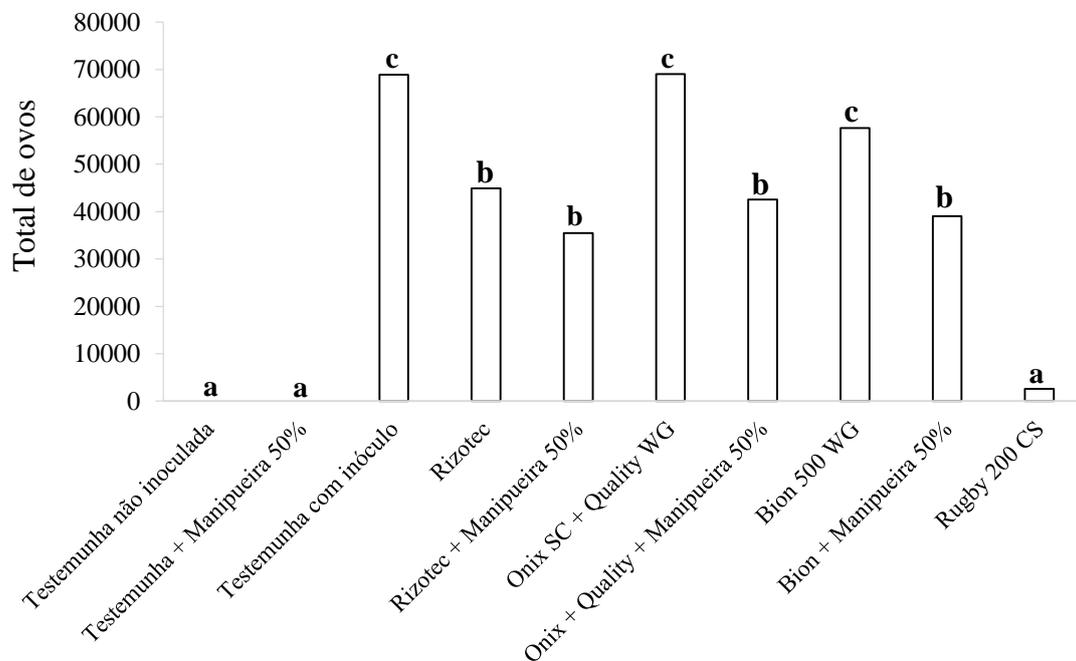


Figura 8. Análise conjunta do total de ovos por sistema radicular produzidos por *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiros sob diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{x}$ e o CV (%) foi de 37,79.

Para a variável ovos/grama de raiz, não houve diferença significativa entre a testemunha inoculada e os demais tratamentos, exceção para o tratamento nematicida que não apresentou diferença significativa apenas com relação às testemunhas sem inóculo (Figura 9). A análise conjunta dos dados, de ambos os nematoides, inferiu no mesmo resultado.

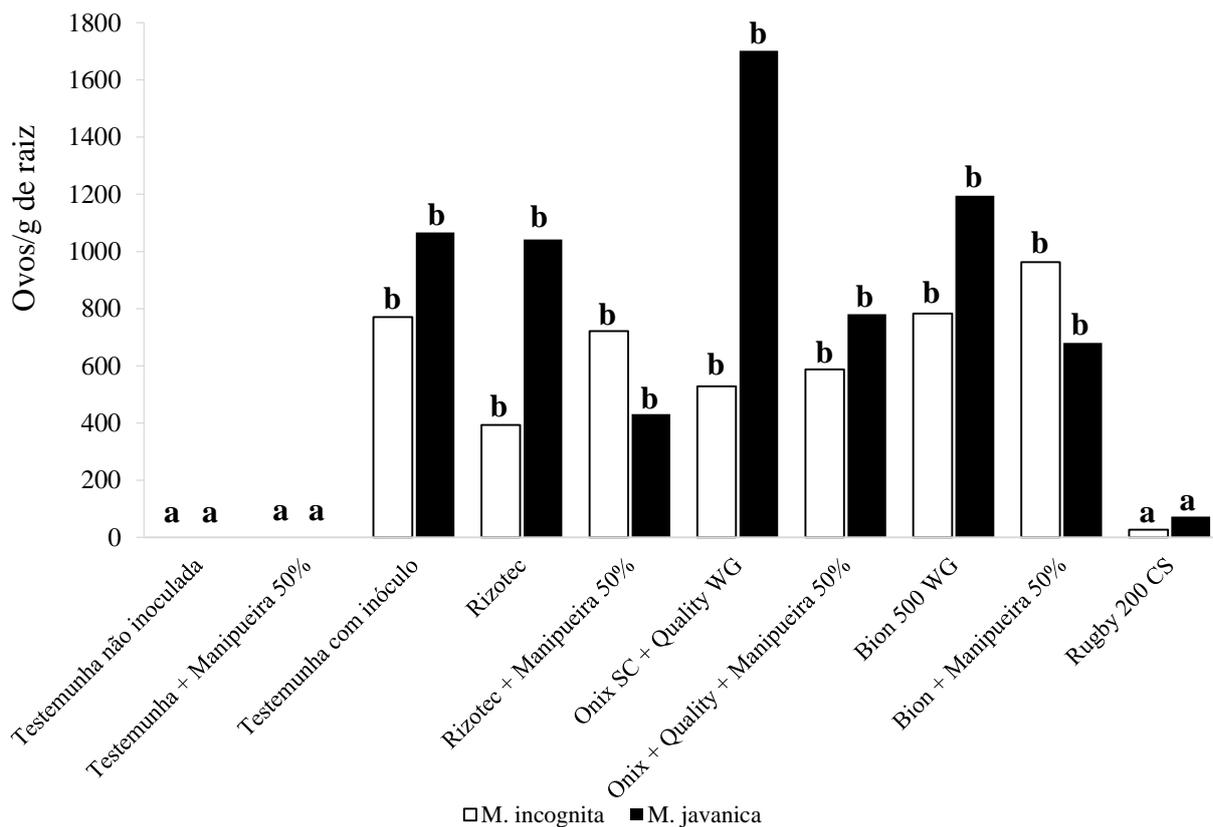


Figura 9. Média de ovos por grama de raiz em tomateiros inoculados com *M. incognita* e *M. javanica* sob diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{(x)}$. CV (%) para *M. incognita* 28,44 e 39,76 para *M. javanica*.

As testemunhas inoculadas apresentaram Fator de Reprodução (FR) de 16,7 para *M. incognita* e 10,9 para *M. javanica* demonstrando que a população de *M. incognita* gerou um nível populacional mais elevado que a de *M. javanica*.

Para *M. incognita*, houve redução do Fator de Reprodução de todos tratamentos em relação a testemunha inoculada. O FR para tomateiros tratados com Rugby foi 0,32, seguido de Rizotec (FR= 6,48), Rizotec + manipueira 50% (FR= 9,83), Onix + Quality + manipueira 50% (FR = 10,58), Onix SC + Quality WG (FR= 11,17), Bion + manipueira 50% (FR= 12,01) e Bion 500 WG (FR=12,72) (Figura 10).

Para *M. javanica*, os tratamentos Rizotec (FR= 11,48), Onix SC + Quality WG (FR=16,45) e Bion 500 WG (FR=11,03) apresentaram FR superior à testemunha inoculada. Houve redução do FR para tomateiros tratados Rugby 200 CS (FR= 0,70), seguido de Bion + manipueira 50% (FR= 3,62), Rizotec + manipueira 50% (FR= 4,36) e Onix + Quality + manipueira 50% (FR=6,45) (Figura 10).

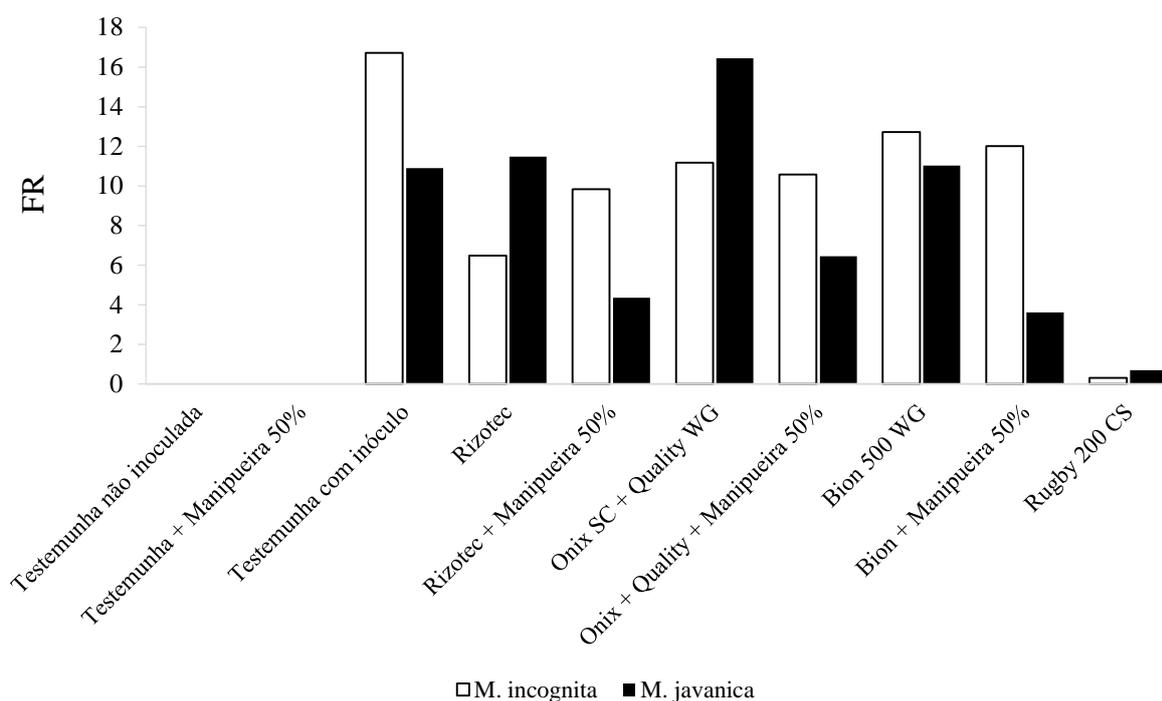


Figura 10. Fator de Reprodução de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiros sob diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{x}$. CV (%) para *M. incognita* 26,75 e 41,05 para *M. javanica*.

A análise conjunta dos dados relativos ao FR, de ambos os nematoides, permitiu a separação dos tratamentos em três grupos distintos: Grupo 1: Testemunhas não inoculadas e nematicida Rugby 200 CS sem FR ou com FR bem baixo (FR de 0 a 0,51); Grupo 2: Tratamentos Rizotec, Rizotec + manipueira 50%, Onix + Quality + manipueira 50% e Bion +

manipueira 50% com FR intermediário (FR de 7,09 a 8,98); Grupo 3: Testemunha inoculada juntamente com Onix SC + Quality WG e Bion 500 WG (FR de 11,87 a 13,80) (Figura 11).

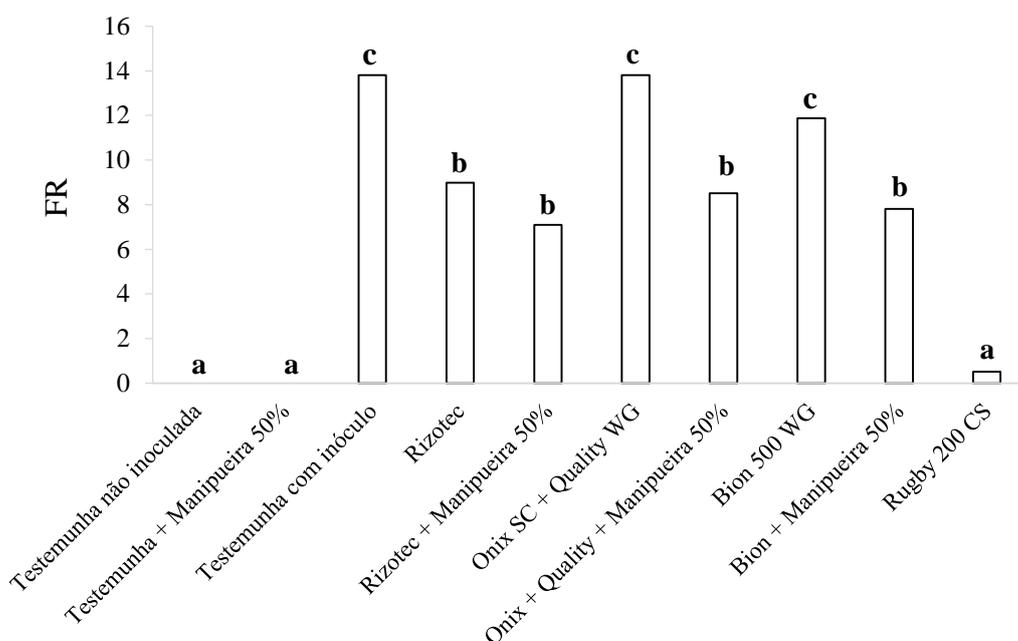


Figura 11. Análise conjunta do FR de *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiros sob diferentes tratamentos. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram transformados para $x = \sqrt{x}$ e o CV (%) foi de 36,80.

Para ambos os ensaios, o tratamento nematicida causou a maior porcentagem de redução do FR em relação à testemunha, 98,08% para *M. incognita* e 93,58% para *M. javanica*. Para *M. incognita*, a segunda maior porcentagem de redução foi obtida com o produto Rizotec (61,22%), seguido do tratamento Rizotec + Manipueira 50% (41,17%), Onix + Quality + Manipueira 50% (36,38%), Onix SC + Quality WG (33,15%), Bion + Manipueira 50% (28,13%) e Bion 500 WG (23,89%) (Figura 12).

Para *M. javanica* o produto Bion + Manipueira 50% reduziu o FR em relação à testemunha com inóculo em 66,79%, seguido do tratamento Rizotec + Manipueira 50%, com redução de 60% e o tratamento Onix + Quality + Manipueira 50% (40,83%) (Figura 12).

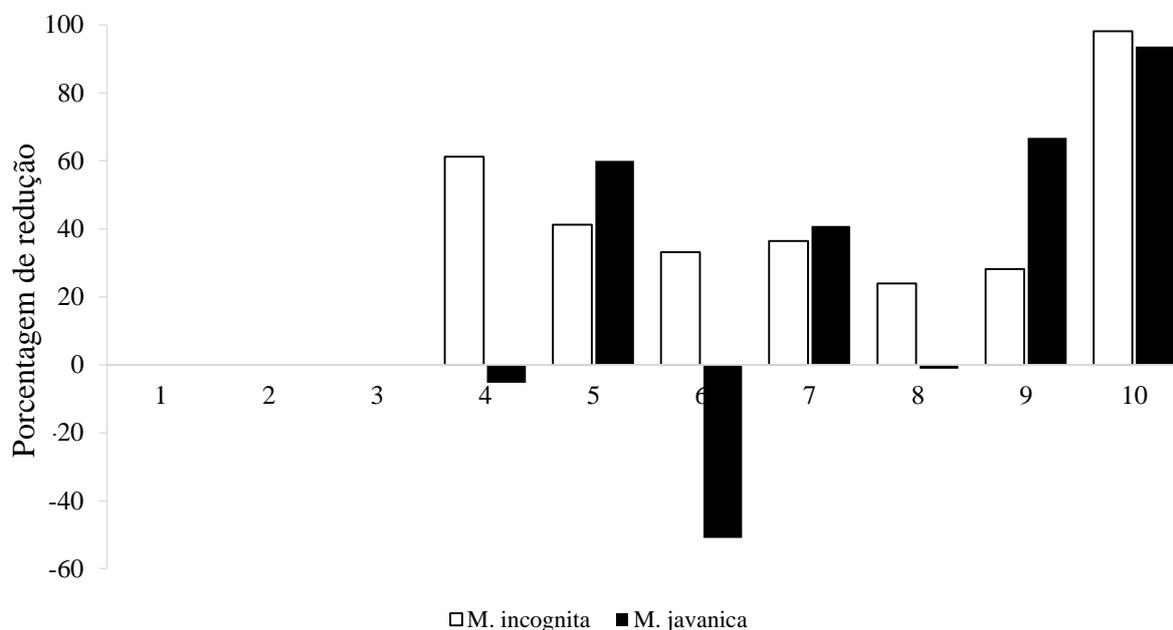


Figura 12. Porcentagem de redução do Fator de Reprodução de *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiros sob diferentes tratamentos em relação a testemunha inoculada e tratada com água. Tratamentos: 1. Testemunha não inoculada; 2. Testemunha não inoculada + Manipueira 50%; 3. Testemunha com inóculo; 4. Rizotec; 5. Rizotec + Manipueira 50%; 6. Onix + Quality; 7. Onix + Quality + Manipueira 50%; 8. Bion; 9. Bion + Manipueira 50%; 10. Rugby 200 SC.

A análise conjunta dos dados relativos à percentagem de redução do Fator de Reprodução, considerando ambos os nematoides, resultou no seguinte resultado: Rugby 200 CS (96,30%), Rizotec + manipueira 50% (48,6%), Bion + manipueira 50% (43,42%), Onix + Quality + manipueira 50% (38,32%), Rizotec (34,95%) e Bion 500 WG (13,98%). O tratamento Onix SC + Quality WG aumentou o FR dos nematoides em relação às testemunhas inoculadas (-0,04%) (Figura 13).

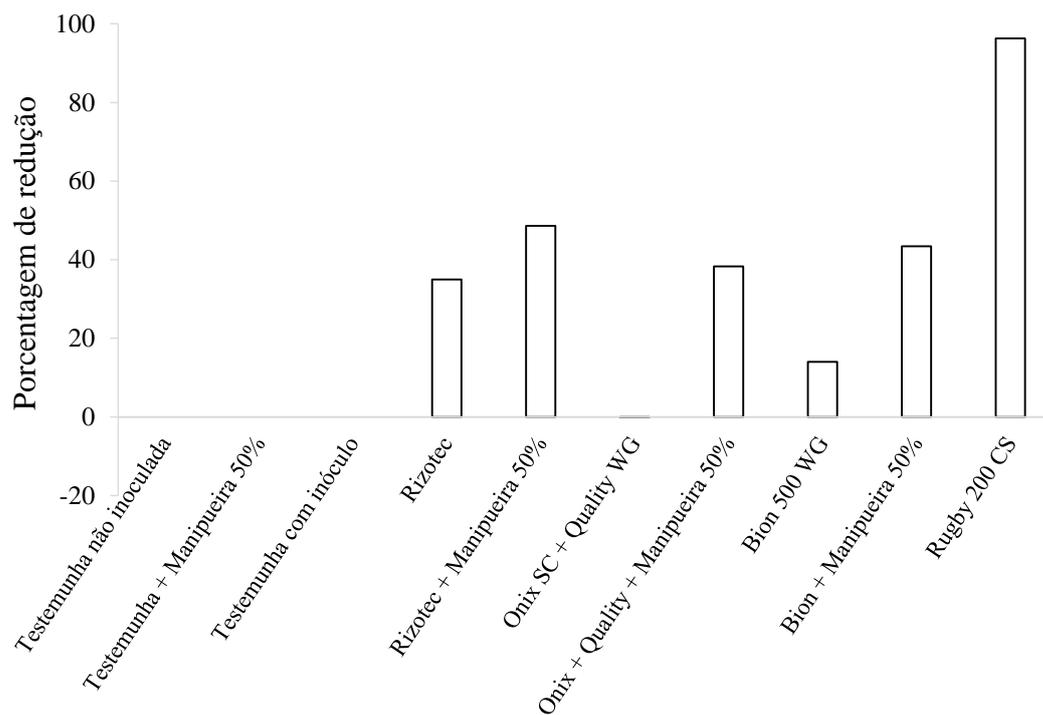


Figura 13. Análise conjunta da porcentagem de redução do FR de *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiros sob diferentes tratamentos em relação a testemunha inoculada e tratada com água.

5. DISCUSSÃO

5.1. Manipueira: composição e efeito em solo e plantas

Nesse estudo, a aplicação de manipueira diluída 1:1 em solo cultivado com tomateiro aumentou o teor de potássio no solo, reduzindo os teores de Al^{+3} , aumentando também a saturação de bases e a relação K^+/CTC . Isso demonstrou também que a manipueira pode ser uma alternativa viável à nutrição de plantas, assim como preconizado por Santos (2009).

Resultados semelhantes foram observados por Mélo *et al.* (2005) que relataram aumento nos teores de K^+ e de outros nutrientes como cálcio, sódio e magnésio trocáveis em latossolo amarelo e latossolo vermelho-amarelo distróficos e neossolo quartzarênico, após aplicação de manipueira. Silva Júnior *et al.* (2012) também relataram aumento da CTC e da Saturação de Bases (V%) em latossolo amarelo distrófico típico dos tabuleiros costeiros do Recôncavo da Bahia, além do incremento em nutrientes como magnésio, cálcio e sódio trocáveis e redução no teor de alumínio e da acidez potencial, corroborando com os resultados deste estudo.

Na cultura do tomateiro, o K^+ é elemento essencial na formação e amadurecimento dos frutos, melhorando a qualidade e palatabilidade dos mesmos (Ho & Adams, 1995), além de promover o crescimento radicular e o acúmulo de matéria seca total (Fioretto, 2001).

A redução de Al trocável também foi observada em solo cultivado com goiabeiras tratadas com manipueira diluída 1:1 (Mesquita, 2016). Em solo, íons alumínio podem inibir o crescimento radicular, com reflexos negativos ao desenvolvimento vegetal. A adição de cátions trocáveis ao solo via manipueira colabora para o aumento da saturação de bases e da adsorção de minerais no complexo de troca, favorecendo a CTC do solo. Com o aumento da CTC do solo, há o deslocamento de íons alumínio e hidrogênio do complexo de troca para a solução do

solo, reduzindo a acidez potencial. No solo, íons Al^{3+} e H^+ são neutralizados e imobilizados pela reação com hidroxilas, formando hidróxido de alumínio e água (Malavolta, 1984).

Os nutrientes detectados em amostras de manipueira coletadas em diferentes fontes estão de acordo com os disponibilizados na literatura, segundo vários autores (Cereda, 1994; Barana, 2000; Fernandes Jr., 2012; Duarte, 2012). De acordo com estes autores, as diferenças de concentração de certos nutrientes e de pH se devem às diferentes origens das amostras, ao tempo de armazenamento e à mistura de cultivares de mandioca. Em nenhum caso, foi obtido o valor de CN^- .

O pH influencia diretamente a disponibilidade de nutrientes às plantas, sendo que valores ótimos estão entre 6,0 e 6,5 (Duarte *et al.*, 2013). Malavolta *et al.* (1997) estabelecem que nessa faixa de pH ocorre a máxima disponibilidade de macronutrientes e matéria orgânica, promovendo redução da acidez do solo, que é uma das principais limitações da produção agrícola.

A introdução de bases no solo favorece a elevação do pH, uma vez que elas têm a capacidade de se adsorverem no complexo sortivo, deslocando os elementos (alumínio e hidrogênio) responsáveis pela acidez potencial para solução do solo; uma vez deslocado para a solução do solo, o alumínio se precipita na forma de Al_2SO_4 , contribuindo para o aumento do pH, conforme Souza *et al.* (2007). Fageria (2001) também afirma que o aumento do pH é fortemente correlacionado com o aumento da saturação por bases do solo.

O teor de CN^- em manipueira é dependente da concentração de glicosídeos cianogênicos presentes em raízes de mandioca por ocasião da prensagem, sendo variável entre cultivares. Cultivares denominadas de "bravas" apresentam teores de glicosídeos cianogênicos acima de 100 mg L^{-1} , enquanto cultivares tidas como "moderadas" apresentam entre 50 e 100 mg L^{-1} de CN^- e aquelas tidas como "mansas", níveis inferiores a 50 mg L^{-1} (Carvalho, 1992).

Nesse trabalho, o teor de CN⁻ da amostra coletada foi estimado em 30 mg L⁻¹ (Tabela 3), enquanto outros autores relataram 42,5 mg L⁻¹ (Ponte, 1992), 46,6 mg L⁻¹ (Chisté & Cohen, 2011), 44,34 mg L⁻¹ (Pantaroto, 2001), 52,2 mg L⁻¹ (Leonel & Cereda, 1995) e 25 a 40 mg L⁻¹ (Nasu *et al.*, 2015). Como a manipueira utilizada nesse estudo foi diluída 50%, considera-se apenas metade da concentração original, ou seja, 15 mg L⁻¹ para a amostra analisada caso fosse aplicada. A dose letal de cianeto (DL50) para nematoides fitoparasitas ainda não está determinada, no entanto, em ratos, a dose letal (DL50) de CN⁻ foi relatada em 35 mg L⁻¹ (Cereda & Lopes, 2003).

5.2. Efeito dos tratamentos sobre *M. incognita* e *M. javanica*

Em ambos os ensaios foi detectada maior massa radicular em tomateiros inoculados quando comparados com tomateiros não inoculados, o que pode ser explicado pelas galhas induzidas pelos nematoides nas raízes. A testemunha sem inóculo, tratada com manipueira 50%, não se diferenciou da testemunha sem inóculo tratada com água. Como foi realizada apenas uma aplicação de manipueira, é provável que um número maior de aplicações seja necessário para melhorar o desenvolvimento dos tomateiros. Foram testadas as concentrações dos produtos biológicos, obtendo resultados semelhante às bulas, indicadas pelos fabricantes.

Houve redução significativa de ovos dos nematoides por sistema radicular para a maioria dos tratamentos para os dois ensaios (Figura 9), bem como do Fator de Reprodução (Figura 12) e da percentagem de redução do FR em relação à testemunha inoculada (Figura 14). Nasu *et al.* (2010) e Nasu *et al.* (2015) relataram redução do total de ovos do sistema radicular e do FR para tomateiros tratados apenas com manipueira. A ação nematicida de manipueira também foi comprovada por outros autores como Baldin *et al.* (2012) para o patossistema cenoura/*M. incognita*, Ponte *et al.* (1979) no controle de *M. incognita* e *M. javanica* em quiabo, Fonseca *et*

al. (2016) no controle de *M. incognita* em plantas de soja e Damasceno *et al.* (2008) em mamoeiro para o controle de *M. incognita*. A ação nematicida de manipueira tem sido comprovada por diferentes autores. No entanto a aplicação deste resíduo em associação com produtos biológicos, indutores de resistência ou promotores do desenvolvimento vegetal ainda carece de estudos.

O produto Rizotec, a base de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Pc-10), na concentração 18 g/L, reduziu em 40% o número de galhas e em 49% o total de ovos de *M. javanica* em raízes de pepino (Viggiano *et al.*, 2014).

Os resultados desse estudo indicam que Rizotec causou média de redução de aproximadamente 35% do total de ovos por sistema radicular em relação às testemunhas inoculadas com *M. javanica* e *M. incognita*, segundo análise conjunta dos dados. No entanto, este produto, quando usado em associação com manipueira, causou redução média de 48,60% do total de ovos de raízes de ambos nematoides.

A ação conjunta de manipueira 50% e Rizotec manteve o FR de *M. javanica* e *M. incognita* a um nível intermediário (FR=7,09), mesmo com dois ciclos reprodutivos dos nematoides (avaliação aos 70 dias) e com inóculo inicial mais elevado (5.000 ovos e J₂) que os utilizados em outros estudos. Dallemole-Giaretta *et al.* (2014) inocularam 4.000 ovos e J₂ de *M. javanica* em tomateiros tratados com o isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia*, o mesmo utilizado nesse estudo, com avaliação aos 45 dias (1 ciclo do nematoide), tendo obtido FR=6,04 em tomateiros tratados.

A associação de manipueira com Rizotec, em aplicações subsequentes, mostrou efeito aditivo provavelmente devido ao inóculo de *P. chlamydosporia* conter clamidósporos, os quais são estruturas de resistência do fungo e resistentes aos componentes tóxicos presentes em manipueira. Clamidósporos de *P. chlamydosporia* são a principal via de multiplicação do fungo, sendo encontrados nas formulações comerciais e em trabalhos como o de Coutinho *et*

al. (2009), com a multiplicação do fungo *in vitro* e inoculação de clamidósporos em solo no controle de *M. javanica*.

O produto Acibenzolar-S-metil (Bion) causou pouca redução na taxa reprodutiva (FR=11,87) dos nematoides em relação à testemunha inoculada (FR=13,8). No entanto, a aplicação em associação com manipueira 50% reduziu o FR para 7,82, demonstrando efeito aditivo da aplicação de manipueira. Como Bion foi aplicado via foliar e manipueira via solo, está descartada qualquer ação negativa da manipueira nesse produto. Também, a ação indutora de resistência de Bion combinada com a ação nematicida de manipueira, provavelmente contribuiu para forte redução no FR.

Há relato na literatura de redução de 59% do FR de *M. javanica* em abacaxi (Chinnasri *et al.*, 2006), com aplicação de 20 ml de suspensão aquosa de acibenzolar-S-metil (ASM), 2 dias após a inoculação. Puerari *et al.* (2013) avaliaram a ação de 0,5 g/L de ASM em aplicação foliar em plantas de soja resistentes (cv. MG/BR 46 Conquista) e suscetíveis (BRS MT Pintado) a *M. javanica*. Maior redução de ovos/J₂ ocorreu com aplicação aos sete dias antes da inoculação e um dia antes da inoculação.

Nesse estudo, o produto Bion foi aplicado na dosagem 0,3 g/L ou 300 ppm, abaixo da concentração aplicada em outros estudos como os de Puerari *et al.* (2013) e Molinari & Baser (2010). A recomendação deste produto para outros patógenos é de 50 ppm, não havendo recomendação ao controle de nematoides. Tendo em vista o elevado custo do produto comercial, dosagens mais baixas são mais viáveis para aplicação em campo.

Os produtos Quality e Onix são recomendados para aplicação conjunta, segundo informações do fabricante, não constando recomendação para o controle de nematoides fitoparasitas. No entanto, ambos agentes são considerados promotores do crescimento vegetal, se desenvolvendo na superfície das raízes e de forma endofítica.

Estudos têm mostrado a viabilidade do uso desses agentes no biocontrole de nematoides. Testes *in vitro* realizados por Sharon *et al.* (2007) com *T. asperellum* no controle de *M. javanica*, demonstrou parasitismo de ovos (95,5%) e J₂ (50,5%). Aguiar *et al.* (2014) avaliaram o efeito de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil) e *T. asperellum* (Quality) no controle de *Meloidogyne* sp. e de outros patógenos em feijoeiro. Os autores relataram aumento de J₂ e ovos para *T. harzianum* e redução de 37% dos mesmos estádios com *T. asperellum*. Zhou *et al.* (2016) fez o primeiro relato da ação da rizobactéria *Bacillus methylotrophicus*, estirpe R2-2, e sua ação na redução de *M. incognita* em tomateiro.

Além da redução da taxa reprodutiva de nematoides das galhas, *T. asperellum* e *B. methylotrophicus* causam promoção do desenvolvimento vegetal. Zhou *et al.* (2016) demonstraram aumento da produção de tomateiros infectados com *M. incognita* com aplicação de *B. methylotrophicus*. Sousa *et al.* (2014) relataram incremento de massa seca da parte aérea de soja em 44% e aumento da produtividade em 14,5 sacas/ha, em relação à testemunha.

Os resultados obtidos da aplicação conjunta de Onix + Quality em tomateiro no controle de *M. javanica* e *M. incognita* não diferiram da testemunha inoculada sem tratamento. No entanto, quando acrescidos de manipueira 50% a taxa reprodutiva de ambas espécies de nematoides das galhas declinou sensivelmente, demonstrando efeito apenas de manipueira 50%.

Em ambos ensaios, o tratamento com Rugby 200 CS (Cadusafós) foi utilizado como controle positivo e demonstrou alto poder nematicida, não havendo diferenças com a testemunha sem inóculo, a exceção dos dados de massa fresca de raiz, onde o tratamento com Rugby foi superior em relação a testemunha sem inóculo, para o ensaio de *M. incognita*. Houve redução expressiva de ovos, com consequente redução do fator de reprodução dos nematoides.

Segundo Safdar *et al.* (2012) a molécula cadusafos (Rubgy) é um nematicida de amplo espectro, controlando diversos nematoides, como *Meloidogyne* e *Globodera*. Estudos

demonstram que esse nematicida tem ação ovicida, inibindo também a penetração de J₂ nas raízes e também em estádios pós-penetração.

Apesar dos dados positivos com esse tratamento, não há recomendação para o seu uso na cultura do tomateiro junto ao Ministério da Agricultura (AGROFIT, 2017). Recentemente, Mesquita (2016) confirmou a ação nematicida desse produto em goiabeira no controle de *M. enterolobii*, mas com alerta sobre a impossibilidade de utilização em goiabeiras. Em se tratando de molécula extremamente tóxica ao homem e ao meio ambiente, o uso de Cadusafós e de outros nematicidas deve ser observado com restrição antes de qualquer recomendação.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram testados os produtos biológicos Rizotec, Onix e Quality, sendo os dois últimos aplicados paralelamente, e o produto Bion, indutor de resistência. Desses produtos, Rizotec obteve o melhor desempenho individual, sendo a sua ação potencializada pela aplicação conjunta com manipueira diluída a 50%.

Trata-se do primeiro teste envolvendo a aplicação conjunta de manipueira e produtos biológicos na cultura do tomateiro e o primeiro teste de Onix + Quality no controle de nematoides fitoparasitas. No entanto, a aplicação simultânea desses agentes (*B. methylotrophicus* e *T. asperellum*) não promoveu redução na taxa reprodutiva de *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiro.

De modo geral, dados da literatura têm demonstrado que a ação individual de agentes biológicos contra fitonematoides não é satisfatória. Portanto, a combinação de manipueira, um potente nematicida, com fungos ou bactérias compatíveis se faz interessante.

Dessa forma, a associação de Rizotec com manipueira é promissora, uma vez que há efeito aditivo na redução da taxa reprodutiva de nematoides das galhas com a aplicação paralela de ambos. Estudos futuros podem ser vislumbrados com aplicação de Rizotec em mudas antes do transplântio a campo e de manipueira após o transplântio de mudas de tomate para o campo, já que o fungo se mostrou resistente aos componentes da manipueira.

7. CONCLUSÕES

Em relação a composição química da manipueira, esse estudo detectou os seguintes macronutrientes: potássio, nitrogênio, magnésio, fósforo, cálcio e enxofre. Dentre os micronutrientes: ferro, cobre, manganês, zinco, cobalto, molibdênio e boro. O pH foi de 5,40 e a concentração de CN^- foi aproximadamente 30 ppm. Além disso a manipueira quando aplicada no solo aumentou teores de potássio e de saturação por bases, reduzindo também o alumínio trocável. Dessa forma, vale ressaltar a possibilidade do uso da manipueira como alternativa a adubação tradicional.

A associação do produto biológico Rizotec, a base de *Pochonia chlamydosporia*, com a manipueira 50% resultou em redução significativa da taxa reprodutiva de *M. incognita* e *M. javanica* em relação à testemunha e redução de 13,65% no FR em relação à aplicação individual de Rizotec. O nematicida Rugby 200 CS (cadusafós) foi utilizado como controle positivo e demonstrou alta eficiência na redução do FR de *M. incognita* e *M. javanica*, podendo ser utilizado em ensaios posteriores.

Os demais tratamentos obtiveram performance inferior considerando as variáveis de FR e porcentagem de redução do FR. Tal fato pode estar ligado a quantidade aplicada de cada produto ou à época de aplicação destes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant Phytopathology**. Fifth Edition. Elsevier Academic Press.USA. 922p., 2005.

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitário**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 25 de janeiro de 2017.

AGUIAR, P.E.V.; BONALDO, S.M.; MORAES, S.R.G. Avaliação de *Trichoderma* spp. na Cultura de Feijão, em Antracnose, Mela e Nematóide das Galhas. **Scientific Electronic Archives** (7): p.17-25, 2014.

AL-HAZMI, A.S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viridae* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, p.288-292, 2016).

ALONSO, S.K. de; ALFENAS, A.C. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematóides. *In*: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 526-543, 1998.

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: produção em campo, casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA. 400p, 2004.

ASMUS, G.L. Danos causados à cultura da soja por nematóides do gênero *Meloidogyne*. *In*: FERRAZ, LC.C.B.; ASMUS, G.L.; CARNEIRO, R.G.; MAZAFERRA, P.; SILVA, J.F.V. **Relações parasito-hopedeiro nas meloidoginoses da soja**. Embrapa Soja, Londrina, PR, p. 39-56, 2001.

BAKER, K.F.; COOK, R.J. **Biological control of plant pathogens**. WH Freeman & Co, San Francisco, 1974.

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

BARANA, A.C. **Avaliação de tratamento de manipueira em biodigestores fase acidogênica e metanogênica**. 2000. 95p. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. (Tese de Doutorado em PDF).

BARBOSA, L. F.; AMORIM, E. P. R.; COSTA, V. K. S.; TRINDADE, R. C. P.; PEIXINHO, G. S.; CRUZ, S. J. S. Efeito de resíduos vegetais sobre *Scutellonema bradys*, agente causal da casca preta do inhame (*Dioscorea* sp). **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 6, p. 271-279, 2010.

BARCELOS, F.F. **Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes de *Mucuna aterrima***. Dissertação de Mestrado. Viçosa: UFV, p.93, 1997.

BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, v.118, p.1203–1212, 1998.

BLOK, V.C.; PHILLIPS, M.S.; MCNICOL, J.W.; FARGETTE, M. Genetic variation in tropical *Meloidogyne* spp. as shown by RAPDs. **Fundamental and Applied Nematology**, v.20, p.127–133, 1997.

BLOK, V.C.; POWERS, O. Biochemical and molecular identification. *In: Root-knot Nematodes*. PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.L. Wallingford: CABI International, p.98-118, 2009.

BRADFORD, K.J.; CHEN, F.; COOLEY, M.B.; DAHAL, P.; DOWNIE, B.; FUKUNAGA, K.K.; GEE, O.H.; GURUSINGHE, S.; MELLA, R.A.; MONOGAKI, H.; WU, C.T.; YANG, H.; YIM, K.O. Gene expression prior to radicle emergence in imbibed tomato seeds. *In: BLACK, M.; BRADFORD, K.J.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. (Ed.). Seed Biology: Advances and Applications*. New York: CABI International, p.231-251, 2000.

BRASS, F.E.B.; VERONEZZE, N.C.; PACHECO, E.; BOSQUÊ, G.G. Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes à cultura do café. **Revista científica eletrônica de Agronomia**. Ano VII, n. 14, dezembro de 2008, Periódicos Semestral.

BROADBENT, P.; BAKER, K.F.M.; FRANK, S.N.; HOLLAND, J. Effect of *Bacillus* sp. on increased growth of seedlings in steamed and non treated soil. **Phytopathology** 67:1027–1034, 1977.

BROWN, C.R.; MOJTAHEDI, H.; SANTOS, G.S.; WILLIAMSON, V.M. The effect of the Mi gene in tomato on reproductive factors of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla*. **Journal of Nematology**, v.29, 3ed., p.416-419, 1997.

BURKETT-CADENA, M.; KOKALIS-BURELLE, N.; LAWRENCE, K.S.; VAN SANTEN, E.; KLOPPER, J.W. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. **Biological Control**, v. 47, p. 55-59, 2008.

BYRD, D.W.; KIRKPATRICK JR., T.; BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v.14, p.142-143, 1983.

CAMPOS, V.P. **Danos e prejuízos causados por fitonematoides**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 172, p. 14-15, 1992.

CARDOSO, E.; CARDOSO, D.; CRISTIANO, M.; SILVA, L.; BACK, A.J.; BERNADIM, A.M.; PAULA, M.M.S. Use of *manihot esculenta*, crantz processing residue af biofertilizer in corn crops. **Research Journal of Agronomy**, v.3, p.1-8, 2009.

CARNEIRO, R.M.D.G., RANDIG, O., ALMEIDA, M.R.A., & GONÇALVES, W. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro nos Estados de São Paulo e Minas Gerais através dos fenótipos de esterase e SCAR-Multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, 29, 233– 241, 2005.

CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de Eletroforese usado no estudo de enzimas de nematoides das galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira** 25(1): 35-44, 2001.

CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; BRAGA, R.S.; ALMEIDA, C.A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à meloidoginose no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.1, p. 81-86, 2006.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; NEVES, D.I.N.; ALMEIDA, M.R.A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no estado do Paraná. **Nematologia Brasileira** 27: p.219-222, 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G.; COFCEWICZ, E.T. The taxonomy of Coffee-Parasitic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. In: SOUZA, R.M. (ed.) **Plant-Parasitic Nematodes of coffee**. Dordrecht. Springer. p. 87-122, 2008.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MONTEIRO, J. da M. dos S.; SILVA, U.C.; GOMES, G. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, M.G. de; SANTOS, M.A. dos; CASTRO, L.H.S. **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas, SP: Millenium Editora, p.47-70, 2016.

CARNEIRO, R.M.D.G.; TIGANO, M.S.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M.R.A.; SARAH, J.L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, v.6, p.287-298, 2004.

CARVALHO, F.C. **Disponibilidade de resíduos agroindustriais e do beneficiamento de produtos agrícolas**. Informações Econômicas. p. 20, 1992.

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

CEREDA, M.P. A Industrialização da Mandioca no Brasil. *In: O uso da manipueira em Fertilização*. Ed.Paulicéia.São Paulo, p-58-66, 1994 (artigo de livro).

CEREDA, M.P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. *In: CEREDA, M.P (coord): Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca*. Vol. IV. São Paulo: Fundação CARGILL, p.13 – 37, 2001a.

CEREDA, M.P. **Propriedades gerais do amido. Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas**, v.1, Fundação Cargill, São Paulo, 221 p, 2001b.

CEREDA, M.P.; LOPES, A.M. *In: Determinação do potencial de intoxicação em ratos, de linamarina extraída de mandioca*. Vol. 1. Anais do V SLACA, Campinas, São Paulo, 2003.

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

CHAVES, A.; PEDROSA, E.R.M.; COELHO, R.S.B.; GUIMARÃES, L.M.P.; MARANHÃO, S.R.V.L.; GAMA, M.A.S. da. Alternativas para o manejo integrado de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences / Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Vol. 7 Issue 1, p73-80. 8p, 2012.

CHAVES, A.; PEDROSA, E.R.M.; GUIMARÃES, L.M.P.; MARANHÃO, S.R.V.L.; SILVA, I.L.S.S.; MOURA, R.M. Indução de resistência a nematóides em cana-de-açúcar cultivada em solo de áreas que apresentam declínio de desenvolvimento em tabuleiros nordestinos. *In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia Anais*, p. 37-142, 2004.

CHINNASRI, B.; SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P. Effects of Inducers of Systemic Acquired Resistance on Reproduction of *Meloidogyne javanica* and *Rotylenchulus reniformis* in Pineapple. **Journal of Nematology**, v. 38, No. 3, p. 319-325, 2006.

CHISTÉ, R.C.; COHEN, K. O. Teor de cianeto total e livre nas etapas de processamento do tucupi. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo; 70(1) p.41-6, 2011.

COFCEWICZ, E.T.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes and genetic diversity of root-knot nematodes parasitising Musa in Brazil. **Nematology**, 6, p.85-95, 2004.

COSTA, H.; VENTURA, J.A. Doenças do tomateiro no Estado do Espírito Santo: Reconhecimento e manejo. In: **Tomate. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão rural**. Vitória, ES: Incaper, 2010.

COUTINHO, M.M.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; NEVES W.S.; LOPES E.A.; FERRAZ S. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, vol. 33(2): p.169-175, 2009.

CUZIN, N.; LABAT, M. Reduction of cyanide levels during anaerobic digestion of cassava. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 27, p.329-336, 1992.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G. de; XAVIER, D. M.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A. Incorporação ao solo de substrato contendo micélio e conídios de *Pochonia chlamydosporia* para o manejo de *Meloidogyne javanica*. **Ciência Rural**, v.44(4), 629-633, 2014.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G. de; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; PODESTÁ, G.S. de; AGNES, E.L. Cover crops and *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, v.13 (8), p. 919-926, 2011.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G. de; LOPES, E.A.; PEREIRA, O.I.; ZOOCA, R.J.F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection** v.42, p. 102-107, 2012.

DAMASCENO, J.C.A.; RITZINGER, C.H.S.P.; VIEIRA, R.S.; LUQUINE, L.S.; LEDO, C.A. da S. Manipueira no controle de nematoides em mudas de mamoeiro. In: **Seminário Estudantil de Pesquisa da UFRB**, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2008.

DAO, D.F. Climatic influence of temperature on distribution pattern of plant parasitic and soil inhabiting nematodes. **Medellingen van de Landbouwhogeschool**, Wageningen, v.70, 187p., 1970.

DE LEIJ, F.A.A.M.; DAVIES, K.G.; KERRY, B.R. The use of *Verticillium chlamyosporium* 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.

DELLA VECCHIA, P.T.; KOCH, P.S. Tomates longa vida: o que são, como foram desenvolvidos? **Horticultura brasileira**, v.18, n.1, p.3-4, 2000.

DEMEURE, Y. **Leus causes de la survie de certains nématodes phytoparaistes (*Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne* spp.) pendant la saison sèche dans le sahel sénégalais**. Thèse présentée devant l'Université Claud Bernard (Lyon I), 105p., 1978.

DIAS, W.P.; GARCIA, A.; SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, G.E.S. Nematoides em soja: Identificação e Controle. Londrina: Embrapa Soja, **Circular Técnica**, v.76, 8p., 2010.

DIAS-ARIEIRA, C.R.; MARINI, P.M.; FONTANA, L.F.; ROLDI M.; SILVA, T.R.B. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate® and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica** v. 42, p.170-175, 2012.

DUARTE, A.S.; ROLIM, M.M.; SILVA, E.F.F.; PEDROSA, E.M.R.; ALBUQUERQUE, F.S.; MAGALHÃES, A.G. Alterações dos atributos físicos e químicos de um Neossolo após aplicação de doses de manipueira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17 (9), p.938-946, 2013.

DUARTE, A.S.; SILVA, E.F.F.; ROLIM, M.M.; FERREIRA, R.F.A.L.; MALHEIROS, S.M.M.; ALBUQUERQUE, F.S. Uso de diferentes doses de manipueira na cultura da alface em substituição à adubação mineral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p.262– 267, 2012.

EISENBACK, J.D.; TRIANTAPHYLLOU, H.H. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. In: NICKLE, W.R (ed.). **Manual of agricultural nematology**. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, p. 191-274, 1991.

ELAD, Y. Mycoparasitism. In: KOHMOTO, K.; SINGH, U.S.; SINGH, R P. **Pathogenesis and host specificity in Plant Diseases**. v.2. (eds). Elsevier Science, Oxford, U.K, p.289-307, 1995.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, H.H. Use of enzymes phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**, v.17, p.6-20, 1985.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.22, p.10-15, 1990.

ESTEVEZ, R.L. **Controle alternativo de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro com aplicação de manipueira**. Monografia – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. p. 44, 2009.

FABRY, C.F.S.; FREITAS, L.G.; GODINHO, M.M.; NEVES, W.S.; FERRAZ, S. Resistência sistêmica a *Meloidogyne javanica* induzida por *Rhizobium etli* G12. **Nematologia Brasileira**, v.31, p.5-9, 2007.

FAGERIA, N.K. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, p.1269-1290, 2001.

FAOSTAT. **Database Results**. 2016. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 10 jun. 2016.

FERNANDES JR., A. Tratamentos físicos e biológicos da manipueira. In: CEREDA, M.P (coord): **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. Vol IV. São Paulo: Fundação CARGILL, p.138 – 150, 2001.

FERRAZ, L.C.C.B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. *In*: SILVA, J.F.V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja/Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 15-38, 2001.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G. de; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. 1 ed. Viçosa, MG. Ed. UFV, 304p., 2010.

FERRIS, H.; VAN GUNDY, S.D. *Meloidogyne* ecology and host interrelationships. *In*: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C.E. (Eds). **Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Systematics, Biology and control**. London, Academic Press, p.205-230, 1970.

FILGUEIRA; F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3ª. ed. rev. e ampli. - Viçosa. MG. Ed. UFV, 421 p., 2008.

FIORETTO, R.A. Uso direto da manipueira em fertirrigação. *In*: CEREDA, M.P. (Coord.) **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 320p. Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.4, 2001.

FIORETTO, R.A.; BRINHOLI, O. Possibilidade de controle das plantas invasoras com a aplicação de manipueira. **Energia na Agricultura**, v. 2, p. 3-9,1985.

FONSECA, W.L.; ALMEIDA, F.A.; OLIVEIRA, A.M.; LEITE, M.L.T.; PROCHNOW, J.T.; RAMOS, L.Z. Toxicity of manipueira to *Meloidogyne incognita* in soybean. **Pesquisa Agropecuária. Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 413-420, 2016.

FORMENTINI, H.M. **Manipueira no controle de *Meloidogyne incognita* e no rendimento da figueira (*Ficus carica* L.) cv. Roxo de Valinhos no Oeste Paranaense**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 60 p., 2009.

FRANCO, A. **Subsídios à utilização da manipueira como nematicida**. Fortaleza, UFC, 53p. (Tese de Mestrado), 1986.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A.S.; STANGARLIN, J.R.; FURLANETTO, C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, p. 27-36. 2007.

FREIRE, C.R.; DAVIDE, L.C.; CAMPOS, V.P.; SANTOS, C.D. dos; FREIRE, P.W. Cromossomos de três espécies brasileiras de *Meloidogyne*. **Ciência agrotécnica**, Lavras. V.26, n.5, p.900-903, 2002.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.; FERRAZ, S. **Introdução a Nematologia**. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 83p., 2006.

FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S.; ZOOCA, R.J.F.; PODESTÁ, G.S. Controle biológico de nematoides: estudo de casos. *In*: ZAMBOLIM, L.; PIKANÇO, M.C. (Eds). **Controle biológico: pragas e doenças – exemplos práticos**. Viçosa, UFV/DFP, p. 41-82, 2009.

FRIEDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; GUTRELLA, M.; MEIER, B.; DINCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; MÉTRAUX, J.P.; KESSMANN, H.; RYALS, J. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal**, v.10, p. 61–70, 1996.

GONZAGA, A.D.; GARCIA, M.V.B.; SOUSA, S.G.A. de; PY-DANIEL, V.; CORREA, R. da S.; RIBEIRO, J.D. Toxicity of cassava manípueira (*Manihot esculenta* Crantz) and erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) to adults of *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta Amazonica**, v.38 (1), p. 101-106, 2008.

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **Plant Cell**, v. 8, p. 629–643, 1996.

GOULD, W.A. **Tomato production, processing & technology**. 3^a. ed. CT1 publications. 500p., 1992.

GRABOWSKI, M.M.S. **Efeito *in vitro* da manipueira produzida na região Oeste do Paraná sobre o nematóide *Tubixaba tuxaua* e estudo da sua composição química.** Marechal Cândido Rondon-PR, (Monografia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, p.33, 2007.

GRABOWSKI, M.M.S.; DAVI, J.J.S.; NASU, E.G.C.; LAYTER, N.A.; SEIFERT, K.E. & FURLANETTO, C. Efeito da manipueira, produzida na região Oeste do Paraná, no controle do nematoide *Tubixaba tuxaua*. **Nematologia Brasileira**. v. 32, p. 178, 2007.

HAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.22, p.56-68, 1990.

HARAN, S., SCHICKLER, H.; CHET, I. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, v.142, p.2321-2331, 1996.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* spp. - opportunistic avirulent plant symbionts. **Nature Microbiology Reviews**, v.2, p.43–56, 2004.

HERMOSA, M.R.; GRONDONA, I.; ITURRIAGA, E.A.; DIAZ-MINGUEZ, J.M.; CASTRO, C.; MONTE, E.; GARCIA-ACHA, I. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. **Applied Environmental Microbiology**, v.66, p. 1890-1898, 2000.

HESS, M.L. Tratamentos de despejos de fecularia de mandioca por oxidação biológica. **Revista D.A.E.**, São Paulo, v. 23, n. 46. p. 29-35, 1962.

HJELJORD, L.G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Antagonism of nutrientactivated conidia of *Trichoderma harzianum* (*atroviride*) P1 against *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v.91(12), p.1172-1180, 2001.

HO, L.C.; ADAMS, P. Nutrient uptake and distribution in relation to crop quality. Hydroponic and transplant production. **Acta Horticulturae**, n.396, p. 33-44, 1995.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. *In: Root-knot Nematodes*. PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds.). CABI International, Cambridge, MA, USA: 1-17, 2009.

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

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 08 jun. 2016.

ISHII, H.Y.; TOMITA, T.; HORIO, Y.; NARUSAKA, Y.; NAKAZAWA, K.; NISHIMURA; IWAMOTO, S. Induced resistance of acibenzolar-S-methyl to cucumber and Japanese pear diseases. **European Journal of Plant Pathology**, v. 105 (1), p.77-85, 1999.

KARSEN, G.; MOENS, M. Root knot-Nematodes. *In: PERRY, R.N.; MOENS, M. (Eds) Plant Nematology*, Cambridge, USA, CABI North American, p.60-88, 2006.

KERRY, B.R. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamyosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *In: BUTT, T.M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Ed). Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*. Wallingford: CAB International, 380p., 2001.

KERRY, B.R. Progress in the use of biological agentes for control of nematodes. *In: PAPAVIDAS, G.C. (Ed.). Biological control in Crop Production*. Allanheld: Osmum, p. 79-90, 1981.

KERRY, B.R.; BOURNE, J.M. **A Manual for Research on *Verticillium Chlamyosporium*, a Potential Biological Control Agent for Root-Knot Nematodes**. IOBC/WPRS, Gent, 2002.

KERRY, B.R.; IRVING, F.; HORNSEY, J.C. Variation Between Strains of the Nematophagous Fungus, *Verticillium Chlamyosporium* Goddard. *In: Factors Affecting Growth in vitro*. Nematologica, v. 32, p.461-473, 1986.

KHAN, T.A.; SAXENA, S.K. Integrated management of root knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting tomato using organic materials and *Paecilomyces lilacinus*. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 61, n. 3, p. 247-250, 1997.

KLOEPPER, J.W.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; MCINROY, J.A.; YOUNG, R.W. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. **Plant Soil**, v. 139, p. 75–84, 1992.

KREBS, B.; HODING, B.; KUBART, S.; WORKIE, M.A.; JUNGE, H.; SCHMIEDEKNECHT, G.; GROSCH, R.; BOCHOW, H.; HEVESI, M. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. In: PFLANZEN, Z.P. **Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains**, v. 105, p.181–197, 1998.

LAMOVSŠEK, J.; UREK, G.; TRDAN, S. Biological Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the Pests. **Acta agriculturae Slovenica**, p. 263 – 275, 2013.

LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Manipueira como substrato na biossíntese de ácido cítrico por *Aspergillus niger*. **Scientia Agricola**. (Piracicaba, Braz.) [online]. v. 52, n. 2, p. 299-304., 1995.

LI, B.J; XIE, G.; SOAD, A.; COOSEMANS, J. Suppression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal Zhejiang Univ SCI**, v.6, p. 496-501, 2005.

LOPES, C.A.; REIS, C. **Doenças de tomateiro cultivado em ambiente protegido**. Embrapa, Brasília, 2. ed. 17p., 2011. (Circular técnica).

LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. **Doenças do tomateiro**. Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. Brasília, 67p., 1994.

LORENZI, J.O.; DIAS, C.A.C. **Cultura da mandioca**, 2ª imp. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 41p., 1993. (Boletim Técnico, 211).

LUAMBANO, N.D.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; KIMENJU, J.W.; POWERS, S.J.; NARLA, R.D.; WANJOHI, W.J.; KERRY, B.R. Effect of temperature, pH, carbon and nitrogen ratios on the parasitic activity of *Pochonia chlamydosporia* on *Meloidogyne incognita*. **Biological control**, v. 80, p. 23 – 29, 2015.

LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 2.ed. CAB International. Wallingford, 917p, 2005.

MAGALHÃES, A.G.; ROLIM, M.M.; DUARTE, A. de S.; NETO, E.B.; TABOSA, J.N.; PEDROSA, E.M.R. Desenvolvimento inicial do milho submetido à adubação com manipueira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.7, p.675-681, 2014.

MAGALHÃES, C.P. **Estudos sobre as bases bioquímicas da toxicidade da manipueira a insetos, nematoides e fungos**. Dissertação (Mestrado) Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 121p., 1998.

MALAVOLTA, E. **A prática da calagem**. 3. ed. Sorocaba: Indústria Mineradora Pagliato Ltda, 1984. (Boletim Técnico, 2).

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p., 1997.

MANZANILLA-LÓPEZ R.H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M.M.; HIRSCH, P.R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 45, p.1–7, 2013.

MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; EVANS, K.; BRIDGE, J. Plant Diseases Caused by Nematodes. *In*: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. **Nematology: Advances and perspectives**. Vol 2. CABI International, Cambridge, MA 02139, USA, 2004.

MARANCA, G. **Tomate: variedades, cultivo, pragas e doenças, comercialização**. São Paulo, Nobel, 158p., 1981.

MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C.; SILVA, H.R.; MORETTI, C.L. **Efeito da época de suspensão da irrigação na produção e qualidade de frutos de tomate para processamento.** Embrapa, 18 p., 2007. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

MATTEDI, A.P.; SOARES, B.O.; ALMEIDA, V.S.; GRIGOLLI, J.F.J.; SILVA, L.J. da; SILVA, D.J.H. da. *In:* SILVA, D.J.H. da; VALE, F.X.R. de. **Tomate: tecnologia de produção.** Viçosa: UFV, 2007.

MAUCLINE, T.H.; KERRY, B.R.; HIRSCH, P.R. The biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia* shows nematode host preference at the infraspecific level. **Mycological Research**, v.108, p.161-169, 2004.

McMAHON, J.M.; WHITE, W.L.B.; SAYRE, R.T. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Experimental Botany**, v.46, p.731-41, 1995.

MEDINA, I.L.; GOMES, C.B.; ROSSI, C.; CARNEIRO, R.M.D.G. Characterization and identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) from fig trees in Rio Grande do Sul and São Paulo States of Brazil. **Nematologia Brasileira**, v.30, p.179–187, 2006.

MELO, P.C.T. **Melhoramento genético do tomateiro.** Campinas: Asgrow do Brasil Ltda, 55p., 1989.

MÉLO, R.F. de; FERREIRA, P.A.; RUIZ, H.A.; MATOS, A.T. de; OLIVEIRA, L.B. de. Alterações físicas e químicas em três solos tratados com água residuária de mandioca. **Irriga, Botucatu**, v. 10, n. 4, p. 383-392, 2005.

MERRIMAN, P.R.; PRINCE, R.D.; KOLLMORGEN, J.F.; PIGGOTT T.; RIDGE, E.H. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.25, p.219–226, 1974.

MESQUITA, F.L. **Manejo de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira com produtos biológicos e manipueira.** Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 2016, 121p.

MOENS M.; PERRY R.N.; STARR J.L. *Meloidogyne* species - a diverse group of novel and important plant parasites. *In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.L. Root-knot Nematodes.* (eds.). CABI International, Cambridge, MA, USA: 1-17, 2009.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SCAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v.29, p. 1354-1362, 2010.

MONTEIRO, A.R.; LORDELLO, L.G.E. *Tubixaba tuxaua* n.gen. n.sp. A suspected parasitic nematode of soybean roots (Aporcelaimidae). **Revista de Agricultura**, v.55, p.301-304, 1980.

MONTES DE OCA, N., ARÉVALOS, J., NUÑEZ, A., RIVERÓN, Y., VILLOCH, A; HIDALGO-DÍAZ, L. Klamic: experiência técnica-productiva. **Revista de Protección Vegetal**, v. 24, p.62-65, 2009.

MOURA, R.M. O Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. *In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. Revisão Anual de Patologia de Plantas.* (Ed.). Passo Fundo: RAPP, v. 5, cap. 8, p. 281-315, 1997.

NAIKA, S; JEUDE, J.V.L. de; GOFFAU, M. de; HILMI, M; DAM, B.V. **A cultura do tomate: Produção, processamento e comercialização.** Wageningen: Fundação Agromisa e CTA. Agrodok, v.17, 104p., 2006.

NASU, E.G.C.; FORMENTINI, H.M.; FURLANETTO, C. Effect of manipueira on tomato plants infected by the nematode *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v.78, p. 193-19, 2015.

NASU, E.G.C.; PIRES, E.; FORMENTINI, H.M.; FURLANETTO, C. Efeito de manipueira sobre *Meloidogyne incognita* em ensaios *in vitro* e em tomateiros em casa de vegetação. **Tropical Plant Pathology**, vol. 35, n.1, p.32-36, 2010.

NETSCHER, C. **Morphological and physiological variability of species of *Meloidogyne* in West Africa and implications for their control.** Meded. Landbomhogeschool, Wageningen, v. 46 (4), p.78-83, 1978.

NIU, Q.H.; HUANG, X.W.; ZHANG, L.; YANG, J.K.; ZHANG, K.Q. A neutral protease from *Bacillus nematocida*, another potential virulence factor in the infection against nematodes. **Archives Microbiology**, v. 185, p. 439–448, 2006.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H.B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. *In: Encyclopedia of life sciences*. Basingstoke: Macmillan Publishers, 10p., 2002.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Mendeligen Landbouwhogeschool Wageningen, v.66, p. 1- 46, 1966.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRISCH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p. 19-28, 2001.

OWEN, K.J.; GREEN, C.D.; DEVERALL, B.J. Systemic acquired resistance against root-knot nematodes in grapevines. *In: 7th International Congress of Plant Pathology, Proceedings...* Edinburg UK. International Society for Plant Pathology, 1998.

PANTAROTO, S. **Isolamento, seleção, identificação e avaliação de microrganismos aeróbios “in situ”, com habilidade à biodegradação de linamarina**. Dissertação de mestrado, UNESP – Botucatu, 139 p., 2001.

PERRY, R.N.; MOENS, M. **Plant nematology**. 2. ed. CABI International, Cambridge, MA, USA: 1-17, 2013.

PINHEIRO, J.B.; BOITEUX, L.S.; PEREIRA, R.B.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.M.D.G. **Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil**. Embrapa, Brasília, 16p., 2014. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

PONTE, J.J. da. **Cartilha da manipueira: uso do composto como insumo agrícola**. 2.ed. Fortaleza, Secretaria da Ciência e Tecnologia do Estado Ceará (SECITECE), 52p., 2006.

PONTE, J.J. da. Uso da Manipueira como Insumo Agrícola: defensivo e fertilizante. *In: CEREDA, M.P. Manejo uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca*. Fundação Cargill – São Paulo, cap. 5, p. 80-95, 2001.

PONTE, J.J. da; FRANCO, A. Efeito nematicida da manipueira em diferentes níveis de diluição (nota prévia). *In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, 16, Belém. Resumos. Belém, EMPRABA, CPATU, p. 212, 1983.

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

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

PONTE, J.J. da; TORRES, J.; FRANCO, A. Investigações sobre uma possível ação nematicida da manipueira. *Fitopatologia Brasileira*, v. 49(3), p.431-434, 1979.

PRADHANANG, P. M.; JI, P.; MOMOL, M. T.; OLSON, S. M.; MAYFIELD, J. L.; JONES, J. B. Application of acibenzolar-S-methyl enhances host resistance in tomato against bacterial wilt. *Plant Diseases*, v.89, p. 989-993, 2005.

PROTAS, J.F. da S. Marcos referenciais da produção integrada de maçã: da concepção à implantação. *In: PROTAS, J.F. da S.; SANHUEZA. R.M.V.(Ed.). Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil*. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003.

PUERARI, H.H.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; CARDOSO, M.R.; HERNANDES, I.; BRITO, O.D.C. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. *Phytoparasitica*, v.14, p.447-449, 2015.

PUERARI, H.H.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; DADAZIO, T.S.; MATTEI, D.; SILVA, T.R.B. da; RIBEIRO, R.C.F. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. *Tropical Plant Pathology*, v. 38 (1), 5p., 2013.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; NASS, L.L.; HEINRICH, G.A.; CLÁUDIA S.C.; RIBEIRO, C.S.C.; HENZ, P.G.; EUCLIDES FILHO, K.; BOITEUX, L.S.; RITSCHER, P.; FERRAZ,

R.M.; QUECINI, V. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. Brasília:1 ed., 156p., 2014.

ROBERTS, P.A.; THOMASON, I.J. A review of variability in four *Meloidogyne* spp. measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*. **Agricultural Zoology Reviews**, v.3, p.225-252, 1989.

ROSA, J.M.O.; WESTERICH, J.N.; WILCKEN, S.R.S. Reação de genótipos e híbridos de tomateiro à *Meloidogyne enterolobii*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.7, p.1166-1171, jul, 2014.

RUBATZKY, V.E.; YAMAGUCHI, M. **World vegetables: principles, production and nutritive values**. 2. ed. New York: Chapman e Hall, 843p., 1997.

RYALS, J.A.; NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H.Y.; HUNT, M.D. Systemic acquired resistance. **Plant Cell**, v. 8, p. 1809–1819, 1996.

SAFDAR, H.; JAVED, N.; KHAN, S.A.; uL HAQ, I.; SAFDAR, A.; KHAN, N.A. Control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood by Cadusafos (Rugby ®) on Tomato. **Pakistan Journal of Zoology**, vol. 44(6), p. 1703-1710, 2012.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, p. 2016-2020, 2008.

SAIFULLAH, P.; THOMAS, B.J. Studies on the parasitism of *Globodera rostochiensis* by *Trichoderma harzianum* using low temperature scanning electron microscopy. **Afro-Asian Journal of Nematology**, v.6, p. 265-267, 1996.

SALGADO, S.M.L.; RESENDE, M.L.V.; CAMPOS, V.P. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p.1007-1013, 2007.

SANTOS, A. Usos e impactos ambientais causados pela manipueira na microregião sudoeste da Bahia-Brasil. In: LUZON JL; CARDIM M. (coord). **Problemas sociales y regionales em América Latina: estudio de casos**. Barcelona: Universitat de Barcelona, p. 11-25, 2009.

SANTOS, M.F.A.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.M.D.G.; MOTA, F.C.; MENDES, A.C.M.; SILVEIRA, N.O.R.; SILVA, J.G.P.; TIGANO, M.S. Biometrical, biological, biochemical and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. **European Journal of Plant Pathology**, v.134, p.671-684, 2012.

SANTOS, M.H.V. dos; ARAÚJO, A.C. de; SANTOS, D.M.R. dos; LIMA, C.L.C. de; SANTIAGO, A.D. Uso da manipueira como fonte de potássio na cultura da alface (*Lactuca sativa* L.) cultivada em casa-de-vegetação. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v.32, n.4, p. 729-733, 2010.

SEDIYAMA, M.A.N.; FONTES, P.C.R.; SILVA, D.J.H. da. Práticas culturais adequadas ao tomateiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG, v.24, n.219, p.19-25, 2003.

SENA, E.S.; PONTE, J.J. da. A manipueira no controle da meloidoginose da cenoura. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 6, p. 95-98, 1982.

SHAN, H.; ZHAO, M.; CHEN, D.; CHEN, J.; LI, J.; FENG, Z.; MA, Z.; AN, D. Biocontrol of rice blast by the phenaminomethylacetic acid producer of *Bacillus methylotrophicus* strain BC79. **Crop Protection**, v. 44, p. 29-37, 2013.

SHARMA, R.D.; GOMES, A.C. Effect of *Bacillus* spp. toxins on oviposition and juvenile hatching of *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, v.20, p. 53-62, 1996.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **The American Phytopathological Society**, v.91, n.7, p.687-693, 2001.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS, G.J.; SPIEGEL, Y. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, v.118, p.247-258, 2007.

SHARON, E.; CHET, I.; SPIEGEL, Y. Improved attachment and parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* in vitro. **European Journal of Plant Pathology**, v.123, p.291-299, 2009.

SIDDIQUI, M.R. **Tylenchida Parasites of Plants and Insects**, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK, 2000.

SIDDIQUI, I.A. Suppression of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in tomato. **Nematology Mediterranean**, v.30, p.125–130, 2002.

SIDDIQUI, Z.A.; AKHTAR, M.S. Effects of antagonistic fungi and plant growth promoting bacteria on growth of tomato and reproduction of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Australian Plant Pathology**, v.38, p. 22-28, 2009.

SIDDIQUI, Z.A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. **Bioresource Technology**, v.58, p. 229-239, 1996.

SIDDIQUI, Z.A.; MAHMOOD, I. Role of bacteria in management of plant parasitic nematodes: A review. **Bioresource Technology**, v.69, p. 167-179, 1999.

SILVA JÚNIOR, J.J.; COELHO, E.F.; SANTA'ANA, A.V.; SANTANA JÚNIOR, E.B.; PAMPONET, A.J.M. Uso da manipueira na bananeira 'Terra Maranhão' e seus efeitos no solo e na produtividade. **Revista Irriga**, v.17, p.353-363, 2012.

SILVA, D.J.H. da; VALE, F.X.R. do. **TOMATE: Tecnologia e Produção**. 1 ed. Viçosa: UFV, v. 1, 355p., 2007.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11(39), p. 3733-3740, 2016. DOI: 10.5897/AJAR2016.11522.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, p.8-11, 2000.

SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; CAMPOS, V.P.; DUTRA, M.R. Época de aplicação do acibenzolar-S-methyl e da abamectina no controle de *Meloidogyne* sp. em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, 194p., 2002.

SIVAN, A.; CHET, I. Microbial control of plant diseases. *In*: MITCHELL, R. **New Concepts in Environmental Microbiology**. ed. Wiley-Liss Inc., New York, p. 335-354, 1992.

SOUSA, N.D.L.; LIMA, W.T.; COELHO, T.V.; SOARES, A.L.; CAIXETA, L.M.S.; PEREIRA, R.C.; OLIVEIRA, C.B.; POMELLA, A.W.V. **Influência de diferentes doses de Quality (*Trichoderma asperellum*) e Onix (*Bacillus methylotrophicus*) no sulco de plantio na produtividade de soja (*Glycine max* L.)**. Resumo de Congresso, COMEIA, 06 a 10 de outubro de 2014 – Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas, MG.

SOUZA, D.M.G.; MIRANDA, L.N.; OLIVEIRA, S.A. Acidez do solo e sua correção. *In*: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, cap.5, p.205-275, 2007.

SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soil-borne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. **Intitute Pest Manage**. Rev. 3, p. 169-175, 1998.

STIRLING, G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes**. Wallingford, UK, CABI Publishing, 282 p., 1991.

SUMAN, P.A.; URBANO, L.H.; LEONEL, M.; MISCHAN, M.M. Efeitos de parâmetros de fermentação na produção de etanol a partir de resíduo líquido da industrialização da mandioca (manipueira). **Acta Scientiarum Technology**. Maringá, v.33, n.4, p. 379-384, 2011.

TAVAKOL-NORABADI, M.; SAHEBANI, N.; ETEBARIAN, H.R. Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) disease by *Pseudomonas fluorescens* (ChAO). **Archive of Phytopathology and Plant Protection**, v.47, p.615–621, 2013.

TAYLOR, D.T.; SASSER, J.N. Biologia, identificação y control de los nematodos de nódulo de la raiz (*Meloidogyne* species). **Coop. Publ. Dept. Plant Pathology**, North Carolina State University Graphics, Raleigh, NC, 111p., 1983.

TAYLOR, S.L. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 17, n. 2, p. 91-128, 1986.

TIAN, B.; YANG, J.; ZHANG, K. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. **FEMS, Microbiology Ecology**, v.61, p. 197-213, 2007.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

TRIANANTAPHYLLOU, A. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. *In*: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds.) **Advanced Treatise on Meloidogyne**. v.1. Raleigh: North Carolina State Graphics, p. 113-126, 1985.

TURNER, J.T.; BACKMAN, P.A. Biological cultures test control. **Plant Diseases**, v.1, 49p., 1986.

VALLAD, G.E.; GOODMAN, R.M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, v. 44, p.1920-1934, 2004.

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 85–97, 1999.

VERNOOIJ, B.; FRIEDRICH, L.; AHL-GOY, P.; STAUB, T.; KESSMANN, H.; RYALS, J. 2,6-dichloroisonicotinic acid-induced resistance to pathogens without the accumulation of salicylic acid. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 8, p. 228–234, 1995.

VIEITES, R.L.; BRINHOLI, O. Efeitos da aplicação da manipueira na conservação pós colheita da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Energia na Agricultura**, v. 10, n.1, 1995.

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

WALTERS, D.R.; WALSH, D.; NEWTON, A.C.; LYON, G.D. Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors. **Phytopathology**, v.95, p.1368-1373, 2005.

WILLIAMSON, V.M. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. **Annual Review Phytopathology**, v.36, p 277-293, 1998.

WOOD, T. The isolation, properties, and enzymic breakdown of linamarin from cassava. **Journal of the Science Food and Agricultural**, London, v.17, n.1, p.85-90, 1966.

WOSIACKI, G.; CEREDA, M.P. **Valorização de resíduos de processamento da mandioca**. Publicação Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, v. 8, p. 27-43, 2002.

XIA, Y.; XIE, S.; MA, X.; WU, H.; WANG, X.; GAO, X. The *purL* gene of *Bacillus subtilis* is associated with nematicidal activity. FEMS, **Microbiology Letters**, v.322, p. 99-107, 2011.

ZHOU, L.; YUEN, G.; WANG, Y.; WEI, L.; JI, G. Evaluation of bacterial biological control agents for control of root-knot nematode disease on tomato. **Crop Protection**, v.84, p.8-13, 2016.