



GUSTAVO MORAIS DE ASSIS

**CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* COM COMPOSTOS
ORGÂNICOS VOLÁTEIS EXTRAÍDOS DE *Annona
muricata***

LAVRAS – MG

2020

GUSTAVO MORAIS DE ASSIS

**CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* COM COMPOSTOS
ORGÂNICOS VOLÁTEIS EXTRAÍDOS DE *Annona
muricata***

Monografia apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Curso de Agronomia, para a
obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Vicente Paulo Campos

Orientador

Letícia Lopes de Paula

Co-orientadora

LAVRAS – MG

2020

Aos meus pais e irmãs, por todo apoio, carinho e amor...

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os deuses por sempre me ajudarem e nunca me deixarem desistir. Obrigado por serem os meus guias nessa jornada.

Aos meus pais Francisca e Cesar pelo apoio e auxílio durante a graduação.

Às minhas irmãs Caroline e Daniele, por me aguentarem por todos esses anos.

À Universidade Federal de Lavras por me proporcionar a realização de um sonho.

A CNPq pela bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Vicente Paulo Campos, pela orientação, compreensão, força, conhecimento e amizade.

A doutoranda Letícia, por ter me ajudado, coorientado e cuidado de mim durante o meu tempo no laboratório.

Ao laboratório de Nematologia, em especial para Flaminia, Aline, Luma, Maysa, Pamella, Barbhara, Juliana e Tarley, pela amizade, companheirismo e auxílio nas minhas dúvidas, sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus amigos, Ilze, Daniela, Isabela, Lindaura, Paula, Jaqueline, Zorzi, Maria Lara, Larissa, André, Vitor, Mirelli, Amanda, Letícia, Gian, Thales, Ana Luiza, Deborah, Nayara, Gabriel.

A melhor amiga que alguém poderia ter e toda a sua família, Eliandra. Obrigado pelos filmes, lanches, dormidões, partidas de magic, noites em claro jogando WOW, partidas de tabuleiros, just dance e Mortal Kombat, e obrigado por estar em minha vida.

MUITO OBRIGADO!!!

RESUMO

Diversos fatores contribuem para a redução da produtividade agrícola mundial, sendo um dos principais os nematoides das galhas. Dentre esses fitoparasitas, o gênero *Meloidogyne* possui vasta gama de hospedeiros, com destaque para a espécie *Meloidogyne incognita*. Sua alta adaptabilidade a diversos ambientes concomitante ao uso contínuo de plantas suscetíveis contribuem para o difícil controle dessa espécie. O principal controle atribuído aos fitonenematoides é o químico, porém devido à alta toxicidade ao ambiente e seres humanos, esses produtos estão sendo retirados do mercado reduzindo as opções de controle. Com o crescente aumento da sustentabilidade, torna-se importante o uso de alternativas menos tóxicas. Nesse contexto, as pesquisas utilizando compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por plantas tem se tornado frequentes, servindo como base para novos produtos. Portanto, os objetivos desse trabalho foram: avaliar o efeito nematicida de diferentes concentrações dos COVs produzidos pelo macerado da folha graviola em juvenis de segundo estágio (J₂) tanto *in vitro* quanto *in vivo* em casa de vegetação; analisar o efeito da biofumigação do macerado de folhas de graviola em substrato contendo ovos de *M incognita*; e caracterização dos compostos orgânicos voláteis emitidos pelo macerado da folha de graviola.

Palavras Chaves: Graviola, biofumigação, controle alternativo.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 Fitonematoides.....	8
2.2 Uso de plantas contra os fitonematoides.....	9
2.3 Compostos orgânicos voláteis.....	10
2.4 <i>Annonaceae</i>	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Obtenção do material vegetal.....	13
3.2 Obtenção de ovos e juvenis do segundo estágio (J ₂) de <i>Meloidogyne incognita</i>	13
3.3 Efeito tóxico dos voláteis emitidos pelo macerado de folha de <i>Annona muricata</i> sobre juvenis de segundo estágio de <i>M. incognita</i>	13
3.4 Infectividade de juvenis do segundo estágio de <i>M. incognita</i> após exposição aos voláteis emitidos pelo macerado de folha de <i>Annona muricata</i>	14
3.5 Biofumigação do substrato	14
3.6 Caracterização dos compostos orgânicos voláteis	15
3.7 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas	16
4 RESULTADOS	17
4.1 Efeito tóxico dos voláteis emitidos pelo macerado de folha de <i>Annona muricata</i> sobre juvenis de segundo estágio de <i>M. incognita</i>	17
4.2 Infectividade de juvenis do segundo estágio de <i>M. incognita</i> após exposição aos voláteis emitidos pelo macerado de folha de <i>Annona muricata</i>	17
4.3 Biofumigação do substrato	18
4.4 Caracterização dos compostos orgânicos voláteis	19
5 DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÕES	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1. INTRODUÇÃO

Diversos fatores contribuem para a redução da produtividade agrícola mundial. Entre os principais estão os fitonematoides que além dos prejuízos diretos as culturas, ocasionam a desvalorização da propriedade. Estima-se que a perda de produtividade pode chegar a 160 bilhões de dólares anuais, equivalendo a 14,6% da produtividade das principais culturas (NICOL, et al., 2011).

Tradicionalmente o método de controle mais recomendado por agrônomos e utilizado por produtores é o químico. Porém, devido à alta toxicidade ao ambiente e a humanos, os principais princípios ativos estão sendo retirados do mercado (NOLING, 2002). A falta de opções e a busca por novos métodos de controle com baixa toxicidade ao homem possibilitou a pesquisa com os compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por plantas.

Segundo Dudareva et al. (2006), os COVs são produzidos pelas plantas como meio de comunicação com ambiente que a circunda. Os COVs têm demonstrado toxicidade a fitonematoides, e por isso as pesquisas com essas substâncias tem crescido substancialmente (FERNANDO et al., 2005; GU et al., 2007). Devido a tal fato, diversas plantas foram testadas, visando a análise da toxicidade e identificação dos COVs a fitonematoides. Alguns exemplos são: mostarda (BARROS et al., 2014a), mamona (Pedroso et al., 2019a), agrião, maracujá (SILVA et al., 2019), entre outras.

Na literatura não há registro do uso de COVs extraídos da *Annona muricata* (graviola) para o controle dos fitonematoides. No entanto, Dang et al. (2011) e Wiratno et al., (2009) realizaram experimentos nos quais foram utilizadas partes da planta da graviola afim de avaliar a sua atividade nematicida. Portanto, objetivou-se nesse trabalho avaliar o efeito nematicida de diferentes concentrações dos COVs produzidos pelo macerado da folha graviola em juvenis de segundo estágio (J₂) tanto *in vitro* quanto *in vivo* em casa de vegetação; analisar o efeito da biofumigação do macerado de folhas de graviola em substrato contendo ovos de *M incognita*; e caracterização dos compostos orgânicos voláteis emitidos pelo macerado da folha de graviola.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fitonematoides

Os fitonematoides são cilíndricos, transparentes, e se diferenciam dos demais devido a presença de estile, fator essencial para o parasitismo em plantas. São responsáveis por reduções expressivas na produção de alimentos, cerca de 14,6% de perdas mundiais (NICOL, et al., 2011).

Geralmente os sintomas associados a este patógeno são redução do crescimento e desenvolvimento da planta, murcha e amarelecimento ou clorose. A clorose, pode ser atribuída a diversas doenças e deficiências nutricionais, levando ao diagnóstico incorreto, aumentando a recomendação de adubos e herbicidas, e conseqüentemente o custo de produção (FERRAZ, BROWN, 2016). Dependendo da densidade populacional, suscetibilidade da cultivar e das condições ambientais pode ocorrer a morte da planta (TIHOHOD, 2000). Além disso, as raízes com ferimentos ocasionados pela penetração dos fitonematoides, servem como porta de entradas para outras doenças (MOLINARI, 2009).

Dentre os diversos gêneros de fitonematoides, um dos que mais se destaca é o *Meloidogyne*, conhecido popularmente como nematoides das galhas. Os principais sintomas incluem a formação de galhas e a diminuição do sistema radicular da planta, provocando dificuldade na absorção e translocação da água, resultando na clorose (SIKORA; FERNÁNDEZ, 2005). Este representa cerca de setenta por cento dos prejuízos causados por todos os fitonematoides (SASSER; FRECKMAN, 1987). Tal fato é devido a ampla gama de hospedeiros, estimando-se que o grupo seja capaz de hospedar mais de três mil espécies vegetais, incluindo diversas espécies agrícolas de importância comercial e plantas daninhas (CASTAGONE-SERENO, 2002; TIWARI; EISENBACK; YOUNGMAN, 2009).

A espécie que mais se destaca dentro do gênero é o *Meloidogyne incognita*. A alta adaptação a diversas condições ambientais, o uso contínuo de terras agrícolas com culturas suscetíveis e hospedeiras, associado à alta taxa de parasitismo e reprodução, ocasionam um aumento populacional dificultando o seu controle (MACHADO, 2014).

O principal método de controle dos fitonematoides é realizado com produtos químicos, popularmente conhecidos como nematicidas. Porém, devido à alta adaptabilidade dos fitonematoides a diversos ambientes, essas substâncias não são cem

por cento eficazes em sua aplicação. Além disso, são considerados extremamente tóxicas para o homem, o meio ambiente e aos animais. Conseqüentemente, a comercialização de diversos princípios ativos estão sendo proibidos, dificultando cada vez mais o controle desses parasitas (NOLING, 2002; ANVISA 2012; ANVISA 2017).

Devido a proibição desses produtos e com o crescente aumento das questões ambientais e sustentabilidade, novas alternativas de controles estão sendo pesquisadas para o controle dos fitonematoides. Surgem então diversas técnicas cujo o foco é a aplicação de compostos, extratos, resíduos produzidos por espécies vegetais e compostos orgânicos voláteis produzidos por órgãos de plantas (CABONI E NTALLI, 2014).

2.2 Uso de plantas contra os fitonematoides

A mamona (*Ricinus communis*) apresenta um grande potencial para o controle populacional dos fitonematoides. Na literatura, é possível encontrar relatos da redução da população de *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus zaeae* e *P. brachyurus*, através da incorporação da torta de mamona ao solo (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2010). A torta de mamona possui efeito nematicida e pode ser uma alternativa de baixo custo ao controle químico casualmente utilizado (AKHTAR E MAHMOOD, 1996). Além disso, os compostos orgânicos voláteis produzidos pela torta de mamona também são capazes de produzir efeito sobre a mortalidade e imobilidade dos J₂ de *M. incognita* (PEDROSO, ET AL. 2019).

Diversas espécies de brassicas são estudadas contra os fitonematoides, sendo a mostarda (*Brassica spp.*), a mais encontrada na literatura. Barros et al. (2014b), comprovaram o efeito dos COVs da folha de mostarda crespa (*Brassica juncena*) contra juvenis e ovos de *M. incognita*. Após 24 horas de exposição foi relatado uma mortalidade de 91 a 100%. Além disso, também foi possível observar uma diminuição no número de galhas e ovos no teste de biofumigação.

Outra espécie vegetal com efeito nematicida é o Nim (*Azadirachta indica*), muito conhecido por seu uso em diversos inseticidas encontrados no mercado (CHITWOOD, 2002). Além disso, possui alto efeito nematicida, destacando-se como sendo uma das plantas mais estudadas em relação ao controle de nematoides (BALDIN et al., 2012). Diversos compostos foram identificados no macerado de folha do nim. Barros et al. (2014), comprovaram que os COVs produzidos pelo macerado da folha de nim são tóxicos a J₂ e ovos de *M. incognita*.

Plantas medicinais e aromáticas também apresentam compostos com ação nematicida. Segundo Silva et al. (2020), os COVs presentes na folha de *Dysphania ambrosioides*, conhecida como erva de santa maria, reduziu significativamente o número de ovos e galhas, e causou uma alta imobilidade aos J₂ de *M. incognita* quando comparado a testemunha. Silva et al. (2020), testaram o efeito dos COVS produzidos por *Cymbopogon nardus* (citronela), onde além de alta imobilidade, apresentou alta mortalidade aos J₂ de *M. incognita*.

As sementes de *Carica papaya* (mamão) também possuem compostos com efeitos nematicidas contra *M. incognita* (GOMES et al., 2020) e *M. javanica* (NEVES et al., 2011). Além disso, Gomes et al. (2020), demonstraram que após 48h de exposição dos volatéis da semente de mamão, obteve-se 100% de mortalidade contra os J₂ de *M. incognita*, além de redução no número de ovos e galhas encontradas nas raízes de tomateiro.

2.3 Compostos orgânicos voláteis

Os Compostos orgânicos voláteis (COVs), segundo Dudareva et al. (2006), são componentes orgânicos, que por possuírem uma alta pressão de vapor sob condições normais conseguem se vaporizar, atravessando barreiras de difusão, sendo liberados para atmosfera. Os COVs, estão presentes nos vegetais, representando cerca de 1% dos metabólitos secundários produzidos. Estima-se que mais de 1700 COVs foram isolados de cerca de 90 famílias de plantas, utilizando como fonte folhas, flores, frutos e raízes. Porém, dos isolados obtidos do solo, em sua grande maioria, eles são produzidos por fungos e bactérias (KNUDSEN E GERSHENZON, 2006).

As técnicas mais utilizadas para estudar o efeito dos COVs, garantindo o ambiente hermeticamente fechado, são o uso do tubo Supelco[®] e a biofumigação. Barros et al. (2014b), através de ambas as técnicas, comprovou a presença de COVs tóxicos na planta de mostarda contra *M. incognita*. Os resultados mostraram uma diminuição significativa no número de galha e de ovos produzidos no teste de biofumigação. Demonstrando o potencial da técnica para o estudo de novos componentes orgânicos voláteis para combate a nematoides.

Pedroso et al. (2019a), utilizando as técnicas citadas, comprovaram o efeito nematicida dos COVs extraídos da torta de mamona. 32 compostos foram identificados e

4 (fenol, 4-methylfenol, γ -decalactone e escatole) foram testados in vitro e in vivo contra os J₂ de *M. incognita*, apresentando uma alta taxa de mortalidade e baixa CL₅₀.

Silva et al. (2020b), utilizando a técnica do tubo Supelco, testaram o efeito nematicida dos COVs extraídos do agrião (*Nasturtium officinale*) e maracujá (*Passiflora edulis*), sendo identificadas 26 e 12 compostos respectivamente. A molécula escolhida e testada contra o *M. incognita* foi a 1-Octanol, apresentado um efeito tóxico e nematicida, com uma CL₅₀ de 382, 5 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

Gomes et al. (2020), comprovaram o efeito nematicida dos COVS extraídos do extrato da semente de mamão. No total, a análise cromatográfica gasosa identificou 17 compostos, 10 foram selecionados e testados in vivo contra o *M. incognita*. Dessas as que apresentaram alta mortalidade em baixa concentração foram: acetato de vinila, fenil acetaldeído, benzoil acetonitrila. A CL₅₀ encontrada foi menor que a do nematicida utilizado (Carbofuran), sendo de 61,59 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 101,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 14,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente e 164,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a do Carbofuran.

2.4 Annonaceae

A família *Annonaceae* possui cerca de 2500 espécies e 135 gêneros (CHATROU et al. 2004). No Brasil é utilizada principalmente para o agronegócio, sendo o país um dos principais produtores, junto ao México, Espanha, Austrália, Venezuela, Chile, Peru e Filipinas (PINTO et al., 2005). A sua principal ocorrência é na Amazônia, mas também pode ser encontrada no cerrado e mata atlântica. As principais espécies do gênero são (*A. muricata*), pinha (*A. squamosa*), condessa (*A. reticulata*), cherimóia (*A. cherimola*) e atemóia (*A. squamosa* x *A. cherimola*). As principais destinações dos frutos são para comercialização de polpa, fruta fresca, suco e produtos processados.

Alguns órgãos da *A. muricata* como sementes, frutos e folhas são utilizadas em pesquisas médicas e popularmente conhecidas por seus efeitos terapêuticos, eficazes contra: estresse, diabetes, inflamação, câncer, entre outros (FERREIRA et al., 2013; FONSECA et al., 2013; BUSTOS et al., 2017).

Contra fitonematoides, há registros na literatura de duas espécies utilizadas em pesquisas, são elas *Annona squamosa* e *Annona muricata*. Dang et al. (2011), utilizaram compostos extraídos das sementes da *A. squamosa* no controle do *M. incognita*, e através dos resultados obtidos foi possível concluir que houve efeito nematicida dos compostos secundários pertencentes ao grupo da das acetogeninas (AAs): *esquococina*,

esquamocina-G e *esquococina-H*, contra *M. incognita*. Já Wiratno et al., (2009) utilizou extratos extraídos do pó das sementes de *A. Muricata* contra o *M incognita*, sendo que os resultados obtidos não foram considerados significativos devido à baixa mortalidade, cerca de 4 a 5%.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do material vegetal

Folhas de *Annona muricata*, conhecida popularmente como graviola, foram coletadas às 9 horas da manhã no período de julho a março de 2019. Somente folhas coletadas recentemente foram utilizadas para o preparo do macerado e cromatografia gasosa. Elas foram coletadas de uma árvore localizada no Departamento de Engenharia (DEG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Para fazer a maceração utilizou-se um triturador de alho, e somente as folhas que aparentam estar com um melhor estado fisiológico foram maceradas.

3.2 Obtenção de ovos e juvenis do segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne incognita*

Para obtenção dos ovos e juvenis de segundo estágio (J₂) foram inoculados tomateiros com populações puras de *M. incognita*. Para verificar a pureza do inóculo utilizado, realizou-se a eletroforese de isoenzimas (CARNEIRO & ALMEIDA, 2001). As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante todo o estágio de crescimento e desenvolvimento do nematoide. Posteriormente, foi utilizada a técnica de Hussey e Barker (1973) para fazer a extração dos ovos. Em seguida, as raízes do tomateiro foram lavadas em água parada para retirada de partículas de substratos aderidas, cortadas em pedaços de aproximadamente 0,5cm de comprimento e colocadas no liquidificador com hipoclorito 0,5% por 20 segundos. A suspensão obtida foi vertida em duas peneiras, a primeira de 200 mesh a qual é responsável por reter as partículas mais grosseiras (como as raízes) e a segunda, acoplada logo a após a primeira, de 500 mesh, onde os ovos ficam retidos. Os ovos obtidos foram retirados e colocados em uma câmara de eclosão para a obtenção de J₂, somente foram utilizados os J₂ eclodidos após 48h.

3.3 Efeito tóxico dos voláteis emitidos pelo macerado de folha de *Annona muricata* sobre juvenis de segundo estágio de *M. incognita*

Para a realização dessa etapa, o material vegetal foi esterilizado com álcool 70% por um minuto, seguido de hipoclorito a 2% por dois minutos e posterior lavagem com água

destilada e esterilizada por dois minutos. As folhas da graviola foram maceradas com a utilização de um triturador de alho. Foram utilizadas seis quantidades nesse ensaio: 0g (testemunha), 0,5g, 0,75g, 1,0g, 1,5g e 2,0g. A técnica utilizada foi desenvolvida por Barros et al., (2014a) que consiste na utilização de tubos SUPELCO® (80 x 28 mm). Em cada tudo foram adicionados 35g de areia autoclavada, e posteriormente adicionou-se o macerado vegetal. Em todos os frascos foram adicionados um microtubo de 1,5ml, enterrados até a metade do extrato vegetal e mantido vazio. Os frascos foram vedados com uma tampa rosqueada revestida por uma película de silicone, e incubados a uma temperatura de 28°C, mantidos no escuro durante três dias para a formação da câmara de gás. Após esse período, com o ajuda de uma seringa foram depositados nos microtubos uma suspensão contendo 300 J₂ de *M. incognita*. Os frascos foram novamente colocados na incubadora na mesma temperatura durante dois dias. Ao final do tempo de exposição, os frascos foram abertos e 100µL da suspensão de J₂ dos microtubos foi pipetada em uma placa ELISA. A contagem do número de J₂ móveis e imóveis foi feita através de um microscópio de lente objetiva invertida. Foi estimado o número de J₂ móveis e imóveis, com o auxílio de microscópio de objetiva invertida. Para quantificar o número de nematoides mortos, pipetou-se 20 µL de hidróxido de sódio (NaOH) a 1.0 mol L⁻¹ (CHEN & DICKSON, 2000). Os J₂ que permaneceram imóveis, durante aproximadamente 3 minutos, foram classificados como mortos.

3.4 Infectividade de juvenis do segundo estágio de *M. incognita* após exposição aos voláteis emitidos pelo macerado de folha de *Annona muricata*

No teste de infectividade, os J₂ foram expostos aos COVs do macerado das folhas de graviola seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. Porém, foi adicionado uma suspensão aquosa de 1 mL contendo 600 J₂ ao contrário dos 300 do teste anterior. Também foi retirado uma alíquota de 100µL com o objetivo de confirmar os resultados obtidos anteriormente. Os 540 J₂ restantes foram diluídos em 4 mL de água e posteriormente inoculado em mudas de tomateiro com 20 dias de idade, plantadas em copos plásticos de 300 mL com o substrato multiplant®. Depois de inoculadas, as mudas foram mantidas por 45 dias em casa de vegetação. Passado esse tempo, contabilizou-se o número de galhas e ovos encontrados no sistema radicular.

3.5 Biofumigação do substrato

As folhas de *Annona muricata* foram coletadas e esterilizadas conforme descrito anteriormente. As concentrações utilizadas de volume de substrato foram de 0%, 1%, 2%, 4% e 8%. Considerando que o copo plástico de 300 mL utilizado na biofumigação possui capacidade para 120 g de substrato, à quantidade correspondente de macerado foi de 0, 1,2, 2,4, 4,8 e 9,6 gramas do material esterilizado e macerado. A concentração de 0% foi considerada como testemunha, no qual em substituição ao material vegetal foram adicionados 20 mL de água destilada e autoclavada. Em cada tratamento utilizou-se uma suspensão contendo 5000 ovos de *M. incognita*. A umidade do substrato foi ajustada a 60% da capacidade de campo. O substrato com os ovos, material vegetal e testemunhas foram revolvidos visando à homogeneização da mistura. As misturas foram colocadas em copos plástico de 300 mL e vedados por filme plástico para garantir o não escape dos compostos. Após o período de 5 dias, o plástico de vedação foi removido e transplantou-se uma muda de tomateiro de aproximadamente 20 dias. Aos 45 dias, foram avaliados os números de galhas e ovos formados no sistema radicular da planta.

3.6 Caracterização dos compostos orgânicos voláteis

Para se realizar a caracterização das moléculas que foram emitidas pelos COVs foi utilizada a técnica da microextração em fase sólida (SPME) no modo headspace (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990). Foram adotados os seguintes parâmetros: fibra DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno, Carboxen, Polidimetilsiloxano); temperatura de extração de 55 °C e agitação da amostra a 250 rpm, tempo de extração de 35 minutos e tempo de dessorção no injetor do GC de 2 minutos. Para a separação e identificação dos COVs foi utilizado um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas GC-MS QP 2010 Ultra (Shimadzu, Japan) equipado com injetor automático para líquidos e gases AOC-5000 (Shimadzu, Japan) e coluna HP-5 (5% fenil-95% dimetilsiloxano) de dimensões 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm. A temperatura do injetor foi de 250 °C, da interface de 240 °C e da fonte de íons do detector de 200 °C. O injetor foi operado no modo splitless ou no modo split 1:4, de acordo com a intensidade dos picos nas amostras. Como gás de arraste foi utilizado He grau 5.0 a 1,0 ml min⁻¹. A programação da temperatura do forno do GC foi de 40 °C até 160 °C a 3 °C min⁻¹ e então até 240 °C a 10 °C min⁻¹. O MS foi operado no modo de varredura na faixa de 40-350 v.µa. Para identificação dos COVs nas amostras, os espectros de massas de cada pico do

cromatograma foram extraídos através do programa Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System (AMDIS) v. 2.63. A identificação dos COVs foi realizada por comparação dos espectros de massas dos picos das amostras com espectros da biblioteca NIST pelo programa Mass Spectral Search Program v. 1.7 (NIST, Washington - DC, USA) e por comparação entre os índices de retenção obtidos experimentalmente (RI Exp.) com os índices de retenção da literatura (RI Lit.) (NIST 2013; ROHLOFF AND BONES 2005). Para a comparação entre os espectros de massas foram considerados somente picos em que a similaridade entre os espectros foi maior que 80%. Os índices de retenções experimentais foram obtidos através da injeção de uma série homóloga de alcanos. A extração dos COVs foi realizada no macerado (1,5 g), de folhas de graviolas, após a formação de câmara de gás por 48 horas.

3.7 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas

Todos os ensaios foram realizados duas vezes, em delineamento inteiramente casualizados, com 5 repetições para cada tratamento. Os experimentos foram submetidos a análise combinada a fim de verificar se havia diferença significativa entre eles. Analisou-se o ensaio “Efeito tóxico dos voláteis emitidos pelo macerado de folha de *Annona muricata* sobre juvenis de segundo estágio de *M. incognita*” de forma conjunta, pois não foram observadas diferença significativa entre os experimentos ($P > 0,05$), considerando-se 10 repetições por tratamento. Devido a semelhança, do experimento de curva de concentração, as análises no Probit foram realizadas com a média dos dois experimentos, constando 10 repetições no total. Os dados foram previamente submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade (Barlett). No caso dos dados que não atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade, estes foram submetidos à transformação. Os dados do ensaio “Infectividade de juvenis do segundo estágio de *M. incognita* após exposição aos voláteis emitidos pelo macerado de folha de *Annona muricata*” relativos ao número de galhas e ovos foram transformados para $\sqrt{(x+0,5)}$. Os dados obtidos no experimento de biofumigação de substrato com macerado da folha de graviola, foram transformados de duas formas, sendo que para o número de galhas utilizou-se $\sqrt{(x)}$ e para ovos utilizou-se $\log(x)$. Atendido aos pressupostos, aplicou-se o teste F, por meio da análise de variância. Quando o teste F foi significativo ($P < 0,05$), as médias referentes aos diferentes tratamentos foram comparadas pelo teste de

Tukey ($P < 0,05$). Para as variáveis quantitativas realizou-se análise de regressão, utilizando-se modelos de regressão lineares e não lineares.

4 RESULTADOS

4.1 Efeito tóxico dos voláteis emitidos pelo macerado de folha de *Annona muricata* sobre juvenis de segundo estágio de *M. incognita*

Os compostos liberados pelo macerado das folhas da graviola possuem efeito tóxico a *M. incognita*, afetando a mobilidade e mortalidade dos J₂ em todas as quantidades utilizadas (Figura 1). Houve diferença estatística significativa entre os tratamentos analisados ($P < 0,05$). A maior quantidade (2g) resultou em 100% de mortalidade dos J₂ utilizados, quando comparada a testemunha (0g).

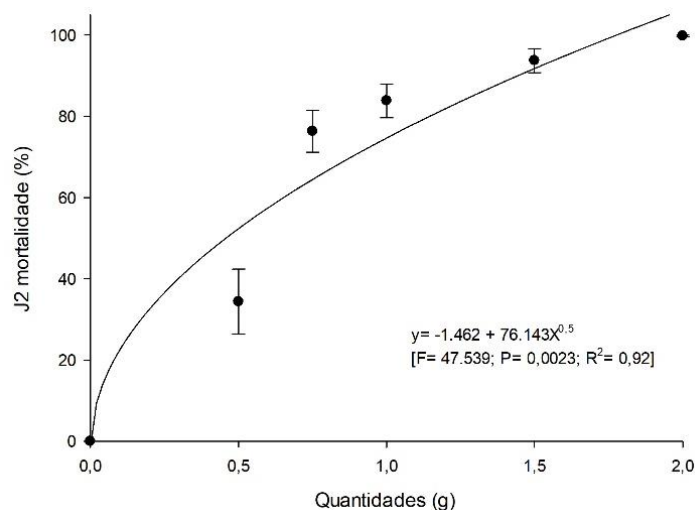


Figura 1. Mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. incognita* após exposição por 48h aos COVs emitidos por diferentes quantidades de macerado de folha de graviola (média de 10 repetições). Barras representam o erro padrão da média.

4.2 Infectividade de juvenis do segundo estágio de *M. incognita* após exposição aos voláteis emitidos pelo macerado de folha de *Annona muricata*

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) quando avaliou-se a infectividade dos J₂ avaliada através do número de galhas. A relação entre as concentração e os parametros avaliados foi inverso, pois a medida que se aumentou a quantidade de macerado reduziu-

se o número de galhas e ovos, em ambos experimentos realizados (Figura 2). Comparando a testemunha com a maior concentração, no primeiro experimento observou-se redução de 85% no número de galhas e 95% no número de ovos, já no segundo experimento a redução foi de 91 e 95% respectivamente.

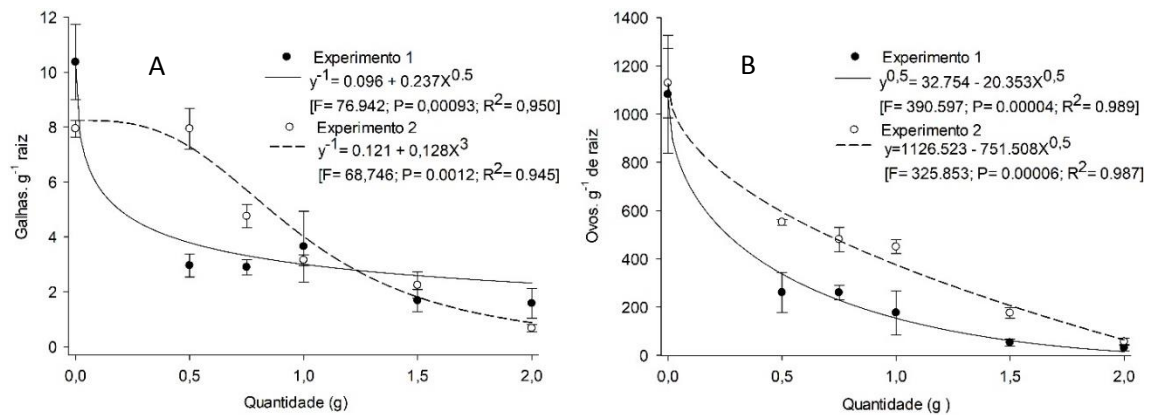


Figura 2. Infectividade e reprodução de *Meloidogyne incognita* após a exposição dos juvenis de segundo estágio (J2) por 48 h aos compostos orgânicos voláteis de macerados de folhas de graviola em diferentes concentrações. A) Galhas. grama⁻¹ de raiz; B) Ovos. grama⁻¹ de raiz⁻¹. Barras representam o erro padrão da média.

4.3 Biofumigação do substrato

O aumento da concentração do macerado de folhas diminui significativamente ($P < 0,05$) a infectividade e a reprodução do *M. incognita* nas raízes do tomateiro (Figura 3). Na maior quantidade do material (9,6g), ocorreu uma redução de 79% no número de galhas e 93% no número de ovos, para o primeiro experimento. Já no segundo experimento a redução foi de 94% e 96% respectivamente.

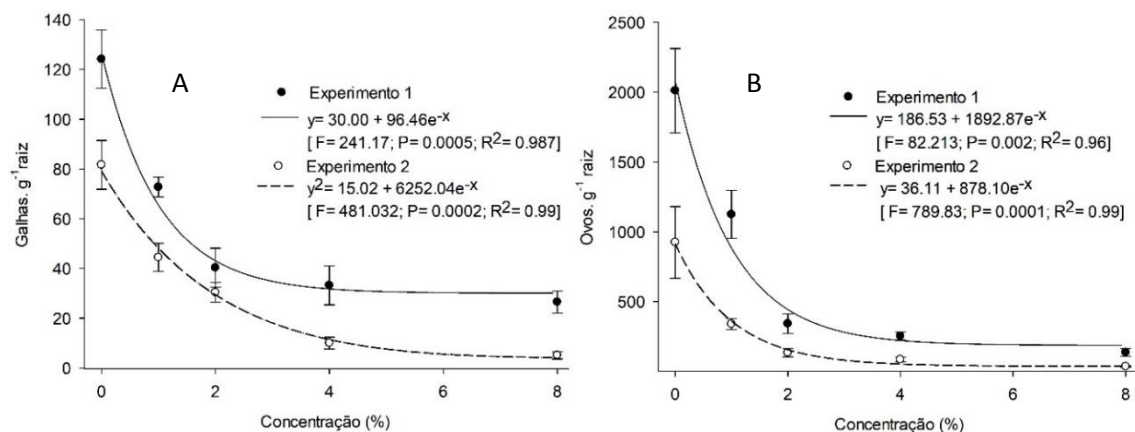


Figura 3. Número de galhas (A) e número de ovos (B) de *Meloidogyne incógnita* em raízes de tomateiro, resultantes da biofumigação de ovos em diferentes concentrações de macerados de folha de graviola incorporadas ao substrato em copos e, posteriormente, fechados hermeticamente. As barras indicam o erro padrão da média.

4.4 Caracterização dos compostos orgânicos voláteis

No total, foram identificadas 41 moléculas na emissão dos compostos do macerado de folhas de graviola. Os compostos identificados nos macerados foram categorizados em baixa (“v”), média (“vv”) e alta (“vvv”) intensidade. Somente os compostos hexanal, 2-hexenal, hexanol, coapeno e E-cariofileno foram classificados em alta ou média intensidade. Todos os outros 35 compostos foram identificados com baixa intensidade (Tabela 1).

Tabela 1. COVs identificados no macerado de folha de graviola pela microextração.

Composto	Grupo	RI Exp.	RI Lit. ^a	Graviola Folha
(1) etanol	Álcool	-	-	v
(2) 3-metil-butanol	Álcool	731,797	734	v
(3) 3-hexen-1-ol	Álcool	849,855	850	v
(4) hexanol	Álcool	866,377	863	vvv
(5) 3-metil-butanal	Aldeído	650,943	654	v
(6) hexanal	Aldeído	799,078	800	vv
(7) 2-hexenal	Aldeído	848,696	847	vv
(8) hexanql	Aldeído	866,377	863	vvv
(9) benzaldeído	Aldeído	957,143	952	v
(10) 2-etilhexenal	Aldeído	998,721	-	v
(11) 4-etilbenzaldeído	Aldeído	1160,47	1164	v
(12) 2-nonanone	Cetona	1090,49	1091	v
(13) acetato de etila	Éster	610,377	606	v
(14) hexanoato de etila	Éster	992,537	997	v
(15) octanoato de etila	Éster	1191,5	1195	v
(15) acetato de hexila	Éster	1007,08	1007	v
(17) α -pineno	Terpenos	929,424	932	v
(18) sabineno	Terpenos	966,738	969	v
(19) β -pineno	Terpenos	972,281	974	v
Continuação				

Composto	Grupo	RI Exp.	RI Lit.^a	Graviola Folha
(20) mirceno	Terpenos	982,942	988	V
(21) terpineno	Terpenos	1009,07	1014	V
(22) limoneno	Terpenos	1026,11	1024	V
(23) trans- β -ocimeno	Terpenos	1042,92	1044	v
(24) γ -elemeno	Sesquiterpenos	1332,8	1335	v
(25) α -cubebeno	Sesquiterpenos	1347,84	1345	v
(26) longiciclono	Sesquiterpenos	1370,84	1371	v
(27) coapeno	Sesquiterpenos	1376,31	1374	vv
(28) β -bourbureno	Sesquiterpenos	1385,42	1387	v
(29) β -elemeno	Sesquiterpenos	1391,12	1389	v
(30) E-cariofileno	Sesquiterpenos	1423,06	1417	vvv
(31) aromandreno	Sesquiterpenos	1441,51	1439	v
(32) E- β -farneseno	Sesquiterpenos	1454,37	1454	v
(33) α -Humuleno	Sesquiterpenos	1462,62	1452	v
(34) germacreno D	Sesquiterpenos	1489,08	1484	v
(35) β -selinene	Sesquiterpenos	1492,72	1489	v
(36) viridifloreno	Sesquiterpenos	1497,09	1496	v
(37) α -selinene	Sesquiterpenos	1501,25	1498	v
(38) γ -cadineno	Sesquiterpenos	1521,45	1516	v
(39) d-cadineno	Sesquiterpenos	1527,68	1522	v
(40) α -calacroleno	Sesquiterpenos	1544,64	1544	v
(41) óxido cariofileno	Sesquiterpenos	1586,53	1582	v

v—molécula presente; vv—molécula em maior pico no cromatograma.^a Índice de retenção teórico de acordo com a literatura (R.P. Adams, Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Ed., Allured Publishing Corp., Carol Stream, 2007.) (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>).

5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que os compostos orgânicos voláteis do macerado de folhas da *Annona muricata* possuem uma alta toxicidade ao fitonematoide *Meloidogyne incognita*, comprovado pela diminuição da infectividade e da reprodução nos tomateiros. Outros trabalhos também demonstraram o efeito nematicida dos COVs a fitonematoides (BARROS et al., 2014b, PEDROSO et al., 2019, SILVA et al., 2020).

Não se sabe ao certo como os COVs atuam na mortalidade dos nematoides. No entanto, segundo Barros et al. (2014b) essa mortalidade pode estar diretamente associada a atuação dos COVs no sistema nervoso dos nematoides, impedindo-os de reconhecer o hospedeiro e conseqüentemente afetando a sua capacidade de formar o local de alimentação.

A biofumigação do substrato com macerado de folhas de graviola também reduziu significativamente o número de galhas e ovos do *M. incognita* no tomateiro. Alguns trabalhos comprovam a eficácia da biofumigação com diferentes órgãos vegetais de plantas, como o da incorporação da farinha de sementes de mamão no solo visando o controle de *M. incognita* e *M. javanica* (NEVES et al., 2008; COUTINHO et al., 2009; NEVES et al., 2011).

A quantidade do macerado de folhas necessária para a aplicação em 1 ha considerando 10 cm de profundidade do solo, seria de aproximadamente 32 toneladas, se considerada a maior concentração utilizada que foi de 8% (m/m) ou 9,6g. Sendo assim o uso do macerado da folha de graviola seria mais vantajoso, pois a recomendação para brassicas é de aproximadamente 50 toneladas/ha (PLOEG, 2008).

Uma possível explicação para o efeito nematicida encontrado na folha graviola, durante o processo de biofumigação, é a presença de compostos secundários não voláteis, como as acetogininas (AAs) (LUNA, 2006). Elas são constituídas por longas cadeias de carbonos e possuem efeito pesticida contra diversas larvas de moscas e mosquitos, ácaros e pulgões (GUPTA et al., 2011; COSTA 2016).

O efeito de 10 AAs extraídas da semente de *Annona squamosa* foram testadas contra *M. incognita*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Phytophthora infestans* e *Puccinia recôndita*. Os resultados demonstraram que três AAs possuem efeitos melhores do que os controle químicos utilizados, sendo necessário uma menor concentração e tempo para ocasionar mortalidade (Dang et al., 2011). Portanto, possivelmente as AAs possuíram efeito sinérgico com os COVs, acrescendo o efeito toxico aos fitonematoides.

A caracterização dos compostos através da cromatografia identificou diferentes classes químicas (álcoois, fenóis, cetonas, ésteres e terpenos) nos gases emitidos pelo macerado. Essas diferentes classes podem interagir formando misturas complexas, possuindo diversas funções dentro da planta, inclusive efeito nematicida (MONTEIRO et al., 2014). Segundo Gu et al. (2007), algumas cetonas apresentam o um alto efeito nematicida contra os fitonematoides *Panagrellus redivivus* e *Bursaphelenchus xylophilus*.

Algumas moléculas identificadas nas emissões do macerado de graviola como 3-metil-1-butanol, 2-hexenal, benzaldeido, mirceno, limoneno, 2-nonanone, tem o seu efeito tóxico testado contra os nematelmintos (NTALLI et al., 2010; ECHEVERRIGARAY et al., 2010; KONG et al. 2007; ORTU et al., 2016; CHENG et al., 2017). No entanto, outras moléculas presentes no macerado da graviola como: α -pineno, β -pineno, mirceno, não obtiveram efeito satisfatório no controle de fitonematoides (ECHEVERRIGARAY et al., 2010; NTALLI et al., 2010). As moléculas como: 4-etilbenzaldeido, aromandreno, α -humuleno, α -cralacroleno, não possuem ação nematicida comprovada.

6 CONCLUSÕES

- Diferentes quantidades de macerado de folha de graviola apresentaram toxicidade a J2 de *M. incognita* tanto in vitro quanto in vivo;
- A biofumigação de substrato infestado com ovos de *M. incognita* reduziu significativamente a infectividade e reprodução do fitonematoide em tomateiro;
- Foram encontradas 41 moléculas diferentes no extrato da folha de graviola.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHTAR, M. AND MAHMOOD, I. Control of plant–parasitic nematodes with organic and inorganic amendments in agricultural soil. *Applied Soil Ecology*. v. 4, p. 243–247. 1996.
- ANVISA. Agrotóxico utilizado como chumbinho é retirado do mercado brasileiro. 2012. Disponível em: <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/Nfh>. Acesso em: 29 set. 2019.
- ANVISA. 2017. Consulta pública nº 202 de 20 outubro de 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/359435>. Acesso em: 30 set. 2019.
- ARTHUR, C.L.; PAWLISZYN, J. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, USA. v. 62, p.2145–2148. 1990.
- BALDIN, E.L.L; WILCKEN, S.R.S.; PANNUTI, L.E.R.; et al. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. *Summa Phytopathologica*, v. 38, p. 36-41. 2012.
- BARROS, A. F., V. P. CAMPOS, J. C. P. SILVA, L. E. LÓPEZ, A. P. SILVA, A. POZZA, E L. A. PEDROSO. Tempo de exposição de juvenis de segundo estágio a voláteis emitidos por macerados de nim e de mostarda e biofumigação contra *Meloidogyne incognita*. *Nematropica* v.44, p. 190-199. 2014b.
- BUSTOS, A.V. G. M.; JIMÉNEZ, M.G.; MORA R. S. The *Annona muricata* leaf ethanol extract affects mobility and reproduction in mutant strain NB327 *Caenorhabditis elegans*. *Biochemistry and Biophysics Reports*, v. 10, p. 282-286. 2017.
- CABONI, P.; NTALLI, N. G. Botanical Nematicides, Recent Findings. **In Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities**. Washington, DC. p. 145–157. 2014.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, v.25, p. 35-34. 2001.
- CASTAGONE-SERENO, P. Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematologica*. v.4, p.605-608, 2002.
- CHATROU, L.W.; RAINER, H.; MAAS, P.J.M. Annonaceae. In: SMITH, N.; MORI, S.A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D.W.; HEALD, S.V (Ed.). **Flowering plants of the neotropics**. New York: Princeton University Press, 2004. p.18- 20.
- CHEN, S.Y. & DICKSON, D.W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 32:117-121. 2000
- CHENG, W.; YANG, J.; NIE, Q.; HUANG, D.; YU, C.; ZHENG, L.; CAI, M.; THOMASHOW, L. S.; WELLER, D. M.; YU, Z.; ZHANG, J. Volatile organic compounds from *Paenibacillus polymyxa* KM2501-1 control *Meloidogyne incognita* by multiple strategies. *Scientific Reports*, v. 7. 2017.
- CHITWOOD, D.j. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, n. 5, p. 221-249, Sept. 2002.

COSTA, M. S. Acetogenin a tool to control *Aedes aegypti*: a perspective of toxicity and gene regulation. **Tese de doutorado**. Viçosa, 2016.

COUTINHO, M.M.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; et al. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, v. 33, 169-175, 2009.

DANG Q. L., KIM W.K., NGUYEN C.M., CHOI Y. H., CHOI G. J., JANG K. S., PARK M. S., LIM C. H., LUU N. H., KIM J.-C. Nematicidal and Antifungal Activities of Annonaceous Acetogenins from *Annona squamosa* against Various Plant Pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, p. 11160–11167. 2011.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. Efeito da torta de mamona sobre populações de nematoides fitoparasitos e a produtividade da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 1, p. 68-71, fev. 2010.

DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D.A.; ORLOVA, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Science**, Philadelphia, v.25, p.417-440. 2006.

ECHEVERRIGARAY, S.; ZACARIA, J.; BELTRÃO, R. Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, Leida, v. 100, n. 2, p. 199-203, 2010.

FERNANDO, W. D. et al. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 37, n. 5, p. 955-964, May 2005.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas**: fundamentos e importância. FERRAZ L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. (Orgs.), Manaus: Ed. NORMA, p. 251. 2016.

FERREIRA L.E., CASTRO P.M.N., CHAGAS A.C.S., FRANÇA S.C., BELEBONI R.O. In vitro anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. **Experimental Parasitology**. v.134 p. 327–332. 2013.

FONSECA Z. A. A. S., COELHO W. A. C., ANDRE W. P. P., RIBEIRO W. L. C., BESSA E. N., GALINDO V. R., PEREIRA J. S., AHID S. M. M. Use of herbal medicines in control of gastrointestinal nematodes of small ruminants: efficacies and prospects. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.7, p. 233 – 249. 2013.

GOMES, V. A.; CAMPOS, V. P.; SILVA, J. C. P.; SILVA, F. J.; SILVA, M. F.; PEDROSO, M. P. Activity of papaya seeds (*Carica papaya*) against *Meloidogyne incognita* as a soil biofumigant. **Journal of Pest Science**, v.93, p.783-792. 2020.

GU, Y. Q.; MO, M.H.; ZHOU, J.P.; ZOU, C.S.; ZHANG, K.Q. Evaluation and identification of potential organic nematicidal volatiles from soil bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 39, p. 2567-2575. 2007.

GUPTA, A.; PANDEY, S.; SHAH, D.R.; YADAV, J.S.; SETH, N.R. Annonaceous Acetogenins: The Unrevealed Area for Cytotoxic and Pesticidal Activities. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 2, n. 2, p. 104-109. 2011.

- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028. 1973.
- KNUDSEN, J.T. AND GERSHENZON, J. The chemistry diversity of floral scent. In: DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E. (Eds.). **Biology of floral scent**. p.27-52. 2006.
- KONG, J-O. et al. Nematicidal and propagation activities of thyme red and white oil compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). **Journal of Nematology**, Sacramento, v. 39, n. 3, p. 237–242, 2007.
- LUNA, J. S.; CARVALHO, J. M.; LIMA, M. R. F.; BIEBER, L. W.; BENTO, E. S.; FRANCK, X.; SANT'ANA, A. E. G. Acetogenins in *Annona muricata* L. (annonaceae) leaves are potent molluscicides. **Natural Product Research**, v. 20, n. 3, p. 253-257. 2006.
- MACHADO, A. C. Z. Current nematode threats to Brazilian agriculture. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 20, n. 1, p. 26-35, set. 2014.
- MOLINARI, S. Antioxidant enzymes in (a) virulent populations of root-knot nematodes. **Nematology**, College Park, v. 11, p. 689-697. 2009.
- MONTEIRO, T. S. A.; NASU, E. G. C.; GUIMARÃES, C. P.; NEVES, W. S.; MIZOBUTSIIV E. H.; FREITAS, L. G. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1149-1154, jul. 2014.
- NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; COUTINHO, M.M.; et al. Uso de Sementes de Mamão e Solarização do Solo no Controle de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n.4, p. 253-259, 2008.
- NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; FERAZ, S.; PARREIRA, D. F. Incorporação de Farinha de Semente de Mamão ao Solo para o Controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 36, n.1-2, p. 25-31. 2011.
- NICOL, J. M. et al. Current nematode threats to world agriculture. In: Jones, J., Gheysen, G., Fenoll, C. (eds). **Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions**. Springer, Dordrecht, 21-43. 2011.
- NIST. NIST Chemistry Webook-National Institute of Standards and Technology. 2013.
- NOLING, J.W. Nematode management in okra (Fact Sheet ENY-043) in Florida **nematode management guide**. Department of Entomology and Nematology, Florida Cooperatives Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 2002.
- NTALLI, N. G.; FERRARI, F.; GIANNAKOUC, I.; MENKISSOGLU-SPIROUDIA, U. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. **Pest Management Science**, v. 67, p. 341-351. 2011.
- ORTU, E.; SANNA, G.; SCALA, A.; PULINA, G.; CABONI, P.; BATTACONE, G. In vitro anthelmintic activity of active compounds of the fringed rue *Ruta chalepensis*

against dairy ewe gastrointestinal nematodes. **Journal of Helminthology**, v. 91, p. 447, 453. 2017.

PEDROSO, L. A.; CAMPOS V. P.; PEDROSO M. P.; BARROS A. F.; FREIRE E. S.; RESENDE F. M. P. Volatile organic compounds produced by castor bean cake incorporated into the soil exhibit toxic activity against *Meloidogyne incognita*. **Pest Management Science**. v.75, p. 476-483. 2019a.

PINTO, A.C. Q.; CORDEIRO M. C. R.; ANDRADE, S. R. M.; FERREIRA, F. R.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; KINPARA, D. I. *Annona* species. Southampton, UK: University of Southampton - **International Centre for Underutilised Crops**, p. 268. 2005.

PLOEG, A. Biofumigation to manage plant-parasitic nematodes, in *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes*. **Integrated Management and Biocontrol of Vegetable**, Springer, p. 239-248.

ROHLOFF, J.; BONES, A.M. Volatile profiling of *Arabidopsis thaliana*—putative olfactory compounds in plant communication. **Phytochemistry** v. 66, p. 1941–1955. 2005.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role on the society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. **Vistas on nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 7-14.

SIKORA, R. A.; FERNÁNDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Cambridge: CABI Publishing, cap. 9, p. 319-392. 2005.

SILVA, J. C. P.; CAMPOS, V. P.; BARROS, A.F; PEDROSO, L. A.; SILVA, M. F.; SOUZA, J. T.; PEDROSO, M. P.; MEDEIROS, F. H. V. Performance of volatiles emitted from different plant species against juveniles and eggs of *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**. v. 116, p. 196-203. 2019.

SILVA, J. C. P.; CAMPOS, V. P.; BARROS, A. F.; TERRA, W. C. *Compostos Orgânicos voláteis no Controle de Fitonematoides*. Editora UFLA, Lavras. 100 p. 2019.

SILVA, M. F.; CAMPOS, V. P.; BARROS, A. F.; TERRA, W. C.; PEDROSO, M. P.; GOMES, V. A.; RIBEIRO, C. R.; SILVA, F. J. Volatile emissions of watercress (*Nasturtium officinale*) leaves and passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds against *Meloidogyne incognita*. **Pest Management Science**, v. 76, p. 1413–1421. 2020a.

SILVA, M. F.; CAMPOS, V. P.; BARROS, A. F.; SILVA, J. C. P.; PEDROSO, M. P.; SILVA, F. J.; GOMES, V. A.; JUSTINO, J. C. Medicinal plant volatiles applied against the root-knot Nematode *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 130. 2020b.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473 p

TIWARI, S.; EISENBACK, J. D.; YOUNGMAN, R. R. **Root-knot nematode in field corn**. Virginia: College of Agriculture and Life Sciences, 2009. 3 p.

WIRATNO; TANIWIRYONOC, D.; VAN DEN, H. B.; RIKSEND, J.A.G.; RIETJENS, I.M.C.M.; DJIWANTIA, S.R; KAMMENGAD, J.E.; MURKB, A.J.

Nematicidal Activity of Plant Extracts Against the Root-Knot Nematode, *Meloidogyne incognita*. **The Open Natural Products Journal**, v. 2, p.77-85. 2009.