

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**CARACTERIZAÇÃO, CONTROLE ALTERNATIVO E
REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne graminicola* EM
CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO SUBMETIDOS A
DIFERENTES REGIMES DE UMIDADE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ricardo Bemfica Steffen

**Santa Maria, RS, Brasil
2007**

**CARACTERIZAÇÃO, CONTROLE ALTERNATIVO E
REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne graminicola* EM
CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO SUBMETIDOS A
DIFERENTES REGIMES DE UMIDADE**

por

Ricardo Bemfica Steffen

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Biodinâmica e Manejo do solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do grau de

Mestre em Ciência do Solo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Zaida Inês Antonioli

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

A Comissão Examinadora, abaixo-assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**CARACTERIZAÇÃO, CONTROLE ALTERNATIVO E REPRODUÇÃO
DE *Meloidogyne graminicola* EM CULTIVARES DE ARROZ
IRRIGADO SUBMETIDOS A DIFERENTES REGIMES DE UMIDADE**

elaborada por
Ricardo Bemfica Steffen

como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ciência do Solo

COMISSÃO EXAMINADORA

Zaida Inês Antonioli, Dr^a. (Presidente / Orientadora)

César Bauer Gomes, Dr. (Embrapa Clima Temperado)

Marlove Fátima Brião Muniz, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, 22 de fevereiro de 2007

**Aos meus pais, fiéis amadrinhadores dos
meus sonhos horizontais**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus

Aos meus pais Bertilo e Nara Lúcia, que sempre estiveram ao meu lado apoiando, incentivando e orientando, sem deixar que adversidades influenciassem nesta caminhada.

À minha irmã Carolina pelo apoio e amizade.

À minha noiva Gerusa Pauli Kist pelo amor, carinho e dedicação, e a sua família, pelo apoio, incentivo e compreensão nas muitas horas de ausência devido a este trabalho.

Ao meu avô paterno que, embora distante, sempre esteve presente orientando meu caminho.

À professora Dr^a. Zaida Inês Antonioli, não só pela orientação, mas pela amizade construída ao longo destes anos de convivência, pelo exemplo de profissionalismo e pela confiança em mim depositada.

À Dr^a. Andréa Hentz de Mello, pela amizade.

À Embrapa Clima Temperado, aos funcionários do laboratório de Nematologia Daniel, Gelson e em especial a Dr^a. Veridiana Bosenbecker.

Ao Dr. César Bauer Gomes, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, não só pela co-orientação, mas ensinamentos e sugestões fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dr^a. Marlove Fátima Brião Muniz, componente da banca examinadora.

À Manoeli Lupatini, pelo apoio e dedicação.

Ao Engenheiro Agrônomo Antônio Bassaco, técnico responsável pelo Laboratório de Biologia do Solo e Ambiente da UFSM, pelo apoio logístico.

Aos colegas Laura, Lílian, Marcos e Regina pelos estudos em grupo e apoio durante o Curso de Mestrado.

Aos colegas de laboratório, pelas horas de descontração.

Ao Departamento de Solos pela oportunidade e apoio no desenvolvimento de minha dissertação.

Ao CNPq pela bolsa de estudos.

Aos funcionários do Departamento de Solos pelo apoio prestado.

**“Se enxerguei mais longe, foi por estar apoiado sobre ombros
de gigantes.”
(Isaac Newton)**

**“Seja senhor das tuas vontades e escravo da tua consciência.”
(Aristóteles)**

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

CARACTERIZAÇÃO, CONTROLE ALTERNATIVO E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne graminicola* EM CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO SUBMETIDOS A DIFERENTES REGIMES DE UMIDADE

Autor: Ricardo Bemfica Steffen
Orientadora: Zaida Inês Antonioli
Santa Maria, 22 de fevereiro de 2007

O arroz é um dos cereais mais cultivados no mundo, entretanto sua produção pode ser limitada por vários agentes fitopatogênicos, dentre eles o nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.). O presente trabalho foi realizado em três etapas. Na primeira, vinte e uma populações do nematóide das galhas provenientes de oito municípios da região central do Estado do Rio Grande do Sul foram caracterizadas bioquimicamente através da isoenzima esterase e morfologicamente através de observações microscópicas de configurações perineais das fêmeas do nematóide. Na segunda etapa do trabalho, foram avaliados a penetração e os estádios de desenvolvimento de *M. graminicola* nas raízes dos cultivares de arroz irrigado (BR-IRGA-410, IRGA-417, IRGA-420, IRGA-422CL, BRS 7-“Taim”, BRS Atalanta, BRS Fronteira, BRS Firmeza, BRS Pelota e BRS Querência) recomendados para o Sul do Brasil, bem como a reação destes materiais ao nematóide. Na terceira etapa do trabalho foi avaliado o efeito de dez óleos essenciais de plantas bioativas no controle de *M. graminicola* “in vitro”, bem como a eficiência dos óleos essenciais no controle do nematóide em plantas de arroz irrigado. A caracterização isoenzimática do nematóide das galhas na região de estudo revelou apenas a presença do fenótipo esterástico VS1 (Rm 0,70), típico de *M. graminicola*. Dentre os cultivares testados, a maioria foi suscetível independentemente do regime de irrigação. Apenas o cultivar IRGA-422CL foi o que proporcionou uma menor penetração dos nematóides para as condições avaliadas, comportando-se como moderadamente resistente sob condição de saturação do solo. Os óleos de orégano, eucalipto e hortelã foram os que apresentaram o maior efeito nematostático sobre os ovos de *M. graminicola* “in vitro”, enquanto que os óleos de alfazema, cidrão e alecrim além de terem apresentado maior efeito nematicida “in vitro”, também reduziram a multiplicação do nematóide “in vivo”, demonstrando seu potencial no controle do nematóide.

Palavras-chave: Nematóide das galhas, ocorrência, identificação, esterase, resistência, *Oryza sativa* L.

ABSTRACT

Master Dissertation in Soil Science
Graduate Program in Soil Science
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

CHARACTERIZATION, ALTERNATIVE CONTROL AND REPRODUCTION OF *Meloidogyne graminicola* IN CULTIVARS OF IRRIGATED RICE TO DIFFERENT REGIMES OF HUMIDITY

Author: Ricardo Bemfica Steffen
Adviser: Zaida Inês Antonioli
Santa Maria, February 22, 2007

The rice is one of the cereals more cultivated in the world, however its production can be limited by several plant pathogenics agents, among them the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). The present work was accomplished in three stages. In the first, twenty and one populations of root-knot nematode of eight districts of the central area of Rio Grande do Sul State, were biochemical characterized through the isoenzyme esterase and morphological characterized through the microscopic observations of nematode females perineal patterns. In the second stage of the work, they were appraised the penetration and the development of *M. graminicola* in the roots of the irrigated rice (BR-IRGA 410, IRGA 417, IRGA 420, IRGA 422CL, BRS 7 "Taim", BRS Atalanta, BRS Fronteira, BRS Firmeza, BRS Pelota and BRS Querência) cultivars recommended for the South of Brazil, as well as the reaction of these materials to the nematode. In the third stage of the work the effect of ten essential oils of bioactives plants were evaluated in the control of *M. graminicola* "in vitro", as well as the efficiency essential oils in the control of the irrigated rice plant nematode. The isoenzymatic characterization of root-knot nematode in the area studied revealed the presence of the phenotype esterase VS1 (Rm 0,70), typical of *M. graminicola*. Among the cultivars tested, most were independently susceptible of the irrigation regime. The cultivar IRGA 422CL was what provided a smallest penetration of nematodes for the evaluated conditions behaving as moderately resistant under condition of saturation of soil. The oregano, eucalyptus and mint oils presented the highest nematostatic effect "in vitro", while the alfazema, cidrão and alecrim oils presented highest effect nematicida "in vitro" also reducing the multiplication of nematode "in vivo", demonstrating its potential in the control of *M. graminicola*.

Key Words: Root-knot nematode, occurrence, identification, esterase, resistance, *Oryza sativa* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Seqüência da realização do trabalho sobre a ocorrência, desenvolvimento e controle de <i>Meloidogyne graminicola</i> em plantas de arroz irrigado na região central do Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2007.....	19
Figura 1.1 - Fenótipos de esterase detectados em 21 populações de <i>Meloidogyne graminicola</i> provenientes de plantas de arroz irrigado de lavouras da região central do Estado do Rio Grande do Sul. <i>Meloidogyne graminicola</i> (est. VS1), <i>Meloidogyne javanica</i> utilizado como padrão (est. J3). Santa Maria, 2007.....	29
Figura 1.2 - Padrão perineal da população de <i>Meloidogyne</i> spp. proveniente de lavouras de arroz irrigado do município de Restinga Seca, evidenciando o fenótipo Est. VS1, típico de <i>Meloidogyne graminicola</i> . Santa Maria, 2007.....	31
Figura 1.3 - Aspectos das áreas atacadas por <i>Meloidogyne graminicola</i> nos municípios de (A) Santa Maria e (B) São Vicente do Sul. Santa Maria, 2007.....	32
Figura 1.4 - (A) Plantas de arroz irrigado de uma lavoura do município de São Vicente do Sul. (A.1) não atacada por <i>Meloidogyne graminicola</i> e (A.2) atacada pelo nematóide. (B) Sintoma do ataque do nematóide expresso pelo sistema radicular. Santa Maria, 2007.....	33
Figura 2.1 - Plântulas de arroz irrigado com 20 dias após a emergência mantidas em estufa. Santa Maria, 2007.....	45
Figura 2.2 - Plantas de arroz irrigado mantidas em vasos de 5 L contendo 4 L de substrato, em casa de vegetação, A) solo drenado e B) solo saturado. Santa Maria, 2007.....	48
Figura 2.3 - Cortes longitudinais de galhas presentes nas raízes de plantas de arroz irrigado cultivar IRGA-417 contendo juvenis de segundo e terceiro estádios. Santa Maria, 2007.....	52
Figura 2.4 - Galha presente na coifa de raiz de plantas de arroz irrigado cultivar BRS 7-“Taim” (A), visualização dos nematóides penetrados nas raízes após a coloração com fucsina ácida (B, C, D). Santa Maria, 2007.....	53

Figura 2.5 - Área cultivada com arroz irrigado no distrito de Água Boa, município de Santa Maria, com sintomas de infestação de <i>Meloidogyne graminicola</i> (A) e raízes das plantas parasitadas pelo nematóide (B). Santa Maria, 2007.....	54
Figura 2.6 - Correlação entre o fator de reprodução (FR) e o número de juvenis penetrados nas raízes de plantas de arroz irrigado sob condições de solo (A) saturado e (B) drenado. Santa Maria, 2007.....	57
Figura 2.7 - Correlação entre o número de galhas e o número de juvenis penetrados nas raízes de plantas de arroz irrigado sob condições de solo (A) saturado e (B) drenado. Santa Maria, 2007.....	58
Figura 2.8 - Correlação entre a matéria fresca das raízes e o número de galhas nas raízes de plantas de arroz irrigado sob condições de solo (A) saturado e (B) drenado. Santa Maria, 2007.....	60
Figura 2.9 - Raízes de alguns cultivares após 51 dias da inoculação com 5000 ovos de <i>Meloidogyne graminicola</i> por vaso em solo saturado. Santa Maria, 2007.....	61
Figura 3.1 - Juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne graminicola</i> após 48 horas de exposição aos óleos essenciais de (A) capim cidrão (<i>Cymbopogon citratus</i>) e (B) funcho (<i>Foeniculum vulgare</i>). Santa Maria, 2007.....	78
Figura 3.2 - Diagrama da distância Euclidiana formado da interação entre os resultados de mortalidade de J2 e inibição da eclosão de ovos de <i>Meloidogyne graminicola</i> causados pela ação dos óleos essenciais testados nos ensaios. Santa Maria, 2007.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Caracterização da localidade, lavoura, cultivar de arroz irrigado, espécie e fenótipos de esterese dos nematóides encontrados em plantas de arroz irrigado da região central do Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2007.....	30
Tabela 1.2 - pH, percentagem de matéria orgânica e argila dos solos coletados nas lavouras de arroz irrigado estudadas na região central do Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2007.....	35
Tabela 2.1 - Número de juvenis de segundo estágio (J2), juvenis de terceiro e quarto estádios (J3 + J4), relação entre estádios de desenvolvimento e número total de nematóides penetrados nas raízes de plantas de arroz irrigado de cultivares mantidos sob condições de solo drenado e saturado. Média de cinco repetições. Santa Maria, 2007.....	50
Tabela 2.2 - Número de galhas, ovos e fator de reprodução (FR) de <i>Meloidogyne graminicola</i> nas raízes de plantas de arroz irrigado de dez cultivares mantidos sob condições de solo drenado e saturado. Média de seis repetições. Santa Maria, 2007.....	56
Tabela 2.3 – Matéria de raízes frescas de dez cultivares de arroz irrigado inoculadas com <i>Meloidogyne graminicola</i> em condições de solo drenado e saturado. Santa Maria, 2007.....	59
Tabela 3.1 - Percentagem da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne graminicola</i> por óleos essenciais em 24 e 48 horas de incubação, utilizando-se dimetil sulfoxido (DMSO) como solubilizante. Média de quatro repetições. Santa Maria, 2007.....	77
Tabela 3.2 - Percentagem da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne graminicola</i> por óleos essenciais em 24 e 48 horas de incubação, utilizando-se etanol como solubilizante. Média de quatro repetições. Santa Maria, 2007.....	79

Tabela 3.3 - Percentagem de eclosão de ovos de *Meloidogyne graminicola* expostos à ação de óleos essenciais de plantas medicinais em 3, 6, 9 e 12 dias de incubação. Média de quatro repetições. Santa Maria, 2007..... 83

Tabela 3.4 - Número de perfilhos, matéria de planta fresca, número de galhas, número de ovos e fator de reprodução de *Meloidogyne graminicola* em plantas de arroz irrigado cultivar BR-IRGA-410 tratadas com óleos essenciais de alfazema e cidrão. Média de seis repetições. Santa Maria, 2007..... 86

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SIGLAS

mg	miligrama (s)
g	grama (s)
Kg	quilograma (s)
Kg ha ⁻¹	quilograma (s) por hectare
µL	microlitro (s)
mL	mililitro (s)
L	litro (s)
mL m ⁻³	mililitro (s) por metro cúbico
mm	milímetro (s)
cm	centímetro (s)
m	metro (s)
m ²	metro (s) quadrado (s)
cm ³	centímetro (s) cúbico (s)
M	molaridade
N	normalidade
°C	Grau (s) Celsius
v/v	volume por volume
p/v	peso por volume
ppm	parte por milhão
%	percentagem

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
Capítulo I	
CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DO NEMATÓIDE DAS GALHAS (<i>Meloidogyne</i> spp.) EM ARROZ IRRIGADO PROVENIENTE DA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL	
1 RESUMO	24
2 INTRODUÇÃO	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Caracterização bioquímica	26
3.2 Análise química do solo	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÃO	36
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
Capítulo II	
REAÇÃO DE DEZ CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO AO NEMATÓIDE DAS GALHAS <i>Meloidogyne graminicola</i> Golden e Birchfield SOB DOIS REGIMES DE ÁGUA	
1 RESUMO	39
2 INTRODUÇÃO	40
3 MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1 Cultivares de arroz irrigado	43
3.2 Inóculo do nematóide (<i>M. graminicola</i>).....	43
3.3 Avaliação da penetração de juvenis de <i>M. graminicola</i> em diferentes cultivares de arroz irrigado sob duas condições de irrigação	44
3.3.1 Obtenção do inóculo	44
3.3.2 Inoculação de <i>M. graminicola</i> em plântulas de arroz irrigado	45
3.3.3 Avaliações	46
3.4 Reação de diferentes cultivares de arroz irrigado a <i>M. graminicola</i> sob duas condições de irrigação.....	46
3.4.1 Obtenção do inóculo	47
3.4.2 Inoculação de <i>M. graminicola</i> em plantas de arroz	47
3.4.3 Avaliações	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Penetração de juvenis de <i>Meloidogyne graminicola</i> em diferentes cultivares de arroz irrigado sob duas condições de irrigação.....	48

4.2 Reação de diferentes cultivares de arroz irrigado a <i>Meloidogyne graminicola</i> sob duas condições de irrigação.....	54
5 CONCLUSÕES	63
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
Capítulo III	
EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS BIOATIVAS NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne graminicola</i> Golden & Birchfield EM ARROZ IRRIGADO	
1 RESUMO	69
2 INTRODUÇÃO	70
3 MATERIAL E MÉTODOS	73
3.1 Avaliação do potencial de dez óleos essenciais de plantas bioativas na mortalidade de juvenis de segundo estágio de <i>M. graminicola</i>	74
3.2 Óleos essenciais de plantas bioativas na eclosão de ovos de <i>M. graminicola</i>	75
3.3 Potencial dos óleos essenciais de alfazema e cidrão no controle de <i>M. graminicola</i> em plantas de arroz irrigado	76
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4.1 Efeito de óleos essenciais de plantas bioativas na mortalidade de juvenis de segundo estágio de <i>M. graminicola</i>	77
4.2 Efeito de óleos essenciais de plantas bioativas sobre a eclosão de ovos de <i>M. graminicola</i>	82
4.3 Avaliação do potencial dos óleos essenciais de alfazema e cidrão no controle de <i>M. graminicola</i> em plantas de arroz irrigado.....	85
5 CONCLUSÕES	89
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96

INTRODUÇÃO GERAL

Devido à grande área de cultivo e volume produzido, o arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado um dos mais importantes cereais no cenário da produção mundial de alimentos (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 1993; GOMES e MAGALHÃES, 2004). O cultivo desta cultura ocupa no mundo 150 milhões de hectares por ano e a produção atinge, aproximadamente, 600 milhões de toneladas, sendo que metade desta provém de lavouras com irrigação controlada, as quais ocupam apenas 25% da área total cultivada (NEDEL et al., 1998; GOMES e MAGALHÃES, 2004).

No Brasil, cerca de 1,3 milhão de hectares são cultivados anualmente com arroz irrigado, significando cerca de 15 a 20% do total de grãos colhidos no país (GOMES e MAGALHÃES, 2004). O Estado do Rio Grande do Sul possui 950 mil hectares cultivados com arroz irrigado, e é responsável por 45% da produção nacional, o que corresponde a 11 milhões de toneladas (SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO, 2004). Dentre as regiões produtoras de arroz irrigado no Rio Grande do Sul, a Depressão Central possui 159 mil hectares cultivados, com uma produção de 941 mil toneladas, correspondendo a 8,5% da produção estadual (INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ, 2004).

Para que as produtividades sejam compatíveis com a rentabilidade esperada pelo produtor e que o potencial da cultura seja atingido, é necessária uma constante busca de soluções relacionadas à nutrição, manejo e condições fitossanitárias. Dentre os fitopatógenos que determinam a produtividade agrícola das culturas, encontram-se os nematóides formadores de galhas radiculares, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, os quais constituem o grupo com maior importância econômica na agricultura. O grande número de hospedeiros existentes e a interação com outros organismos patogênicos, colocam os nematóides entre os principais patógenos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola nas mais diferentes culturas e regiões do globo (SASSER, 1980; SASSER e CARTER, 1985), causando consideráveis reduções, já que acarretam perdas da ordem de US\$ 100 bilhões anualmente (SASSER e FRECKMAN, 1987).

Na cultura do arroz irrigado o nematóide da espécie *Meloidogyne graminicola* (Golden e Birchfield, 1965) é considerada uma das espécies com maior potencial de

danos (SASSER, 1980; BRIDGE e PAGE, 1982; SORIANO e REVERSAT, 2003; PADGHAM et al., 2004). A ocorrência deste organismo em lavouras de arroz irrigado foi inicialmente constatada nos Estados Unidos, em raízes de capim-arroz (*Echinochloa colonum* L.) (GOLDEN e BIRCHFIELD, 1965), sendo posteriormente encontrado no sistema radicular de plantas de arroz (GOLDEN E BIRCHFIELD, 1968), devido ao fato de ser um organismo bem adaptado à sobrevivência e multiplicação em áreas inundadas (PROT e MATIAS, 1995). Atualmente, há relatos da ocorrência deste nematóide em lavouras de arroz irrigado em países asiáticos como Tailândia, Laos, Vietnam, Bangladesh e Indonésia (BRIDGE et al., 1990; CUC e PROT, 1992; GAUR et al., 1993; NETSCHER e ERLAN, 1993; PROT e MATIAS, 1995; SHARMA et al., 2001; PADGHAM et al., 2004), além de China, Estados Unidos e Filipinas (BRIDGE et al., 1990; SORIANO e REVERSAT, 2003; XU et al., 2004).

Na cultura do arroz irrigado, os danos causados por estes organismos, acarretam perdas na ordem de 20 a 90% (BRIDGE e PAGE, 1982; RAO et al., 1984; ARAYARUNG-SARIT, 1988; NETSCHER e ERLAN, 1993; PROT e MATIAS, 1995).

Estes organismos pertencem a microfauna do solo e dependem diretamente da produção primária, constituindo seu sítio de ação na zona radicular das plantas (COLEMAN e CROSSLEY, 1995), prejudicando-as devido à sua ação nociva sobre o sistema radicular, podendo, além de causar danos diretos às raízes, predispor a planta a doenças e a estresses ambientais. Os sintomas diretos causados pelos nematóides nas raízes concorrem, com frequência, à manifestação subsequente de sintomas indiretos ou reflexos na parte aérea das plantas, decorrentes principalmente de maiores dificuldades na absorção e no transporte de água e nutrientes disponíveis no solo (BARKER, 2003). Além disso, muitas vezes os nematóides constituem-se em fortes drenos metabólicos, utilizando os fotossintatos para o seu desenvolvimento e reprodução. Isto contribui para reduzir, de modo apreciável, a energia para o crescimento da planta, causando sinais de enfraquecimento, baixa produção, desfolhamento precoce e declínio prematuro, podendo ocorrer a morte da planta (BRIDGE e PAGE, 1982; PROT e MATIAS, 1995; SILVA, 2001).

No Brasil, os registros da ocorrência do nematóide das galhas em arroz são esporádicos, sendo esta praga nem sempre identificada em nível de espécie (GOMES et al., 1997). No Rio Grande do Sul, *M. graminicola* foi relatado pela

primeira vez somente em 1991, por Sperandio e Monteiro (1991). Entretanto, no Brasil existem poucos trabalhos referentes à identificação de *M. graminicola* em áreas cultivadas com arroz irrigado, bem como, pouco se sabe a respeito da reação dos cultivares utilizados, e da eficiência de métodos de controle deste organismo.

Dentre os métodos utilizados para identificação de fitonematóides, as técnicas morfológicas são ainda as mais comumente utilizadas. Entretanto, para o grupo *Meloidogyne*, a identificação ao nível específico baseada apenas em caracteres morfológicos, além de ser trabalhosa, muitas vezes é pouco precisa, devido a grande variabilidade que ocorre entre indivíduos de uma mesma espécie (EISENBACK e HIRSCHMANN, 1981; CARNEIRO e ALMEIDA, 2001). Por estas razões, a utilização da técnica de eletroforese é considerada o primeiro passo para a identificação de espécies do gênero *Meloidogyne* spp. (ESBENSHADE e TRIANTAPHYLLOU, 1985; CARNEIRO e ALMEIDA, 2001).

Dentre as medidas de controle empregadas no manejo de *Meloidogyne* spp. na cultura do arroz irrigado, encontra-se a utilização de plantas resistentes, buscando identificar os genótipos nos quais os danos causados pelo nematóide se expressem de uma forma menos acentuada (SORIANO et al., 2000), e o uso de substâncias capazes de neutralizar a ação parasítica destes organismos. Porém, no Brasil, pouco se sabe a respeito da susceptibilidade de cultivares de arroz irrigado ao gênero *Meloidogyne*. Sendo disponíveis apenas alguns trabalhos referentes ao comportamento de cultivares de arroz de sequeiro a *M. graminicola*, *M. javanica* e *M. incognita* (FERRAZ, 1993).

O controle químico de nematóides geralmente é pouco efetivo, apresenta custos elevados e pode deixar resíduos nos alimentos, prejudicando a saúde humana e o ambiente (CAMPOS et al. 1998). Esforços têm sido concentrados na integração de agentes de controle biológico e outras estratégias de manejo de nematóides. Dentre as alternativas estudadas, a utilização de óleos essenciais, extratos aquosos ou etanólicos, tem sido freqüentemente relatada na literatura (LORIMER et al., 1996; OKA et al., 2000; LOPES et al., 2005; BOSENBECKER, 2006). Entretanto, raros são os trabalhos que demonstram a eficiência destes materiais em testes realizados “in vitro”.

Assim, no presente trabalho teve-se por objetivo, 1) caracterizar isoenzimaticamente diferentes populações do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em plantas de arroz irrigado provenientes da região central do Estado do Rio

Grande do Sul; 2) avaliar a reação de cultivares de arroz irrigado a *M. graminicola* e 3) potencializar o uso de medidas biológicas, como óleos essenciais de plantas bioativas, no controle deste organismo. O trabalho foi executado conforme o esquema da Figura 1.

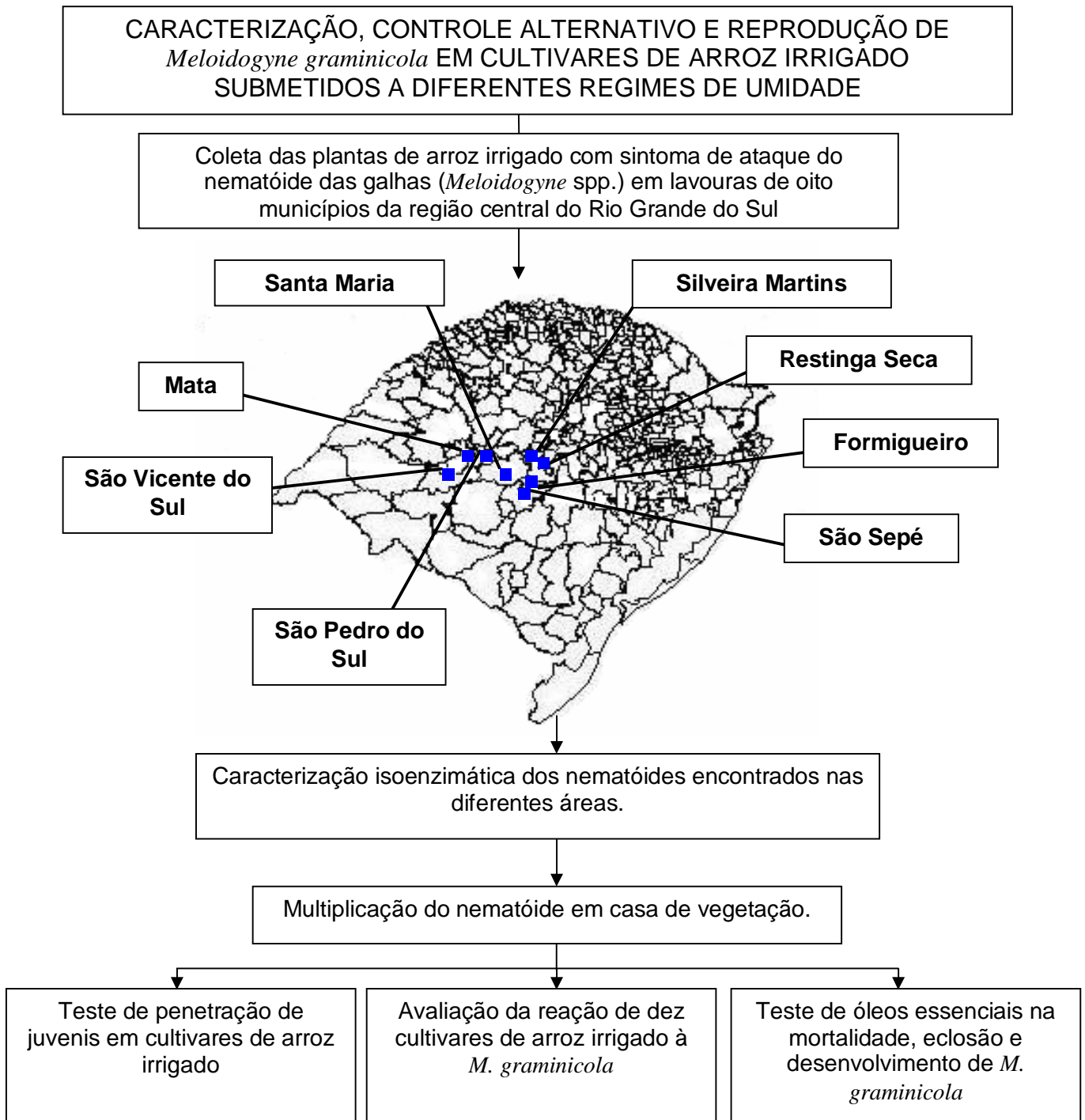


Figura 1 - Seqüência da realização do trabalho sobre a ocorrência, desenvolvimento e controle de *Meloidogyne graminicola* em plantas de arroz irrigado na região central do Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2007.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAYARUNG-SARIT, L. Yield ability of rice varieties in field infested with root-knot nematode. **Rice Abstracts**, v. 11, n. 6, p. 294, 1988.

BARKER, K. R. Perspectives on plant and soil nematology. **Annual Review of Phytopathology**, v. 41, p. 1-25, 2003.

BOSENBECKER, V. K. **Efeitos de óleos essenciais de plantas bioativas no controle de *Phytophthora infestans* e *Meloidogyne javanica* em batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2006. 65f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

BRIDGE, J.; LUC, M.; PLOWRIGTH, R. A. Nematode parasites of rice. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. St. Albans, C.A.B. International, Institute of Parasitology, 1990. p. 69-107.

BRIDGE, J.; PAGE, S. L. J. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. Indica). **Revue Nematologie**, v. 5, n. 2, p. 225-232, 1982.

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

CARNEIRO, R. M. D.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

COLEMAN, D. C.; CROSSLEY, D. A. Jr. **Fundamentals of soil ecology**. San Diego : Academic Press, 1995. 205p.

CUC, M. T. T.; PROT, J. C. Root-parasitic nematodes of deep-water rice in the Mekong Delta of Vietnam. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 15, p. 575-577, 1992.

EISENBACK, D. J.; HIRSCHMANN, H. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of the head shape and stylet morphology of the male. **Journal of Nematology**, v. 13, p. 513-521, 1981.

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

FERRAZ, L. C. C. B. Reações de variedades de arroz a três espécies de *Meloidogyne*. **Nematologia Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 76-84, 1993.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. I. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal:FUNEP-SP, 1993. 221p.

GAUR, H. S.; KHAN, E.; SEHGAL, M. Occurrence of two species of root-knot nematodes infecting rice, wheat, and monocot weeds in Northern India. **Annals of Plant Protection Science**, v. 1, p. 141-142, 1993.

GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. *Meloidogyne graminicola* (Heteroderidae), a new species of root-knot nematode from grass. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 32, p. 228–231, 1965.

GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. Rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) as a new pest of rice. **Plant Disease Reporter**, v. 52, n. 6, p. 423, 1968.

GOMES, C. B. et al. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, v. 27, n. 3. p. 501-502, 1997.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES, A. M. De. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília,DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 899p.

LORIMER, S. D. et al. A nematode larval motility inhibition assay for screening plant extracts and natural products. **Journal of Agricultural of the Food Chemistry**, v. 44, p. 2842-2845, 1996.

LOPES, E. A. et al. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. Brasília: **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-74, 2005.

NEDEL, J. L.; ASSIS, F. N.; CARMONA, P. S. A planta de arroz: Morfologia e Fisiologia. In: Peske, S. T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1998. 659p.

NETSCHER, C.; ERLAN. Root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, parasitic rice in Indonesia. **Afro-Asian Journal of Nematology**, v. 3, p. 90-95, 1993.

OKA, Y. et al. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Nematology**, v. 90, n. 7, p. 710-715, 2000.

PADGHAM, J. L. et al. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 1, p. 42-48, 2004.

PROT, J. C.; MATIAS, D. M. Effects of water regime on the distribution of *Meloidogyne graminicola* and other root-parasitic nematodes in a rice field toposequence and pathogenicity of *M. graminicola* on rice cultivar UPL R15. **Nematologica**, v. 41, p. 219-228, 1995.

RAO, Y. S.; PRASAD, S.; RAO, A. V. S. Interaction of the cyst and root-knot nematodes in roots rice. **Revue de Nematologie**, v. 7, n. 2. p. 117-120, 1984.

SASSER, J. N. Root-knot nematodes a global menace to crop production. **Plant Disease**, v. 64, p. 36-41, 1980.

SASSER, J. N.; CARTER, C. C. Overview of the in international *Meloidogyne* project. (1975 – 1984). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (eds). **An Advanced treatise on Meloidogyne: Biology and control**. Raleigh: North Caroline State University Graphics, v. 1, p. 19 – 24, 1985.

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: Veech, J.A.; Dickson, D.W. (Eds.) **Vistas on Nematology. Maryland**. Society of Nematologists, 1987. p. 7-14.

SHARMA, S. B. et al. Plant-parasitic nematodes associated with rice and wheat-based cropping systems in Nepal. **International Journal of Nematology**, v. 11, p. 35-38, 2001.

SILVA, J. F. V. **Produção de grãos em ambiente com nematóides de galhas**. Londrina: EMBRAPA Soja; FAPEAGRO, 2001.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, 2004. Disponível em: <<http://www.sosbai.com.br>>. Acesso em: 14 nov. 2006.

SORIANO, I. R. S.; PROT, J. C.; MATIAS, D. M. Expression of tolerance for *Meloidogyne graminicola* in rice cultivars as affected by soil type and flooding. **Journal of Nematology**, v. 32, p. 309-317, 2000.

SORIANO, I. R. S.; REVERSAT, G. Management of *Meloidogyne graminicola* and yield of upland rice in South-Luzon, Philippines. **Nematology**, v. 5, n. 6, p. 879-884, 2003.

SPERANDIO, C. A.; MONTEIRO, A. R. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 15, n. 1. p. 24, 1991.

XU, J. et al. Characterisation of *Meloidogyne* species from China using Isozyme Phenotypes and Amplified Mitochondrial DNA Restriction Fragment Length Polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, n. 3, 2004.

Capítulo I

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DO NEMATÓIDE DAS GALHAS (*Meloidogyne* spp.) EM ARROZ IRRIGADO PROVENIENTE DA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL

1 RESUMO

Vinte e uma populações do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) provenientes de plantas de arroz irrigado coletadas em lavouras de oito municípios da região central do Estado do Rio Grande do Sul, foram caracterizadas bioquimicamente através da isoenzima esterase e morfologicamente através de observações microscópicas de configurações perineais das fêmeas do nematóide. As populações de *Meloidogyne* estudadas a nível específico apresentaram o mesmo perfil para esterase, identificando-se apenas o fenótipo VS1 (Rm 0,70), típico de *Meloidogyne graminicola*, em todos os locais amostrados.

2 INTRODUÇÃO

No Brasil, cerca de 1,3 milhão de hectares são cultivados anualmente com arroz irrigado (*Oryza sativa* L.), dos quais 950 mil estão localizados no Estado do Rio Grande do Sul. A região central do Estado caracteriza-se pelo grande número de municípios, nos quais uma grande porcentagem do produto interno bruto (PIB) corresponde à produção primária, principalmente com a cultura do arroz irrigado, sendo responsável por 8,5% da produção estadual, com 941 mil toneladas (SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO, 2004).

A nematofauna associada à cultura do arroz apresenta-se com grande diversidade nos solos (PROT e MATIAS, 1995). Os nematóides formadores de galhas radiculares, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp., constituem o grupo de nematóides com maior importância econômica na agricultura. O grande número de hospedeiros existentes e a interação com outros organismos patogênicos, colocam os nematóides entre os principais patógenos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola mundial (SASSER e CARTER, 1985). Estes nematóides prejudicam as plantas devido à sua ação nociva sobre as raízes, alterando a absorção e a translocação de nutrientes, e também predispondo a planta a estresses ambientais.

Os prejuízos causados por estes nematóides variam com o grau de resistência das plantas, com o nível populacional destes organismos no solo e com o manejo da irrigação da área cultivada (GOMES et al., 1997). Em países asiáticos, os prejuízos causados pela ação parasítica do nematóide *M. graminicola* em arroz irrigado variam com o grau de infestação da área cultivada, podendo atingir perdas na ordem de 20 a 90% (BRIDGE e PAGE, 1982; RAO et al., 1984; ARAYARUNG-SARIT, 1988; NETSCHER e ERLAN, 1993; PROT e MATIAS, 1995). No Brasil, os registros de ocorrência de *Meloidogyne* spp. em arroz irrigado são esporádicos, sendo encontrados na literatura, somente dados referentes a cultivares de arroz de sequeiro, nos quais nem sempre são relatadas as espécies. Embora RIBEIRO et al. (1984) tenham relatado a presença de *Meloidogyne* spp. em arroz irrigado no Rio Grande do Sul, a ocorrência de *M. graminicola* foi relatada pela primeira vez no Estado somente em 1991 (SPERANDIO e MONTEIRO, 1991).

Dentre as práticas de controle empregadas no manejo do nematóide das galhas, o uso de genótipos resistentes e a implementação de rotação de culturas em áreas infectadas são as medidas mais eficientes e econômicas para as condições brasileiras. Entretanto, não existem informações do nível de resistência dos cultivares de arroz irrigado utilizados no sul do Brasil quanto à infecção pelo nematóide das galhas. Além do mais, até o presente momento, não há registros de levantamentos para identificação das espécies do gênero *Meloidogyne* na cultura do arroz nas diferentes regiões de cultivo do Brasil.

Desta forma, o trabalho teve como objetivo caracterizar bioquimicamente e morfológicamente 21 populações do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.),

associadas ao arroz irrigado em amostras provenientes de oito diferentes municípios da região central do Estado do Rio Grande do Sul.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e uma lavouras de arroz irrigado localizadas em oito municípios (Santa Maria, São Vicente do Sul, São Pedro do Sul, Restinga Seca, Formigueiro, Mata, Silveira Martins e São Sepé) da região central do Estado do Rio Grande do Sul, foram selecionadas para levantamento da ocorrência do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Tabela 1.1, Figura 1). Em cada local amostrado, plantas de arroz irrigado (em fase de enchimento de grãos), com sintomas de amarelecimento, porte reduzido e contendo galhas, foram coletadas para identificação da espécie de *Meloidogyne*, conforme metodologia descrita por Carneiro e Almeida (2001).

Após a coleta de todas as amostras a serem estudadas, as plantas foram levadas ao Laboratório de Biologia do Solo e Ambiente da Universidade Federal de Santa Maria, onde as raízes foram separadas da parte aérea, lavadas em água corrente sobre peneira de 100 mesh (0,149 mm) para evitar perdas e acondicionadas em sacos plásticos, os quais foram conservados a 4°C, para posteriores análises no Laboratório da Embrapa Clima Temperado (Embrapa-CPACT), Pelotas, RS.

3.1 Caracterização bioquímica

Inicialmente, fêmeas adultas do nematóide das galhas, de coloração branca leitosa, foram coletadas de raízes de plantas de arroz sob microscópio estereoscópico com auxílio de agulhas histológicas. Logo após, procedeu-se a caracterização bioquímica das diferentes populações de *Meloidogyne* spp., utilizando-se a isoenzima esterase (CARNEIRO e ALMEIDA, 2001). Para tanto, 20 fêmeas do nematóide, de cada amostra, foram transferidas para tubos microhematócritos

contendo 2 – 3 μL de tampão de extração (20 g de sacarose, 1 g de Triton X-100 e 100 mL de água destilada). Logo após, as amostras foram maceradas, sendo as respectivas suspensões absorvidas em papéis de filtro qualitativo (Whatman) 3mm. Posteriormente, cada pedaço de papel foi aplicado, separadamente, em gel de poliacrilamida 6% (11 X 18 cm, 1 mm de espessura) previamente preparado, sendo que em dois deles foi aplicada uma gota de azul de bromofenol a 0,01% com o objetivo de facilitar a visualização da migração no gel. Em cada gel, duas amostras do macerado de *M. javanica* (TREUB, 1885) Chitwood, 1949 foram incluídas como padrão de comparação dos fenótipos obtidos. Posteriormente, o gel foi acomodado em uma cuba ligada a uma fonte de 80 volts e mantida em balcão frigorífico na temperatura de 4 - 8°C, sendo a corrida eletroforética conduzida no sistema horizontal (CARNEIRO e ALMEIDA, 2001).

Após a migração de 5cm do azul de bromofenol (\pm 2 horas de migração), a fonte foi desligada. A seguir, o gel foi transferido para um recipiente de vidro contendo solução de revelação para enzima esterase (50 mL de solução tampão fosfato, 50 mg de Fast Blue RR Salt e 1,5 mL de α -naftilacetato 1%), onde permaneceu incubado no escuro, a 37°C, por 30 minutos. Após a revelação, o gel foi transferido para uma solução fixadora (10% de ácido acético e 40% de solução de álcool metílico) por 30 minutos. Logo após, o gel foi disposto entre papéis celofane, molhado e colocado sobre placas de vidro para secar. A identificação dos fenótipos esterásticos de *Meloidogyne* spp. estudados foi realizada pelo cálculo da mobilidade relativa (R_m) das bandas polimórficas de cada população em relação à primeira banda de *M. javanica* (ESBENSHADE e TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO e ALMEIDA, 2001). Os fenótipos foram identificados por uma letra e um número que corresponderam, respectivamente, à inicial do nome da cultura juntamente com o número de bandas (ESBENSHADE e TRIANTAPHYLLOU, 1985, 1990).

A fim de se obter confirmação das espécies encontradas pela caracterização bioquímica, fêmeas de quatro populações também foram caracterizadas pela configuração da região perineal (HARTMANN e SASSER, 1985). Os cortes perineais foram efetuados de fêmeas jovens, lavadas e limpas em ácido láctico 45% e montadas em lâminas com glicerina, para posterior observação microscópica.

3.2 Análise química do solo

A acidez ativa do solo foi avaliada pela mudança de pH em uma suspensão aquosa solo/água na proporção de 1:1 (TEDESCO, 1995). Foram colocados em tubos "snap-cap" 12 mL de solo e 12 mL de água destilada, tendo sido a solução agitada com auxílio de bastão de vidro e deixada em repouso durante 10 minutos e determinado o pH.

As quantificações do pH, e dos teores de argila e matéria orgânica foram realizadas no Laboratório de Rotina do Departamento de Solos, UFSM, RS.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras estudadas, identificou-se apenas a presença de *M. graminicola* fenótipo esterase VS1 (Rm 0,70) associado às raízes das plantas de arroz irrigado (Tabela 1.1, Figura 1.1). Estes resultados confirmam a ocorrência desta espécie na região estudada, conforme relatos de Gomes et al. (1997). Embora haja registros esporádicos da ocorrência de *M. graminicola* em arroz irrigado no Rio Grande do Sul (SPERANDIO e MONTEIRO, 1991; SPERANDIO e AMARAL, 1994), este é o primeiro levantamento do nematóide das galhas realizado em arroz irrigado no Brasil.

A análise das bandas com atividade esterástica (Figura 1.1) demonstra que elas conferem com o padrão relatado por Esbenshade e Triantaphyllou (1990) os quais descrevem a visualização do fenótipo esterástico *M. graminicola* em gel, como sendo duas bandas muito próximas, as quais, na maioria das vezes, são visualizadas como sendo apenas uma única banda.

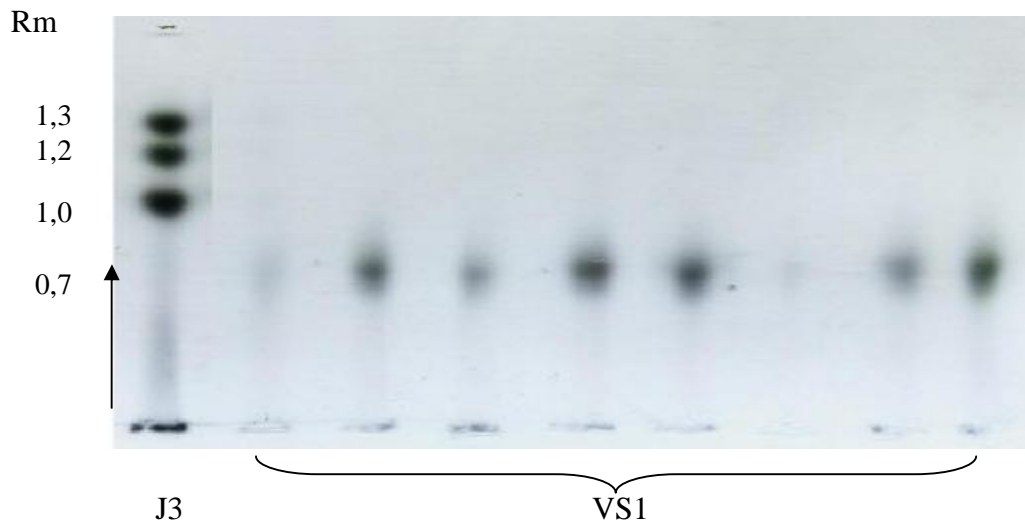


Figura 1.1 - Fenótipos de esterase detectados em 21 populações de *Meloidogyne graminicola* provenientes de plantas de arroz irrigado de lavouras da região central do Estado do Rio Grande do Sul. *Meloidogyne graminicola* (est. VS1), *Meloidogyne javanica* utilizado como padrão (est. J3). Santa Maria, 2007.

Através da análise da região perineal de fêmeas provenientes das populações do nematóide das galhas estudadas (Tabela 1.1), verificou-se padrão dorsalmente ovoide, com estriação distinta, típicas de *M. graminicola* (Figura 1.2).

Por ocasião da coleta ficou evidente a associação da presença do nematóide da galhas com os sintomas observados nas plantas a campo (Figura 1.3).

Nos locais onde as amostras foram coletadas, observou-se a ocorrência de plantas cloróticas, raquíticas e com sistema radicular contendo muitas galhas em formato de meia lua, sendo estes sintomas observados em reboleiras de aproximadamente 2 m² (Figura 1.3 e 1.4).

Tabela 1.1 - Caracterização da localidade, lavoura, cultivar de arroz irrigado, espécie e fenótipos de esterese dos nematóides encontrados em plantas de arroz irrigado da região central do Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2007.

Localidade	Lavoura	Cultivar	Espécie	Fenótipo Esterase
Santa Maria	A	IRGA-417	<i>Meloidogyne graminicola</i>	VS1 ^{***}
	B	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	IRGA-422	<i>M. graminicola</i>	VS1
	D	IRGA-422	<i>M. graminicola</i>	VS1
	E	*	<i>M. graminicola</i>	VS1
	F	IRGA-410	<i>M. graminicola</i>	VS1
	G	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
	H	*	<i>M. graminicola</i>	VS1
São Vicente do Sul	A	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	*	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	IRGA-420	<i>M. graminicola</i>	VS1
	D	IRGA-419	<i>M. graminicola</i>	VS1
Mata	A	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
Formigueiro	A	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1
São Pedro do sul	A	IRGA-410	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	*	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	*	<i>M. graminicola</i>	VS1
Silveira Martins	A	IRGA-420	<i>M. graminicola</i>	VS1
Restinga Seca	A	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
São Sepé	A	**	<i>M. graminicola</i>	VS1

* Cultivar não identificada

** Mistura de cultivares

*** Fenótipo de esterese específico para *M. graminicola*

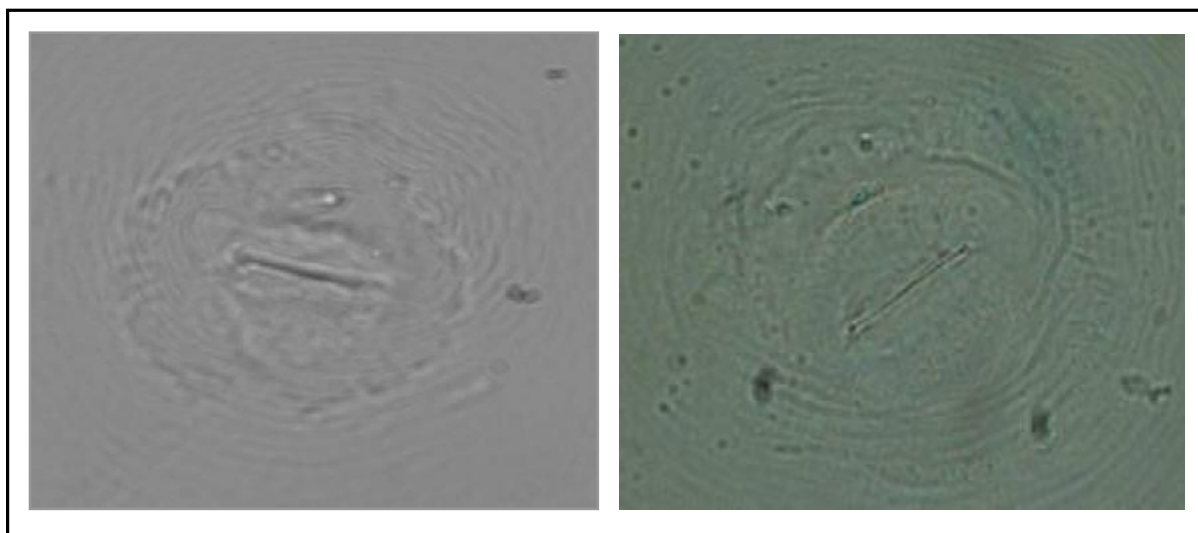


Figura 1.2 - Padrão perineal da população de *Meloidogyne* spp. proveniente de lavouras de arroz irrigado do município de Restinga Seca, evidenciando o fenótipo Est. VS1, típico de *Meloidogyne graminicola*. Santa Maria, 2007.

Conforme relatos dos produtores, as áreas infestadas apresentavam histórico de produtividade decrescente, chegando a ocorrer, em algumas situações, o abandono das lavouras. Nestes locais, a maioria das lavouras pertenciam a pequenos agricultores, os quais também relataram que os danos nas plantas passavam a ser mais visíveis aproximadamente 20 dias após a emergência, ocorrendo um crescente número de plantas com desenvolvimento lento, escurecimento das pontas das folhas, floração precoce e, em áreas mais infestadas, os prejuízos culminavam com a morte das plantas. A literatura demonstra o que vem a confirmar o ocorrido em algumas áreas estudadas, onde ataques severos do nematóide podem causar morte das plantas parasitadas (SPERANDIO e AMARAL, 1994; WHITEHEAD, 1997). Estudos realizados em países asiáticos também demonstraram que áreas infestadas por *M. graminicola* apresentam plantas com retardo no crescimento e menor desenvolvimento de grãos (PADGHAM et al., 2004). Estes sintomas são identificados como indiretos ou reflexos na parte aérea das plantas, decorrentes, principalmente, de maiores dificuldades na absorção e na translocação de água e nutrientes disponíveis no solo, tal como o nitrogênio, que é o nutriente necessário às plantas em maior quantidade, cuja limitação diminui a taxa

de divisão celular, a expansão celular e a fotossíntese, entre outros efeitos (SINCLAIR e HORIE, 1989).

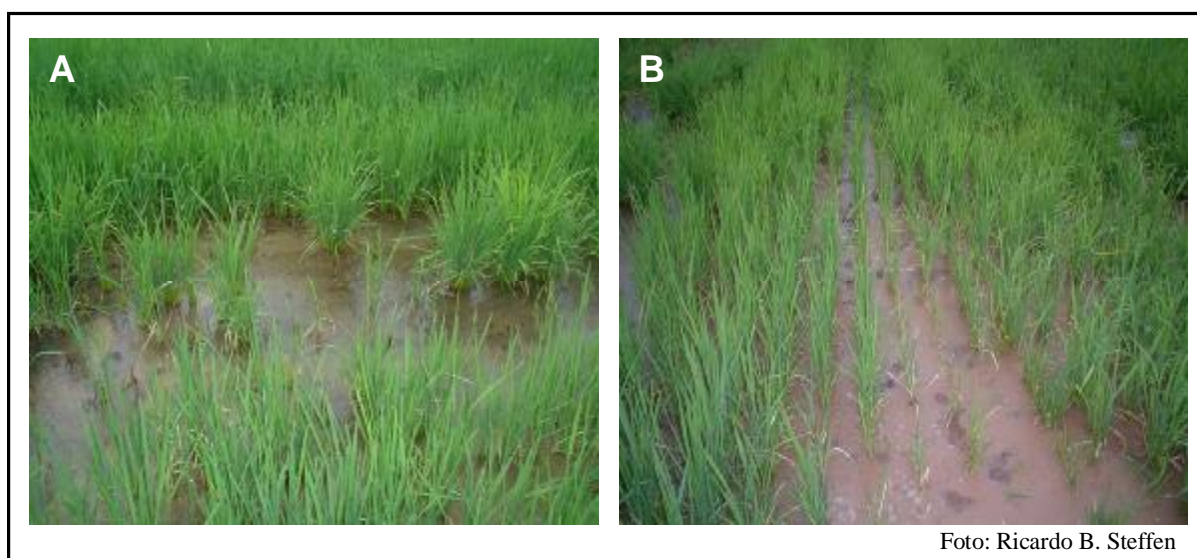


Figura 1.3 - Aspectos das áreas atacadas por *Meloidogyne graminicola* nos municípios de (A) Santa Maria e (B) São Vicente do Sul. Santa Maria, 2007.

Em muitos dos casos estudados, os produtores não possuíam maquinário próprio, utilizando-o na forma de cooperativa ou pelo sistema de empréstimo, o que pode ter contribuído para a disseminação do nematóide de uma área infestada para outra. Além do mais, o curso d'água utilizado para o manejo da irrigação da lavoura era o mesmo para as diferentes áreas que apresentaram o nematóide. Conforme Lordello (1992) os nematóides podem ser comumente disseminados pela suspensão nas águas de irrigação, assim como pelo transporte através de sua aderência em maquinários e implementos agrícolas, bem como pelos cascos de animais que venham a circular pela área infestada. Sendo o nematóide passível de disseminação pela irrigação, o uso de água infestada provavelmente disseminou o inóculo para áreas vizinhas. Desta forma, especula-se que as populações identificadas nas diferentes áreas possam ter a mesma origem.

Segundo Lee (1991), os fatores químicos e ambientais do solo como o pH, características químicas, textura e teores de matéria orgânica do solo podem influenciar o seu desenvolvimento, determinando a distribuição e a atividade dos organismos do sistema solo. Analisando-se as características químicas dos solos

onde foram realizadas as coletas das plantas de arroz estudadas neste trabalho, verifica-se que a variação de pH entre 4,7 e 5,9 não afetou a ocorrência do nematóide nestes solos (Tabela 1.2).



Figura 1.4 - (A) Plantas de arroz irrigado de uma lavoura do município de São Vicente do Sul. (A.1) não atacada por *Meloidogyne graminicola* e (A.2) atacada pelo nematóide. (B) Sintoma do ataque do nematóide expresso pelo sistema radicular. Santa Maria, 2007.

Este resultado é similar ao relatado por Lordello (1992), no qual relata que a acidez do solo apresenta efeito mínimo sobre o ciclo de vida dos nematóides do gênero *Meloidogyne*. Independentemente do pH e dos teores de argila e matéria orgânica dos solos onde foram realizadas as coletas das plantas, houve a presença dos sintomas relacionados à ação parasítica deste nematóide (Tabela 1.2).

Embora não tenham sido avaliadas a diversidade de gêneros e a quantificação de organismos presentes nos locais de coleta, evidenciou-se que a variação das características químicas dos solos analisados, aparentemente, não alterou a ação parasítica do nematóide. Entretanto, outras espécies de nematóides poderão estar presentes em lavouras de arroz irrigado, nas demais regiões orizícolas do Estado do Rio Grande do Sul, e apresentar comportamento diferente do organismo estudado neste trabalho.

As populações de *Meloidogyne* estudadas a nível específico apresentaram o mesmo perfil para esterase, demonstrando apenas a presença de *M. graminicola* nessa região. Entretanto, como outras espécies do nematóide das galhas poderão estar presentes em lavouras de arroz irrigado, um levantamento mais detalhado deve ser realizado em outras regiões orizícolas do Estado do Rio Grande do Sul.

Tabela 1.2 - pH, percentagem de matéria orgânica e argila dos solos coletados nas lavouras de arroz irrigado estudadas na região central do Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2007.

Localidade	Lavoura	Cultivar	pH água 1:1	% Matéria Orgânica	% argila
				m v ⁻¹	
Santa Maria	A	IRGA-417	5,9	2,8	14
	B	IRGA-417	5,6	1,5	15
	C	IRGA-422	5,5	1,9	14
São Vicente do Sul	A	TUNO CL	5,9	1,0	17
	B	*	5,2	1,7	16
	C	IRGA-420	5,7	2,0	15
	D	IRGA-419	4,9	2,2	18
Mata	A	IRGA-417	5,2	1,9	20
Formigueiro	A	TUNO CL	5,5	1,3	25
Água Boa	A	IRGA-422	5,8	1,0	19
	B	*	5,5	1,2	22
São Pedro do Sul	A	IRGA-410	4,7	1,5	19
	B	*	4,9	2,1	21
	C	*	5,8	1,3	20
Silveira Martins	A	IRGA-420	4,9	1,3	12
Arroio do Só	A	IRGA-410	5,1	1,4	20
	B	IRGA-417	4,9	1,8	18
	C	*	5,0	2,2	22
Restinga Seca	A	TUNO CL	5,2	1,4	19
	B	IRGA-417	5,1	1,9	19
São Sepé	A	**	4,8	2,3	23

5 CONCLUSÕES

A caracterização bioquímica através da isoenzima esterase dos nematóides do gênero *Meloidogyne* spp. amostrados nos 21 locais de coleta evidenciou somente o fenótipo VS1 (RM 0,70) típico de *Meloidogyne graminicola* nas lavouras de arroz irrigado dos municípios de Santa Maria, São Vicente do Sul, São Pedro do Sul, Restinga Seca, Formigueiro, Mata, Silveira Martins e São Sepé da região central do Estado do Rio Grande do Sul.

A população oriunda de Restinga Seca foi caracterizada morfológicamente pelo corte da região perineal como *Meloidogyne graminicola*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAYARUNG-SARIT, L. Yield ability of rice varieties in field infested with root-knot nematode. **Rice Abstracts**, v. 11, n. 6, p. 294. 1988.

BRIDGE, J.; PAGE, S. L. J. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. *Indica*). **Revue Nematologie**, v. 5, n. 2, p. 225-232, 1982.

CARNEIRO, R. M. D.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p.35-44, 2001.

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

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

GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. Rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) as a new pest of rice. **Plant Disease Reporter**, v. 52, n. 6, p. 423, 1968.

GOMES, C. B. et al. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, v. 27, n. 3, p. 501-502, 1997.

HARTMAN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C. & SASSER, J. N. **An advanced treatise on *Meloidogyne***. North Carolina State University Graphics, Raleigh, v. 2, p. 69-77, 1985.

LEE, K. E. The diversity of soil organisms. In: HAWKSWORTH, D. L. **The biodiversity of microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture**. CAB International, 1991. 302p.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides de plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo, 1992. 314p.

NETSCHER, C.; ERLAN. Root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, parasitic rice in Indonesia. **Afro-Asian Journal of Nematology**, v. 3, p. 90-95, 1993.

PADGHAM, J. L. et al. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 1, p. 42-48, 2004.

PROT, J. C.; MATIAS, D. M. Effects of water regime on the distribution of *Meloidogyne graminicola* and other root-parasitic nematodes in a rice field toposequence and pathogenicity of *M. graminicola* on rice cultivar UPL R15. **Nematologica**, v. 41, p. 219-228, 1995.

RAO, Y. S.; PRASAD, S.; RAO, A. V. S. Interaction of the cyst and root-knot nematodes in roots rice. **Revue de Nematologie**, v. 7, n. 2, p.117-120, 1984.

RIBEIRO, A. S.; SPERANDIO, G. A. De.; SELISTRE, J. F. De. Novo nematóide ataca o arroz no RS. **Revista Lavoura Arrozeira**, v. 37, n. 350, p. 6-7, 1984.

SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (eds). **An Advanced treatise on *Meloidogyne: Biology and control***. Raleigh: North Caroline State University Graphics, 1985. p.225-231.

SINCLAIR, J. R.; HORIE, T. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: a review. **Crop Science**, v. 29, p. 90 – 98, 1989.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, 2004. Disponível em: <<http://www.sosbai.com.br>>. Acesso em: 8 nov. 2006.

SPERANDIO, C. A.; AMARAL, A. S. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* causador da falsa bicheira do arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Lavoura Arrozeira**, v. 47, n. 413, p. 3-5, 1994.

SPERANDIO, C. A.; MONTEIRO, A. R. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 24, 1991.

TEDESCO, M. J. **Análises de Solo, Plantas e outros Materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de solos, UFRGS, 1995. 174p.

WHITEHEAD, A. G. **Plant nematode control**. Wallingord: CAB International, 1997. 384p.

Capítulo II

REAÇÃO DE DEZ CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO AO NEMATÓIDE DAS GALHAS *Meloidogyne graminicola* Golden e Birchfield SOB DOIS REGIMES DE ÁGUA

1 RESUMO

Dez cultivares de arroz irrigado recomendados para o Sul do Brasil (BR-IRGA 410, IRGA-417, IRGA-420, IRGA-422CL, BRS 7-“Taim”, BRS Atalanta, BRS Fronteira, BRS Firmeza, BRS Pelota e BRS Querência) foram avaliados quanto à suscetibilidade ao nematóide das galhas *M. graminicola* sob condições de solo drenado e saturado. Primeiramente, os diferentes cultivares foram inoculados com 1000 J2 de *M. graminicola* por planta sob dois regimes de irrigação. Dez dias após, foram avaliados quanto ao número de juvenis do nematóide penetrados nas raízes. Posteriormente, os mesmos cultivares foram inoculados com 5000 ovos de *M. graminicola* por planta sob as mesmas condições de irrigação. Decorridos 51 dias de inoculação, as plantas foram lavadas e avaliadas individualmente quanto ao peso de matéria das raízes frescas, número de galhas e ovos por raiz e o respectivo fator de reprodução. Interação significativa foi verificada entre o fator de reprodução do nematóide nos diferentes cultivares e nos dois regimes de água. A grande maioria dos cultivares avaliados foram suscetíveis a *M. graminicola*, independentemente do regime de umidade. Apenas o cultivar IRGA 422CL foi o que proporcionou uma menor penetração dos nematóides para as condições avaliadas se comportando como moderadamente resistente sob condição de saturação do solo. Para os demais cultivares, os resultados foram variáveis, dependendo da condição de umidade do solo.

2 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos mais importantes cereais no cenário da produção mundial de alimentos, face à grande área de cultivo e volume produzido (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 1993). O cultivo desta cultura ocupa no mundo 150 milhões de hectares por ano e sua produção atinge aproximadamente 600 milhões de toneladas, sendo metade desta, provinda de lavouras com irrigação controlada, as quais ocupam apenas 25% da área total cultivada (NEDEL et al., 1998; GOMES e MAGALHÃES, 2004).

O Estado do Rio Grande do Sul possui 950 mil hectares cultivados com arroz irrigado, sendo responsável por 45% da produção nacional, com 11 milhões de toneladas de grãos (SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO, 2004).

Dentre os fatores que determinam a produtividade do arroz irrigado, os danos causados pelo parasitismo de fitonematóides são reconhecidos mundialmente (BRIDGE e PAGE, 1982; SPERANDIO e AMARAL, 1994b; SORIANO e REVERSAT, 2003; PADGHAM et al., 2004a). Os nematóides, de uma maneira geral, representam o maior número de indivíduos no ecossistema solo, ocupando posição central na cadeia alimentar de detritos (MOORE e RUITER, 1991; COLEMAN e HENDRIX, 2000), participando de processos ecológicos fundamentais, como a decomposição e ciclagem de nutrientes no solo (FRECKMAN, 1988; MAXWELL e COLEMAN, 1995; FERRIS e MATUTE, 2003). Embora muitos nematóides desempenhem papel importante no ecossistema solo, e em muitos casos são utilizados como bioindicadores de sua qualidade (PORAZINSKA et al., 1999; NEHER, 2001), alguns subgrupos formam relações parasíticas com raízes de plantas, causando distúrbios nutricionais, deficiência na translocação de água e nutrientes e, conseqüentemente, diminuição no potencial produtivo (YEATES e COLEMAN, 1982; BRUSAARD et al., 1997).

A nematofauna associada ao arroz irrigado é intensa e variada, com a presença dos gêneros *Aphelencoides* spp., *Criconemella* spp., *Helicotylenchus* spp., *Hirschmanniella* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., dentre outros (RIBEIRO et al., 1984; SPERANDIO e MONTEIRO, 1991; SPERANDIO e AMARAL, 1994a;

PROT et al., 1994). Os nematóides sedentários do gênero *Meloidogyne* spp. representam os organismos mais evoluídos quanto ao parasitismo de raízes de plantas (BARKER, 2003), sendo considerados como um dos principais limitantes da produtividade agrícola em lavouras orizícolas (BRIDGE e PAGE, 1982; PLOWRIGHT et al., 1999; SORIANO e REVERSAT, 2003; REVERSAT e FERNANDEZ, 2004).

Meloidogyne graminicola é considerada uma das espécies com maior potencial de danos na cultura do arroz irrigado (BRIDGE e PAGE, 1982; SORIANO e REVERSAT, 2003; PADGHAM et al., 2004a). A ocorrência desta espécie foi inicialmente constatada nos Estados Unidos parasitando raízes de capim-arroz (*Echinochloa colonum* L.) (GOLDEN e BIRCHFIELD, 1965), sendo posteriormente encontrada nas raízes de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) (GOLDEN e BIRCHFIELD, 1968). Este organismo está amplamente disseminado nas lavouras orizícolas, chegando a ser encontrado em metade das áreas orizícolas das Filipinas.

Para minimizar os danos causados por estes organismos, a utilização de cultivares resistentes mostra-se como uma das principais alternativas de manejo dos nematóides (ROBERTS, 2002). No entanto, embora algumas plantas cultivadas têm sido estudadas e utilizadas no melhoramento genético por apresentarem resistência ou imunidade a espécies de *Meloidogyne* (WHITEHEAD, 1997), esta alternativa nem sempre pode ser possível pela falta de fontes de resistência para o melhoramento genético e pela não adaptabilidade dos cultivares resistentes a determinadas regiões ou épocas de plantio. Além disso, ainda são incipientes os levantamentos de gêneros e espécies de fitonematóides em arroz de sequeiro e irrigado no Brasil, o que dificulta a implementação de programas de rotação de culturas e a utilização de resistência varietal, que por sua vez, pode ser afetada pela ampla distribuição geográfica e pela polifagia destes organismos (CARNEIRO, 1992).

Em países como China, Estados Unidos e Filipinas, além de países Asiáticos como Tailândia, Laos, Vietnam, Bangladesh e Indonésia, existem estudos não só referentes à quantificação de danos, mas quanto à seleção e utilização de variedades de arroz irrigado resistentes a *M. graminicola* (PRASAD et al., 1986; BRIDGE et al., 1990; CUC e PROT, 1992; GAUR et al., 1993; NETSCHER e ERLAN, 1993; PLOWRIGHT et al., 1999; SORIANO e REVERSAT, 2003; REVERSAT e FERNANDEZ, 2004; PADGHAM, 2004a).

No Brasil, pouco se conhece a respeito de cultivares de arroz irrigado que apresentam resistência ou tolerância a *M. graminicola*. Dentre os trabalhos encontrados na literatura, destaca-se apenas um registro de avaliações realizadas para os cultivares Araguaia, Guarani, IAC-25, IAC-47, IAC-238, IAC-242, IAC-4440, IRGA-409, IRGA-410, IRGA-413, IRGA-414, Jaguari, Rio Paranaíba e Bluebelle, (FERRAZ, 1993). Em avaliações realizadas em plantas do cultivar Bluebelle infestadas por *M. graminicola*, Ribeiro et al., (1984) observaram diminuição de 19,59% na estatura das plantas, 13,95% no número de perfilhos, 15,39% no comprimento da panícula, 48,10% no número de grãos por panícula e uma esterilidade de 218,41% em relação a plantas sadias.

Com base em resultados de pesquisas realizadas em países Asiáticos e Norte-Americanos, os quais demonstraram o potencial de dano causado pela ação parasítica de *M. graminicola* em plantas de arroz irrigado, fica evidente a necessidade de estudos referentes ao grau de resistência dos cultivares utilizados nas lavouras orizícolas no Sul do Brasil.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a penetração e o desenvolvimento de *M. graminicola* em diferentes cultivares de arroz irrigado em condições de solo drenado e saturado, e avaliar o grau de resistência de dez cultivares de arroz irrigado que representam a orizicultura no Estado do Rio Grande do Sul.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Microbiologia do Solo e Ambiente e na casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. O substrato utilizado foi composto de solo em estado natural, coletado na área experimental do Departamento de Solos da UFSM. O mesmo foi tamizado em malha de 2 mm e autoclavado duas vezes consecutivas à 121°C por uma hora.

O trabalho constou de duas etapas: primeiramente foi avaliada a penetração de juvenis de *Meloidogyne graminicola* em raízes de dez cultivares de arroz irrigado

recomendados para lavouras orizícolas do Sul do Brasil (item 3.1), sob condições de solo drenado (70% da capacidade de campo) e de solo inundado (saturado). Em uma segunda etapa, as mesmas cultivares foram avaliadas quanto à reação de resistência ao nematóide nas mesmas condições de solo descritas acima.

3.1 Cultivares de arroz irrigado

Para condução dos testes, foram utilizados os cultivares de arroz irrigado BR-IRGA-410, IRGA-417, IRGA-420, IRGA-422CL, BRS 7 “Taim”, BRS Atalanta, BRS Fronteira, BRS Firmeza, BRS Pelota e BRS Querência (SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO, 2004; MARCHEZAN, 2006).

As sementes foram obtidas junto ao Laboratório de Sementes da UFSM e Embrapa Clima Temperado. Inicialmente, as sementes foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 0,5% durante 25 segundos (FERNANDEZ, 1993). Logo após, foram lavadas com água destilada por um minuto para retirada do residual de hipoclorito de sódio e mantidas em papel de germinação a 26°C, no escuro por quatro dias. O transplante das plântulas para o substrato ocorreu quando estas apresentavam radícula de aproximadamente 2 mm de comprimento. Para o arroz mantido em solo saturado, os vasos foram revestidos internamente por sacos de polietileno para evitar a perda de água durante a condução do experimento. Entretanto, para o solo drenado, os vasos foram revestidos com sacos de polietileno perfurados para escoar o excesso de água.

3.2 Inóculo do nematóide (*M. graminicola*)

O inóculo de *M. graminicola* foi obtido a partir de uma população pura (CARNEIRO e ALMEIDA, 2001) proveniente de arroz irrigado cultivar IRGA 420. O inóculo foi mantido em vasos com capacidade de 2,5 L de solo em casa de vegetação do Departamento de Solos, UFSM, RS. As extrações do nematóide foram realizadas pelo tritramento das raízes conforme técnica descrita por Hussey e

Barker (1973). As raízes coletadas dos vasos foram lavadas em água corrente para retirada do solo aderido. Em seguida, as raízes foram cortadas em pedaços de 1 cm e colocadas em liquidificador, onde foram trituradas por 1 minuto em uma solução de hipoclorito de sódio 0,1%. Logo após, o material foi vertido em peneiras de 80 e 500 mesh e lavado com auxílio de jatos de água através de uma pisseta. O material retido na peneira de 500 mesh foi recolhido em um bequer e quantificado para posterior utilização.

3.3 Avaliação da penetração de juvenis de *M. graminicola* em diferentes cultivares de arroz irrigado sob duas condições de irrigação

Neste ensaio foram avaliados o número e os estádios de desenvolvimento dos juvenis de *M. graminicola* penetrados no sistema radicular de dez cultivares de arroz irrigado recomendados para utilização no Estado do Rio Grande do Sul (item 3.1). Os ensaios foram conduzidos sob condições de solo drenado (70% da capacidade de campo) e sob condição de solo saturado (inundado). O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, sendo constituído de 20 tratamentos e cinco repetições, em arranjo fatorial, respectivamente para cultivar e condição de irrigação.

3.3.1 Obtenção do inóculo

Para condução deste experimento, uma suspensão de ovos de *M. graminicola* previamente retidos na peneira de 500 mesh, conforme item 3.2, foi colocada em funil de Baermann modificado (CHRISTIE e PERRY, 1951) sobre lenço de papel Kleenex fixado na posição mediana do funil, a fim de se obter os juvenis de segundo estágio (J2).

3.3.2 Inoculação de *M. graminicola* em plântulas de arroz irrigado

Quinze dias após a emergência, plantas de arroz mantidas individualmente em copos plásticos pretos com capacidade de 500 mL, contendo substrato (item 3) foram inoculadas com 10 mL de uma suspensão contendo 1000 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. graminicola* de 24 – 36 horas de vida. As inoculações das plantas de arroz dos diferentes cultivares foram realizadas separadamente nas condições de solo drenado e saturado, depositando-se o inóculo em cinco orifícios de aproximadamente 2 cm de profundidade, perfurados no substrato em volta de cada planta. Para os tratamentos mantidos em solo drenado, as plantas foram irrigadas uma vez por dia com volume de água correspondente a 70% da capacidade de campo do solo. Nos tratamentos onde o solo foi mantido sob condição de saturação, o solo foi saturado 24h após a inoculação. Após a irrigação das plantas de acordo com os tratamentos, as plantas foram mantidas em ambiente controlado a 26°C, com fotoperíodo de 14 horas por 10 dias (Tabela 2.1 e Figura 2.1).



Foto: Ricardo B. Steffen

Figura 2.1 - Plântulas de arroz irrigado com 20 dias após a emergência mantidas em estufa. Santa Maria, 2007.

3.3.3 Avaliações

Decorridos 10 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, lavadas em água corrente e acondicionadas em sacos plásticos à 4°C.

Posteriormente, as raízes de cada repetição foram cortadas em pedaços de 1 cm, colocadas em um bequer contendo 50 mL de água destilada e 30 mL de hipoclorito de sódio com 5% de cloro ativo. As raízes permaneceram na solução por 8 minutos com agitação ocasional. Após este período, as mesmas foram lavadas em água corrente por 50 segundos para retirada do residual de hipoclorito de sódio e mantidas de molho em água destilada por 15 minutos. Decorrido o tempo, as raízes foram transferidas para um bequer contendo 30 mL de água destilada e 1 mL da solução corante (75 mL água destilada, 25 mL de ácido acético glacial e 350 mg de fucsina ácida). As raízes foram fervidas na mistura por 35 segundos, esfriadas até atingirem temperatura ambiente e lavadas em água corrente. Após resfriadas, as raízes foram colocadas em 30mL de glicerol (glicerina) acidificado com duas gotas de ácido clorídrico (HCl 5 N) (BYRD et al., 1983). Após a etapa de coloração, as raízes foram dispostas entre duas lâminas de vidro sob microscópio com aumento de 40 vezes para contagem do número de juvenis de *M. graminicola* penetrados e seus respectivos estádios de desenvolvimento.

Os dados obtidos dos tratamentos conduzidos em solo drenado e saturado foram transformados para raiz quadrada de $x + 0,1$ e submetidos à análise de variância e teste de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade pelo software SISVAR (FERREIRA, 2000).

3.4 Reação de diferentes cultivares de arroz irrigado a *M. graminicola* sob duas condições de irrigação

Neste experimento foi avaliada a reprodução do nematóide *M. graminicola* nas mesmas cultivares de arroz irrigado detalhadas no item 3.1 em condições de solo drenado e saturado. O delineamento experimental foi do tipo inteiramente

casualizado, sendo constituído de 20 tratamentos e seis repetições, em arranjo fatorial, respectivamente para cultivar e condição de irrigação. O experimento foi conduzido em vasos de 5 L contendo 4 L de substrato, mantidos na casa de vegetação do Departamento de Solos da UFSM (Figura 2.2).

3.4.1 Obtenção do inóculo

Uma suspensão de ovos de *M. graminicola* obtida conforme item 3.2 foi submetida a flotação centrífuga em solução de sacarose (COOLEN e D'HERDE, 1972) e logo após, quantificada com utilização de câmara de Peters sob microscópio estereoscópico com aumento de 20 vezes.

3.4.2 Inoculação de *M. graminicola* em plantas de arroz

Plântulas de arroz irrigado com 20 dias de idade, mantidas em vasos de 5 L contendo substrato, foram inoculadas com 10 mL de uma suspensão de *M. graminicola* contendo 5000 ovos em cinco orifícios de aproximadamente 2 cm de profundidade perfurados no substrato em volta do colo das plântulas. Após a inoculação, os vasos foram irrigados conforme os tratamentos (Tabela 2.3), e mantidos na temperatura de 25-30°C, por 51 dias. Os tratamentos mantidos sob condições de saturação do solo foram irrigados 48 h após a inoculação.

3.4.3 Avaliações

Decorridos 51 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram lavadas em água corrente e logo após avaliadas quanto à matéria de raízes frescas e ao número de galhas. Posteriormente, o sistema radicular de cada planta foi processado conforme Coolen e D'Herde (1972) para determinação do número de ovos por

planta. Para o cálculo do fator de reprodução do nematóide, utilizou-se a fórmula ($FR = N_f / N_i$, onde N_f = número final de ovos por sistema radicular e N_i = número inicial de ovos inoculados por sistema radicular).

Os dados obtidos nos tratamentos foram transformados para raiz quadrada de $x + 1$ e submetidos à análise de variância e teste de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro pelo software SISVAR (FERREIRA, 2000).

Os dados do número total de juvenis penetrados nas raízes, número de galhas nas raízes e matéria de raízes frescas foram correlacionados através da análise de correlação de Pearson.



Figura 2.2 - Plantas de arroz irrigado mantidas em vasos de 5 L contendo 4 L de substrato, em casa de vegetação, A) solo drenado e B) solo saturado. Santa Maria, 2007.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Penetração de juvenis de *Meloidogyne graminicola* em diferentes cultivares de arroz irrigado sob duas condições de irrigação

Em todas as raízes dos cultivares estudados, foram encontrados, em diferentes proporções, juvenis de segundo, terceiro e quarto estágio (Tabelas 2.1, Figura 2.3).

Analisando-se os dados apresentados na tabela 2.1, observou-se que houve interação significativa entre as variáveis cultivar estudado e condição de saturação do solo. A variação no número total de nematóides penetrados foi de 64 a 201 juvenis penetrados nas raízes de plantas mantidas sob condições de solo drenado e de 41 a 146 juvenis penetrados nas raízes de plantas mantidas sob condições de solo saturado, conforme os cultivares avaliados. Esta variação pode ter ocorrido devido a possíveis diferenças no volume radicular das plantas mantidas nas diferentes condições de umidade do solo. Sendo os cultivares analisados neste ensaio desenvolvidos e recomendados para utilização em áreas inundadas (solo saturado) nestas condições o sistema radicular destas plantas provavelmente seja mais denso, sendo assim, para um mesmo número de nematóides inoculados, os danos causados serão menores.

Para os cultivares BR-IRGA-410, IRGA-420, IRGA-422CL, BRS 7 - "Taim", BRS Querência, BRS Firmeza, BRS Pelota e BRS Atalanta, a condição de solo drenado proporcionou um maior número de nematóides penetrados nas raízes destes cultivares. Entretanto para o cultivar IRGA-417, verificou-se uma maior penetração de juvenis de segundo estágio e do número total de *M. graminicola* nas raízes mantidas em solo saturado (Tabela 2.1). Portanto, na condição de alagamento, a penetração do nematóide nas raízes da maioria dos cultivares foi menor. Porém, pelo fato dos ensaios terem sido conduzidos em períodos diferentes, a condução de um novo ensaio, com todos tratamentos, validaria esses resultados.

Analisando-se os resultados obtidos em condições de solo drenado, observou-se que, de uma maneira geral, para os cultivares desenvolvidos pelo Instituto Rio-Grandense do Arroz (IRGA) ocorreu uma menor penetração de nematóides nas raízes (Tabela 2.1). Já para as condições de solo saturado, este padrão de resposta não se manteve. O comportamento verificado pode ter ocorrido devido a diferenças na constituição radicular dos cultivares estudados.

Partindo-se do pressuposto de que o ciclo de parasitismo do nematóide inicia com a penetração de juvenis de segundo estágio nas raízes da planta, pôde-se observar que, para o solo drenado, os cultivares IRGA-422CL e IRGA-417 foram os que apresentaram um número significativamente menor de juvenis de segundo, terceiro e quarto estágio penetrados (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Número de juvenis de segundo estágio (J2), juvenis de terceiro e quarto estádios (J3 + J4), relação entre estádios de desenvolvimento e número total de nematóides penetrados nas raízes de plantas de arroz irrigado de cultivares mantidos sob condições de solo drenado e saturado. Média de cinco repetições. Santa Maria, 2007.

Cultivar	Juvenis penetrados				Total de nematóides penetrados*		J2 / (J3 + J4)***	
	J2*		(J3 + J4)*		Drenado	Saturado	Drenado	Saturado
	Drenado	Saturado	Drenado	Saturado				
BRS 7 – “Taim”	127 a A**	76 cd B	74 a A	24 abc B	201 a A	100 b B	1,71	3,16
BRS Firmeza	102 ab A	53 e B	63 ab A	10 bcd B	165 ab A	63 cd B	1,61	5,3
BRS Fronteira	99 ab A	115 ab A	56 ab A	31 a A	155 bc A	146 a A	1,76	3,70
BRS Pelota	80 bc A	91 bc A	53 bc A	26 ab A	133 bc A	117 ab A	1,50	3,5
BRS Atalanta	101 ab A	83 c A	31 cd A	15 bcd A	132 bc A	98 b A	3,25	5,53
BRS Querência	79 bc A	33 f B	40 cd A	10 bcd B	119 cd A	43 cd B	1,97	3,3
IRGA – 420	62 cd A	57 de A	34 cd A	8 d B	96 de A	65 c B	1,82	7,12
BR-IRGA – 410	49 de A	56 e A	24 de A	9 cd B	73 ef A	65 c A	2,04	6,22
IRGA – 417	51 de B	125 a A	20 de A	8 d B	71 f B	133 a A	2,55	15,62
IRGA – 422CL	37 e A	34 f A	27 e A	7 d B	64 f A	41 d B	1,37	4,85
CV (%)	10,71	11,54	4,92	5,63	9,69	11,70		

* Dados transformados para $\sqrt{x+1,0}$.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula (entre regime de umidade) na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

*** Relação entre o número de juvenis de segundo estágio (J2) com o número de juvenis de terceiro e quarto estádios (J3 + J4).

Contudo, para o solo saturado, o mesmo resultado foi verificado nos cultivares IRGA-422CL e BRS Querência. De acordo com estes resultados, observou-se que as raízes do cultivar IRGA-422CL foram as que proporcionaram uma menor penetração dos nematóides para as condições avaliadas (Tabelas 2.1). Segundo Marchezan (2006) este material é resultante de uma seleção por retrocruzamento, com o objetivo de incorporação do gene de tolerância a um determinado herbicida. Provavelmente o referido cultivar tenha desenvolvido, de forma indireta, algum tipo de resistência ou barreira aos nematóides fitoparasitas. Steffen, R. B. (comunicação pessoal) em estudos sobre a ocorrência de nematóides do gênero *Meloidogyne* spp. em lavouras de arroz irrigado, observou que, segundo os produtores, áreas infestadas pelo nematóide das galhas que apresentavam plantas visivelmente debilitadas, após a introdução do cultivar IRGA-422CL, passaram a apresentar uma menor ocorrência de manchas sintomáticas.

Analisando-se os resultados da penetração apresentados na tabela 2.1, observou-se que, para a condição de solo drenado, os cultivares IRGA-422CL, IRGA-417, IRGA-410 e IRGA-420 foram os que apresentaram o menor número total de nematóides penetrados nas raízes das plantas. Entretanto, para a condição de solo saturado, estes cultivares apresentaram o menor número de juvenis de terceiro e quarto estágio nas raízes, ou seja, em condições de saturação do solo o número total de nematóides penetrados nas raízes não apresentou grande variação com relação ao solo drenado, mas a proporção de juvenis de terceiro e quarto estágio penetrados foi significativamente menor na condição de solo saturado (Tabela 2.1). Este comportamento provavelmente ocorreu devido a alterações no sistema radicular destes cultivares provocadas pela saturação do solo. Estas alterações possivelmente proporcionaram mudanças na fisiologia da planta, o que, indiretamente, pode ter influenciado em um menor desenvolvimento dos nematóides penetrados, ou ainda um retardo neste processo.

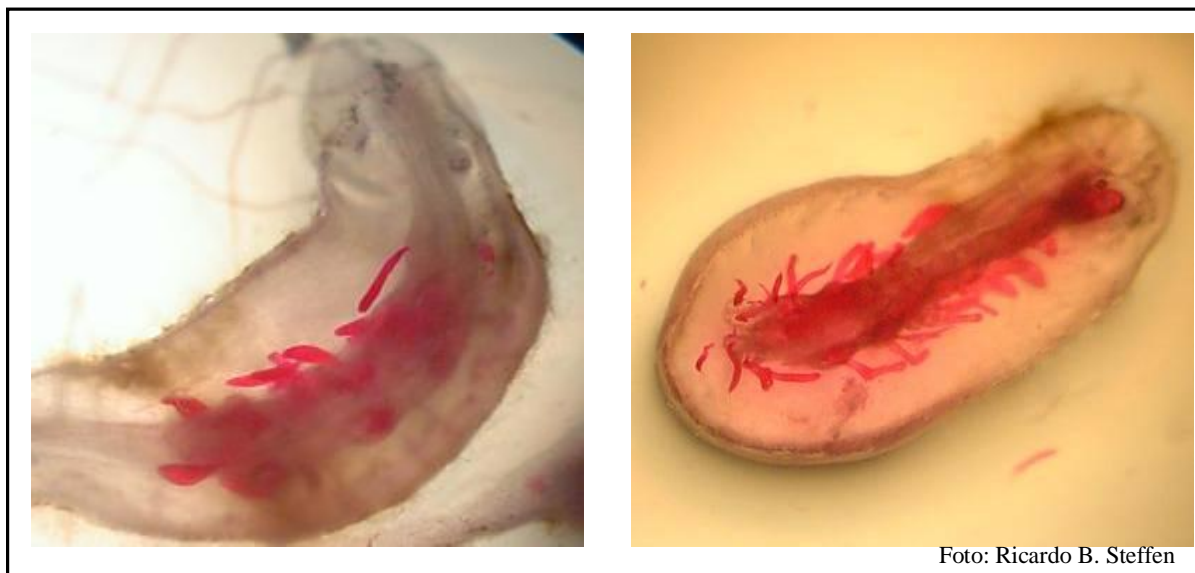


Foto: Ricardo B. Steffen

Figura 2.3 - Cortes longitudinais de galhas presentes nas raízes de plantas de arroz irrigado cultivar IRGA-417 contendo juvenis de segundo e terceiro estádios. Santa Maria, 2007.

Analisando-se as raízes das plantas penetradas pelo nematóide, verificou-se que, de uma forma geral, as coifas das raízes foram as áreas de maior penetração destes organismos, sendo o local onde se concentrou o maior número de juvenis (Figura 2.4), fato este devido a coifa e a zona meristemática, representarem a região de desenvolvimento das raízes, sendo constituídas de tecidos fisiologicamente mais novos, representando um local preferencial a penetração.

O uso da inundação do solo como medida de controle de nematóides baseia-se na morte das plantas hospedeiras provocada pelo ambiente anaeróbico e, conseqüentemente, pela produção de ácidos orgânicos (TIHOHOD, 1993; LORDELLO, 1992). No entanto, estes autores demonstraram resultados de algumas investigações indicando que, para o controle de nematóides do gênero *Meloidogyne*, é necessário inundar a área infestada por um período de 12 a 22 meses, o que inviabilizaria o uso desta estratégia.

A ocorrência de reboleiras oriundas da ação do nematóide *M. graminicola* está situada nas porções da lavoura onde a lâmina de água é menor ou mesmo em pontos mais elevados no terreno onde não há acúmulo de água (SPERANDIO e AMARAL, 1994b; WHITEHEAD, 1997). Entretanto, Steffen et al., (2006) encontrou

áreas sistematizadas, sem qualquer problema quanto à distribuição de água na lavoura, nas quais havia ocorrência de manchas de plantas debilitadas, cloróticas e de menor porte (Figura 2.5). Prot e Matias (1995) em estudos quanto ao efeito do regime de água em lavouras orizícolas das Filipinas, verificaram que a ocorrência de *M. graminicola* foi maior em áreas inundadas. Dessa forma, considerando-se os resultados obtidos neste ensaio, verifica-se que a penetração e os estádios de desenvolvimento dos juvenis de *M. graminicola* dependem dos cultivares de arroz e da respectiva condição de saturação do solo.

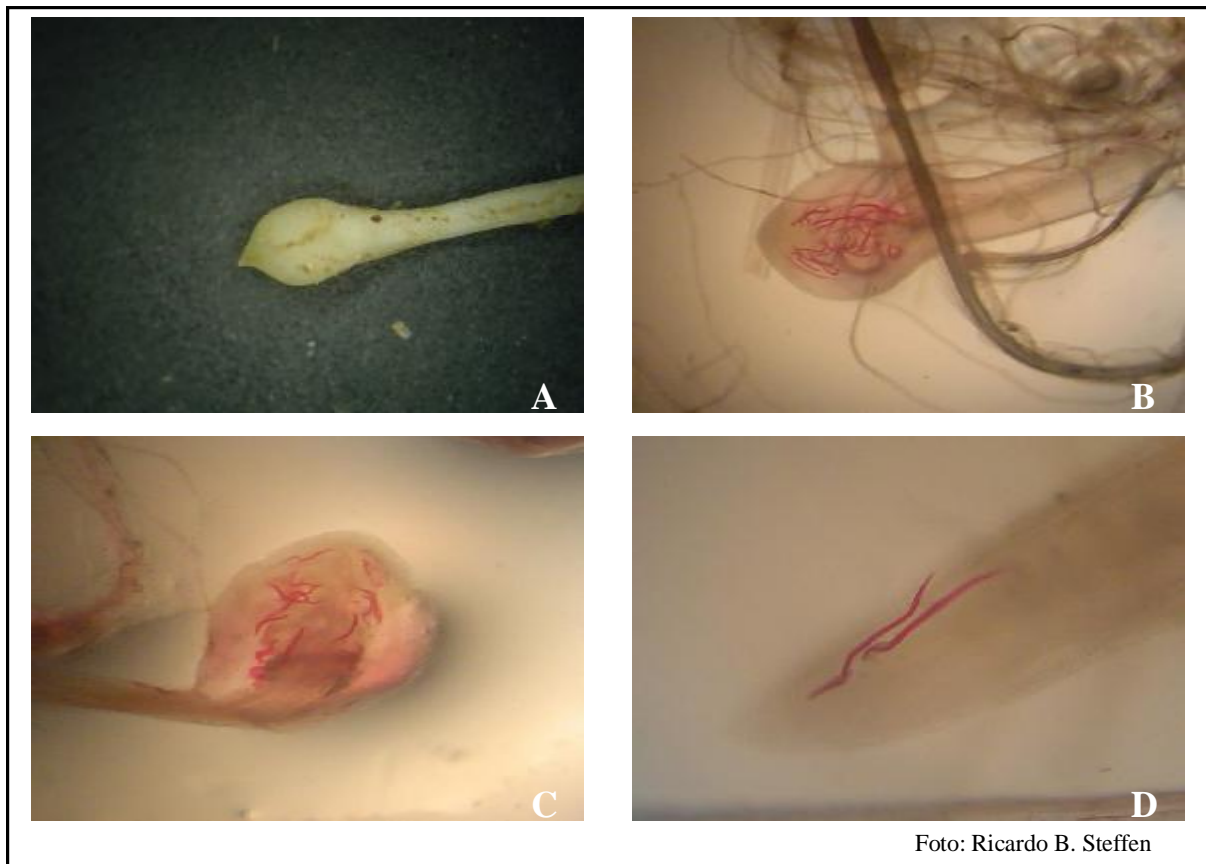


Figura 2.4 - Galha presente na coifa de raiz de plantas de arroz irrigado cultivar BRS 7-“Taim” (A), visualização dos nematóides penetrados nas raízes após a coloração com fucsina ácida (B, C, D). Santa Maria, 2007.

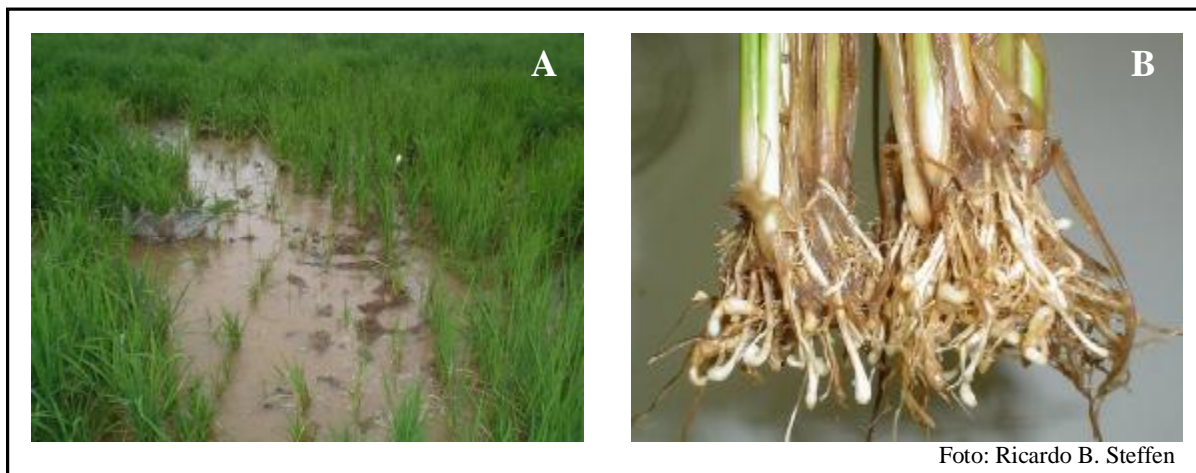


Foto: Ricardo B. Steffen

Figura 2.5 - Área cultivada com arroz irrigado no distrito de Água Boa, município de Santa Maria, com sintomas de infestação de *Meloidogyne graminicola* (A) e raízes das plantas parasitadas pelo nematóide (B). Santa Maria, 2007.

A resistência de plantas ao nematóide das galhas não protege a planta contra a penetração de juvenis, mas altera o desenvolvimento ou a reprodução deste organismo (ROBERTS, 2002). Deste modo, para se avaliar a resistência dos cultivares de arroz irrigado a *M. graminicola*, foram necessários além de avaliações quanto ao desenvolvimento dos juvenis penetrados nas raízes dos cultivares testados, o estudo da reação destes mesmos cultivares à espécie de nematóide das galhas aqui estudada.

4.2 Reação de diferentes cultivares de arroz irrigado a *Meloidogyne graminicola* sob duas condições de irrigação

De acordo com os resultados observados neste ensaio (Tabela 2.2) verificou-se interação significativa entre os cultivares testados e o regime de umidade para número de galhas, ovos e fator de reprodução de *M. graminicola*. Observou-se para os cultivares BRS Atalanta, BRS Firmeza, BRS Fronteira, BRS Pelota, IRGA-417 e IRGA-422CL maior número de galhas em solo drenado, enquanto que os cultivares BRS Querência, BR-IRGA-410, IRGA-420 e BRS 7 - "Taim", o maior número de

galhas ocorreu em condição de solo saturado (Tabela 2.2). O cultivar IRGA-420 apresentou número significativamente maior de galhas para ambas condições de umidade do solo (Tabela 2.2). Já o cultivar BRS Querência apresentou o menor número de galhas para a condição de solo drenado, não diferindo significativamente dos cultivares BRS7-“Taim”, BR-IRGA-410, BRS Fronteira, BRS Pelota, IRGA-417 e IRGA-422CL. Para a condição de solo saturado, o cultivar IRGA-422CL apresentou o menor número de galhas, não diferindo significativamente dos cultivares IRGA-417 e BRS Firmeza (Tabela 2.2). Soriano et al. (2000) avaliando a tolerância de cultivares asiáticos a *M. graminicola* observaram maior número de galhas nas plantas mantidas sob irrigação descontínua.

Analisando-se o efeito da condição de umidade do solo no número de galhas observadas nas raízes dos cultivares avaliados, verificou-se que o cultivar IRGA-420 apresentou um número significativamente maior de galhas em condição de solo saturado. Já os cultivares IRGA-417, BRS Firmeza e IRGA-422CL apresentaram número de galhas significativamente maior na condição de solo drenado (Tabela 2.2). Para os cultivares BR-IRGA-410, BRS Atalanta, BRS 7-“Taim”, BRS Querência, BRS Fronteira e BRS Pelota, a condição de umidade do solo não apresentou variação significativa quanto ao número de galhas (Tabela 2.2).

O cultivar BRS Firmeza apresentou o maior número de ovos e fator de reprodução de *M. graminicola* em condição de solo drenado. Já em solo saturado, além do cultivar IRGA-420 ter apresentado o maior número de galhas, apresentou também o maior número de ovos e fator de reprodução (Tabela 2.2).

Nos cultivares BR-IRGA-410, IRGA-420 e BRS Atalanta, a simples inundação do solo proporcionou um aumento significativo no fator de reprodução do nematóide (Tabela 2.2) e, conseqüentemente, no número de ovos. Entretanto, nos cultivares IRGA-422CL, IRGA-417 e BRS Firmeza, foi verificado o aumento do fator de reprodução de *M. graminicola* em solo drenado.

Tabela 2.2 - Número de galhas, ovos e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne graminicola* nas raízes de plantas de arroz irrigado de dez cultivares mantidos sob condições de solo drenado e saturado. Média de seis repetições. Santa Maria, 2007.

Cultivar	Número de galhas / planta*		Número de ovos / raiz*		FR	
	Drenado	Saturado	Drenado	Saturado	Drenado	Saturado
IRGA - 420	278 a B**	399 a A	78 131 bc B	218 331 a A	15,62 c B	43,66 a A
BRS Atalanta	177 b A	159 bc A	50 103 d B	158 626 b A	10,02 cde B	31,72 b A
BRS 7 – “Taim”	159 bc A	166 bc A	105 447 b A	152 232 b A	21,08 b A	30,44 b A
BR-IRGA – 410	133 bc A	191 b A	29 059 e B	148 505 b A	5,81 e B	29,70 b A
BRS Querência	105 c A	121 cd A	65 929 cd B	135 580 b A	13,18 cd B	27,11 b A
BRS Firmeza	194 b A	93 d B	140 784 a A	97 713 c B	28,15 a A	19,54 c B
BRS Fronteira	163 bc A	161 bc A	47 592 d B	97 268 c A	9,51 de B	19,45 c A
BRS Pelota	153 bc A	127 cd A	59 084 cd A	56 410 d A	11,81 cd A	11,28 d A
IRGA – 417	147 bc A	98 d B	60 578 cd A	48 031 d A	12,11 cd A	9,60 d A
IRGA – 422CL	129 bc A	80 d B	55 861 cd A	28 839 e B	11,17 cde A	5,76 e B
CV (%)	16,19	15,21	14,79	10,21	32,35	20,05

* Dados transformados para $\sqrt{x+1,0}$.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula (entre regime de umidade) na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Analisando-se os dados da penetração e da reprodução de *M. graminicola*, pôde-se observar, embora não significativa, correlação negativa entre o fator de reprodução e o número de nematóides penetrados nas raízes das plantas mantidas em solo saturado (Figura 2.6).

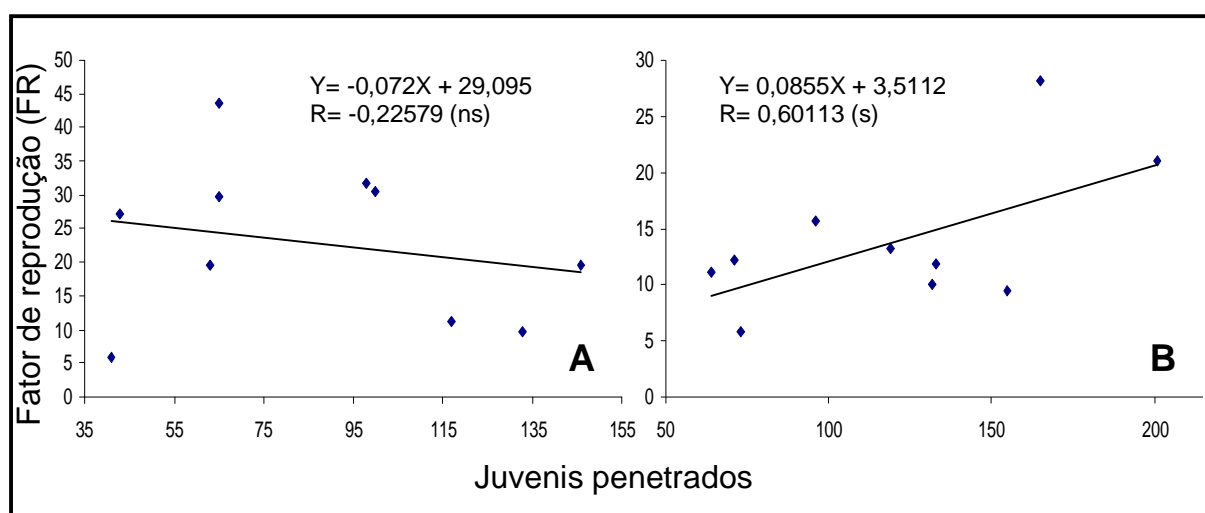


Figura 2.6 - Correlação entre o fator de reprodução (FR) e o número de juvenis penetrados nas raízes de plantas de arroz irrigado sob condições de solo (A) saturado e (B) drenado. Santa Maria, 2007.

Já para a condição de solo drenado, observou-se correlação positiva e significativa entre o número total de juvenis de *M. graminicola* penetrados nas raízes dos cultivares e o fator de reprodução encontrado (Figura 2.6). Sendo que, para esta condição de umidade do solo, quanto maior foi o número de juvenis penetrados nas raízes, maior foi o fator de reprodução observado.

Analisando-se o número total de juvenis penetrados nas raízes dos cultivares e o número de galhas presentes, observou-se, embora baixa ($R = -0,08674$ e $R = 0,12952$), correlação negativa e positiva para as condições de solo saturado e drenado respectivamente (Figura 2.7). Já Prot e Matias (1995) verificaram que em lavouras orizícolas das Filipinas, solos não inundados proporcionaram um menor número de juvenis de *M. graminicola* penetrados, mas um maior desenvolvimento de galhas em plantas do cultivar UPL Ri5. Estas diferenças entre a reação dos cultivares utilizados em países asiáticos e os cultivares utilizados no sul do Brasil

podem estar relacionadas à diferença na origem destes materiais, uma vez que os cultivares utilizados no presente trabalho são oriundos de cultivares americanos, enquanto que os cultivares utilizados nas Filipinas são originários de genótipos asiáticos. Desta forma, como estes cultivares são oriundos de centros de origem diferentes, possivelmente apresentem características distintas quanto a sua fisiologia, constituição radicular e reação à ação parasítica do nematóide.

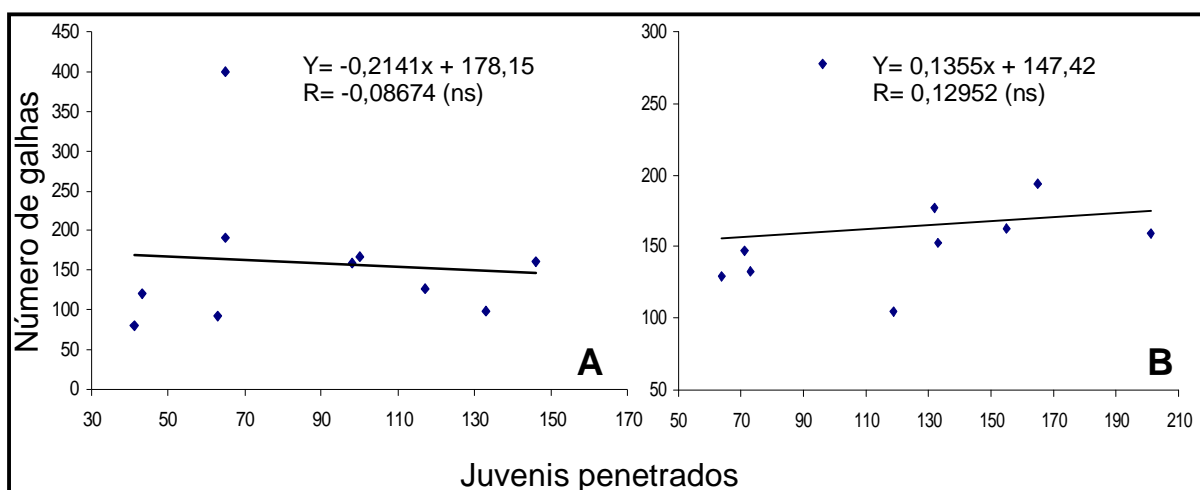


Figura 2.7 - Correlação entre o número de galhas e o número de juvenis penetrados nas raízes de plantas de arroz irrigado sob condições de solo (A) saturado e (B) drenado. Santa Maria, 2007.

Os dados referentes à matéria fresca foram significativos apenas para cultivar, independentemente da condição de irrigação (Tabela 2.3). O cultivar IRGA-420 apresentou matéria fresca de raízes significativamente maior em relação aos demais cultivares. Os cultivares IRGA-422CL e IRGA-417 apresentaram os menores valores, embora não apresentando diferença significativa em relação aos cultivares BR-IRGA-410, BRS 7 –“Taim”, BRS Atalanta, BRS Fronteira e BRS Querência (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 – Matéria de raízes frescas de dez cultivares de arroz irrigado inoculadas com *Meloidogyne graminicola* em condições de solo drenado e saturado. Santa Maria, 2007.

Cultivar	Matéria de raízes frescas(g)
IRGA – 420	6,04 a*
BRS Firmeza	3,86 b
BRS Pelota	3,83 b
BR-IRGA – 410	3,71 bc
BRS 7 – “Taim”	3,3 bc
BRS Atalanta	3,25 bc
BRS Fronteira	2,75 bc
BRS Querência	2,64 bc
IRGA – 417	2,35 c
IRGA – 422CL	2,31 c
CV (%)	45,75

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Segundo Tihohod (1993), o aumento no volume celular, o que acarreta em uma maior matéria fresca das raízes, é resultante das mudanças neoplásticas no sistema radicular, aumentando sua matéria em relação a raízes sadias. Segundo o autor, em muitos casos, um número anormal de raízes laterais prolifera das galhas, ocasionando um maior volume radicular. Com base nestas informações, possivelmente a maior matéria fresca observada para o cultivar IRGA-420 (Tabela 2.3) seja devido ao seu maior número de galhas, sendo que este cultivar apresentou número significativamente maior de galhas para ambas condições de umidade do solo (Tabela 2.2).

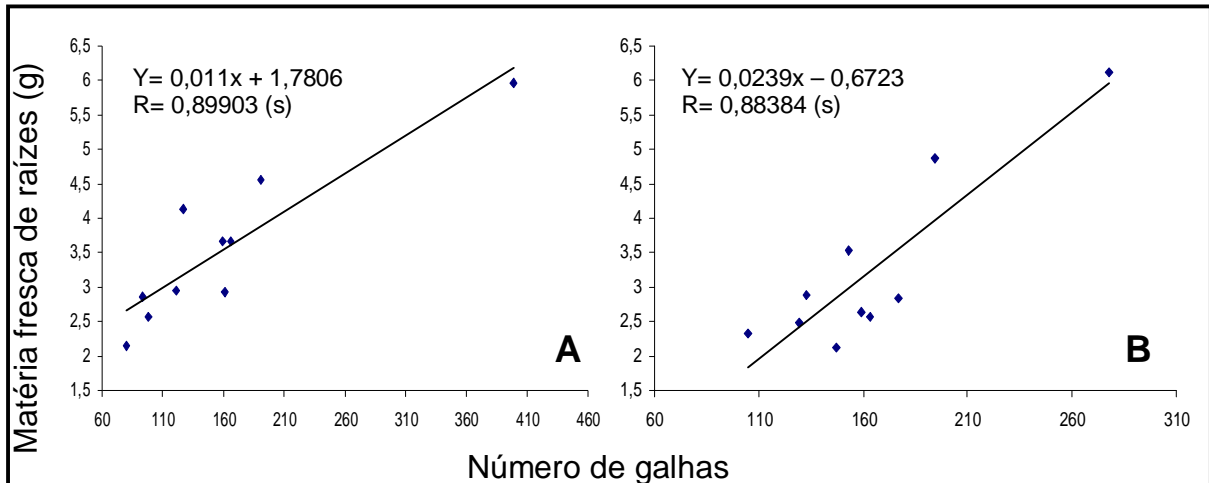


Figura 2.8 - Correlação entre a matéria fresca das raízes e o número de galhas nas raízes de plantas de arroz irrigado sob condições de solo (A) saturado e (B) drenado. Santa Maria, 2007.

Considerando-se que o uso de todos os materiais utilizados neste ensaio são recomendados para o sistema de solo alagado, verificou-se que a condição de saturação do solo proporcionou uma maior reprodução dos nematóides nas raízes da maioria dos cultivares avaliados (Tabela 2.2). A saturação proporcionou um aumento médio de 276% no fator de reprodução do nematóide, quando comparado com o observado nas plantas mantidas em solo não saturado. Embora tenha sido verificada maior relação $J2/(J3+J4)$ em solo saturado (Tabela 2.1), os maiores fatores de reprodução observados para esta condição podem estar relacionados a outros fatores intrínsecos do cultivar, como alterações na fisiologia ou no desenvolvimento do sistema radicular das plantas, proporcionando melhores condições para o desenvolvimento do nematóide.

Outra particularidade encontrada nas plantas mantidas em solo saturado foi que, alguns cultivares, embora não tenham sido os que apresentaram maior número de galhas, apresentaram as suas raízes severamente danificadas pela ação do nematóide (Figura 2.9).

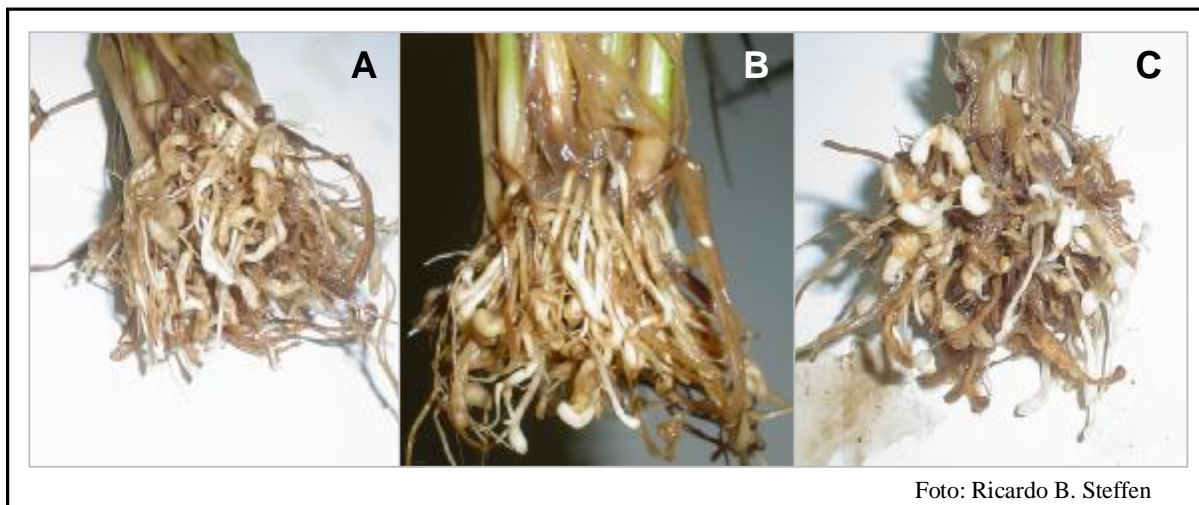


Figura 2.9 - Raízes de alguns cultivares após 51 dias da inoculação com 5000 ovos de *Meloidogyne graminicola* por vaso em solo saturado. Santa Maria, 2007.

O maior ou menor número de galhas nas plantas pode estar relacionado a alguma expressão de incompatibilidade da planta ao nematóide, pois segundo Hussey (1985) as secreções das glândulas esofagianas dos nematóides endoparasitos estão intimamente relacionadas com a suscetibilidade das plantas, pois a partir delas, modificações celulares são induzidas e mantidas como sítio específico de alimentação do nematóide. Contudo, o menor desenvolvimento do nematóide no interior das raízes de alguns cultivares pode ser explicado por algum tipo de mecanismo de defesa apresentada pelas plantas de arroz irrigado devido à ação parasítica do nematóide. Entretanto, para a comprovação desta hipótese, estudos histopatológicos devem ser realizados.

Outra possibilidade do menor desenvolvimento do nematóide nos cultivares IRGA-422CL e BRS Fronteira é a possível presença de algum tipo de resistência genômica adquirida por estes materiais durante sua criação e seleção, assim como ocorre com o gene Mi, que tem sido estudado como gene de resistência do tomateiro a nematóides do gênero *Meloidogyne*.

Embora, para a maioria dos cultivares estudados, o maior número total de nematóides penetrados tenha sido observado para a condição de solo drenado (Tabela 2.1), os maiores fatores de reprodução ocorreram em condições de saturação do solo (Tabela 2.2), exceto para os cultivares BRS Firmeza e IRGA-

422CL, os quais apresentaram menor fator de reprodução em condição de solo saturado.

Considerando-se os fatores de reprodução obtidos, a maioria dos cultivares utilizados nos ensaios não apresentou resistência a *M. graminicola*, sendo estes classificados como suscetíveis ao organismo, tanto em condições de solo drenado como em solo saturado (Tabela 2.2). Estes resultados corroboram com os obtidos por Plowright et al. (1999) que, avaliando a resistência de cultivares de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) desenvolvidos no continente africano, observaram que todos mostraram-se suscetíveis ao nematóide. Manser (1971) em ensaios conduzidos no Laos, onde foram avaliados dezenas de cultivares de arroz irrigado, não obteve materiais resistentes a *M. graminicola*. Em trabalhos conduzidos por Padgham et al. (2004b) foi verificado fator de reprodução de 115,9 para o cultivar BR11 do Instituto de Pesquisa do Arroz em Bangladesh. Embora a maioria dos cultivares avaliados neste ensaio tenham sido suscetíveis a *M. graminicola*, observou-se diferentes graus de tolerância, dependendo da condição de umidade do solo. Resultado semelhante foi observado por Soriano et al. (2000) em avaliações realizadas quanto à tolerância de cultivares asiáticos ao nematóide. Dentre os cultivares avaliados, o cultivar IRGA-422CL (FR 5,76) demonstrou ser um material, embora suscetível, tolerante a *M. graminicola* (Tabela 2.2). Este cultivar apresentou o menor número total de nematóides penetrados tanto em condições de solo drenado como saturado (Tabela 2.1), o menor número de galhas, ovos e, conseqüentemente, o menor fator de reprodução para a condição de saturação do solo (Tabela 2.2).

Segundo a Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado (2005), o sistema de cultivo pré-germinado ocupa 9% da área orizícola no Estado. Neste sistema, a semeadura é realizada em solo previamente inundado. A semente de arroz emite primeiramente a radícula como órgão de sustentação e, após a emergência da plântula, a mesma começa a sustentar-se no solo através de raízes seminais, sendo este um sistema radicular temporário devido a sua degeneração logo após o começo da formação das raízes adventícias. (GOMES e MAGALHÃES, 2004). Desta forma, neste período inicial, a penetração do nematóide nas raízes seminais existentes, possivelmente não irá causar danos às plantas, em virtude da sua existência ser temporária. Assim, os danos somente começarão a ocorrer com a penetração dos juvenis de segundo estágio nas raízes adventícias do arroz, as quais, estando sob

condições de saturação do solo, proporcionarão um menor número de nematóides penetrados. Embora o desenvolvimento do nematóide no interior das raízes dependa muito mais das características dos cultivares do que da condição de umidade do solo (Tabela 2.2), a condição de saturação do solo aparentemente aumentou o grau de tolerância a *M. graminicola* para a maioria dos cultivares estudados.

Conforme os resultados obtidos neste trabalho, o número de nematóides penetrados e seu desenvolvimento nas raízes das plantas de arroz variaram significativamente, tanto para condições de alagamento como para solo drenado, não havendo um padrão definido.

Com base nos resultados obtidos neste trabalho e no tipo de manejo adotado pelos orizicultores do Sul do Brasil, supõe-se que a utilização do cultivar IRGA-422CL no sistema pré-germinado seja uma forma de amenizar os danos causados pelo *M. graminicola* nas lavouras de arroz irrigado.

5 CONCLUSÕES

A condição de umidade do solo não definiu um comportamento padrão quanto à reação dos cultivares a *Meloidogyne graminicola*, sendo que os cultivares BRS Atalanta, BRS Firmeza, BRS Fronteira, BRS Pelota, IRGA- 417 e IRGA-422CL apresentaram maior número de galhas em solo drenado, enquanto que os cultivares BRS Querência, BR-IRGA-410, IRGA-420 e BRS 7- “Taim” apresentaram maior número de galhas em solo saturado;

Os cultivares de arroz irrigado BRS Atalanta, BRS Fronteira, BRS Firmeza, BRS Pelota, BRS Querência, BRS 7-“Taim”, BR-IRGA-410, IRGA-417, IRGA-420 e IRGA-422CL apresentaram diferentes graus de tolerância a *Meloidogyne graminicola* dependendo da condição de umidade do solo;

O cultivar IRGA-422CL apresentou o maior grau de tolerância ao nematóide.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARKER, K. R. Perspectives on plant and soil nematology. **Annual Review of Phytopathology**, v. 41, p. 1-25, 2003.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.

BRIDGE, J.; LUC, M.; PLOWRIGTH, R. A. Nematode parasites of rice. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. St. Albans, C.A.B. International, Institute of Parasitology, 1990. p. 69-107.

BRIDGE, J.; PAGE, S. L. J. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. *Indica*). **Revue Nematologie**, v. 5, n. 2, p. 225-232, 1982.

BRUSAARD, L. et al. Biodiversity and ecosystem function in soil. **Ambio**, v. 26, p. 563-570, 1997.

BYRD, Jr. D. W.; KIRKPATRICK, J.; BAEKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 1, p. 142-143, 1983.

CARNEIRO, R. M. D. G. Princípios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 113-121, 1992.

CARNEIRO, R. M. D.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

COLEMAN, D.; HENDRIX, P. **Invertebrates as Webmasters in Ecosystems**, New York, CABI Publishing, 2000. 335p.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. State Agricultural Research Center, 1972. 77p.

CHRISTIE, J. R.; PERRY, V. G. Removing nematodes from soil. **Proceedings of Helminthological Society of Washington**, v. 18, p. 106-108, 1951.

CUC, M. T. T.; PROT, J. C. Root-parasitic nematodes of deep-water rice in the Mekong Delta of Vietnam. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 15, p. 575-577, 1992.

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128p.

FERRAZ, L. C. C. B. Reações de variedades de arroz a três espécies de *Meloidogyne*. **Nematologia Brasileira**. v.17, n.1, p.76-84, 1993.

FERREIRA, D.F. **Sistemas de análise estatística para dados balanceados**. Lavras:UFLA/DEX/SISVAR, 2000. 145p.

FERRIS, H.; MATUTE, M. M. Structural and functional succession in the nematode fauna of a soil food web. **Applied Soil Ecology**, v. 23, p. 93-110, 2003.

FRECKMAN, D. W. Bacterivorous nematodes and organic-matter decomposition. **Agriculture Ecosystems Environment**, v. 24, p. 195-217, 1988.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. I. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal:FUNEP-SP, 1993. 221p.

GAUR, H. S.; KHAN, E.; SEHGAL, M. Occurrence of two species of root-knot nematodes infecting rice, wheat, and monocot weeds in Northern India. **Annals of Plant Protection Science**, v. 1. p. 141-142, 1993.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES, A. M. De. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília,DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 899p.

GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. *Meloidogyne graminicola* (Heteroderidae), a new species of root-knot nematode from grass. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 32, p. 228–231, 1965.

GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. Rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) as a new pest of rice. **Plant Disease Reporter**, v. 52, n. 6, p. 423, 1968.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, n. 12, 1973.

HUSSEY, R. S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (ed.) **An advanced treatise on Meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985, v. 1, p.143-154.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides de plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo, 1992. 314p.

MARCHEZAN, E. **Características de cultivares de arroz irrigado**. Santa Maria, 2006. 93p.

MAXWELL, R. A.; COLEMAN, D. C. Seasonal dynamics of nematode and microbial biomass in soils of riparian-zone forest of the southern Appalachians. **Soil Biology Biochemical**, v. 27, p. 79-84, 1995.

MOORE, J. C.; RUITER, P. G. de. Temporal and special heterogeneity of thopic interactions within below-ground food webs. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 34, p. 371-397, 1991.

NEDEL, J. L.; ASSIS, F. N.; CARMONA, P. S. A planta de arroz: Morfologia e Fisiologia. In: PESKE, S. T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1998. 659p.

NEHER D. A. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. **Journal of Nematology**, v. 33, n. 4, p. 161-168, 2001.

NETSCHER, C. e ERLAN. Root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, parasitic rice in Indonesia. **Afro-Asian Journal of Nematology**, v. 3, p. 90-95, 1993.

PADGHAM, J. et al. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 1, p. 42-48, 2004a.

PADGHAM, J. L. et al. Impact of wheat on *Meloidogyne graminicola* populations in the rice-wheat system of Bangladesh. **Nematropica**, v. 34, n. 2, p. 183-190, 2004b.

PLOWRIGHT, R. A. et al. Resistance of the rice nematodes *Heterodera sacchari*, *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* in *Oryza glaberrima* x *O. sativa* interspecific hybrids. **Nematology**, v. 1, n. 7, p. 745-751, 1999.

PORAZINSKA, D. L. et al. Nematode communities as indicators of status and processes of soil ecosystem influenced by agricultural management practice. **Applied Soil Ecology**, v. 13, p. 69-86, 1999.

PRASAD, J. S.; PANWAR, M. S.; RAO, Y. S. Screening of some rice cultivars against the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola*. **Indian Journal of Nematology**, v. 16, p. 112-113, 1986.

PROT, J. C.; SORIANO, I. R. S.; MATIAS, D. M. Major root-parasitic nematodes associated with irrigated rice in the Philippines. **Fundamental and applied nematology**, v. 17, n. 1, p. 75-78, 1994.

PROT, J. C.; MATIAS, D. M. Effects of water regime on the distribution of *Meloidogyne graminicola* and other root-parasitic nematodes in a rice field toposequence and pathogenicity of *M. graminicola* on rice cultivar UPL R15. **Nematologica**, v. 41, p. 219-228, 1995.

REVERSAT, G.; FERNANDEZ, L. Effect of inoculations with single and multiple juveniles on release of progeny of *Meloidogyne graminicola* from susceptible rice. **Nematology**, v. 6, n. 1, p. 1-6, 2004.

RIBEIRO, A. S.; SPERANDIO, G. A. De.; SELISTRE, J. F. De. Novo nematóide ataca o arroz no RS. **Revista Lavoura Arrozeira**, v. 37, n. 350, p. 6-7, 1984.

ROBERTS, P. A. Concepts and consequences of resistance. In: Starr, J. L., Cook, R.; Bridge, J. (Eds.). **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. CAB International, 2002. p. 23-41.

SALGADO, S. M. L.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P. Reprodução de *Meloidogyne exigua* em cultivares de cafeeiros resistentes e suscetíveis. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 413-415, 2005.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, 1974.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz Irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, XXVI Reunião da cultura do arroz irrigado. Santa Maria, 159p. 2005.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. 2004. Disponível em: <<http://www.sosbai.com.br>>. Acesso em: 12 set. 2006.

SORIANO, I. R. S.; PROT, J. C.; MATIAS, D. M. Expression to tolerance for *Meloidogyne graminicola* in rice cultivars as affected by soil type and flooding. **Journal of Nematology**, v. 32, n. 3, p. 309-317, 2000.

SORIANO, I. R. S.; REVERSAT, G. Management of *Meloidogyne graminicola* and yield of upland rice in South-Luzon, Philippines. **Nematology**, v. 5, n. 6, p. 879-884, 2003.

SPERANDIO, C. A.; MONTEIRO, A. R. Ocorrência de *M. graminicola* em arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 24, 1991.

SPERANDIO, C. A.; AMARAL, A. S. Nematóides fitoparasitas associados ao arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Lavoura Arrozeira**, v. 47, n. 417, p. 3-5, 1994a.

SPERANDIO, C. A.; AMARAL, A. S. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* causador da falsa bicheira do arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Lavoura Arrozeira**, v. 47, n. 413, p. 3-5, 1994b.

STEFFEN, R. B. et al. Caracterização isoenzimática do nematóide das galhas (*Meloidogyne spp.*) em arroz irrigado na região central do Rio Grande do Sul. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 27., Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 11., Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, 9., Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 6., 2006, Bonito, MS. **Anais...** Bonito, 2006. 1 CD-ROM.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal, FUNEP, 1993. 372p.

YEATES, G. W.; COLEMAN, D. C. Nematodes in decomposition. In: FRECKMAN, D. W. **Nematodes in soil ecosystems**. Austin: University of Texas, 1982. p.55-80.

WHITEHEAD, A. G. **Plant nematode control**. Wallingord: CAB International, 1997. 384p.

Capítulo III

EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS BIOATIVAS NO CONTROLE DE *Meloidogyne graminicola* Golden e Birchfield EM ARROZ IRRIGADO

1 RESUMO

Testou-se o efeito de dez diferentes óleos essenciais de plantas medicinais (alfazema, cidrão, eucalipto citriodora, hortelã, alecrim, camomila, manjeriço, marcela, orégano e funcho) no controle de *M. graminicola* em arroz irrigado cultivar BR-IRGA 410. Inicialmente avaliou-se o potencial nematicida “in vitro” destes óleos sobre a eclosão de ovos e a mortalidade de juvenis do nematóide, utilizando-se duas metodologias para dispersão dos óleos essenciais (dimetil sulfoxido e etanol). Todos os óleos testados reduziram a eclosão de ovos do nematóide (16 – 48%) em relação a testemunha. Os óleos de alfazema e cidrão apresentaram os maiores índices de mortalidade dos juvenis de *M. graminicola* (89 – 100%) utilizando-se ambas metodologias, 24 e 48 horas após as inoculações. A partir desses resultados, selecionou-se os óleos de alfazema e cidrão para estudo do seu potencial no controle do nematóide em plantas de arroz irrigado. Quarenta dias após a semeadura as plantas foram pulverizadas semanalmente com os óleos no solo e na parte aérea por um período de nove semanas. Decorrido 48 horas da primeira aplicação, cada planta foi inoculada com 5000 ovos do nematóide. Decorridos 50 dias da inoculação, as plantas foram avaliadas quanto a matéria de planta fresca, número de galhas, número de ovos e fator de reprodução. Ambos os óleos foram capazes de suprimir o número de galhas, ovos e fator de reprodução via foliar ou diretamente no solo, o que evidencia o potencial desses produtos no controle do nematóide das galhas.

2 INTRODUÇÃO

Dentre os fitonematóides causadores de danos em lavouras de arroz irrigado, *Meloidogyne graminicola* Golden e Birchfield é considerado um dos mais importantes limitadores da produção de grãos em países asiáticos (BRIDGE et al., 1990; BRIDGE e PAGE, 1982; SHARMA et al., 2001; PADGHAM, 2004). O gênero *Meloidogyne* spp. tem maior ocorrência nos países tropicais e subtropicais devido às condições de temperatura e umidade serem adequadas para seu desenvolvimento, além da vasta presença de hospedeiros (LUC et al., 1990).

Estes organismos do solo prejudicam as plantas devido à sua ação parasítica sobre as raízes que, por sua vez, alteram a absorção e a translocação de nutrientes, prejudicando a fisiologia e a nutrição da planta, causando sinais de enfraquecimento, secamento das folhas, desfolhamento precoce, podendo, inclusive, causar a morte da planta (SPERANDIO e AMARAL, 1994; WHITEHEAD, 1997; FREITAS et al., 2001).

Medidas de controle como a utilização de plantas resistentes, introdução de sistemas de rotação de culturas com espécies não hospedeiras e o uso de adubos verdes com plantas de efeito antagônico ao nematóide, podem contribuir para a diminuição das populações destes organismos, favorecer o desenvolvimento de plantas e a produtividade das culturas (ZAMBOLIM et al., 1996; DIAS et al., 1999). No entanto, estas práticas muitas vezes não são utilizadas pelos agricultores, por não apresentarem efeito imediato.

Em países asiáticos, um dos métodos mais utilizados no controle destes organismos inclui o uso de produtos químicos à base de carbamatos e organofosfatos na forma de não fumigantes e fumigantes sistêmicos (DECKER, 1981), além do tratamento químico de sementes (KRISHNA-PRASAD e RAO, 1982; PADGHAM, 2004). No Rio Grande do Sul, Estado responsável por 45% da produção de arroz irrigado do país, não há indicação de defensivos previstos para Meloidoginoses no arroz irrigado, sendo utilizados, quando há suspeita da ocorrência destes organismos na lavoura, produtos à base de carbamatos sistêmicos, os quais apresentam classe toxicológica I. O uso destes produtos no controle de nematóides geralmente é pouco efetivo, apresenta custos elevados e

pode deixar resíduos nos alimentos, prejudicando a saúde humana e o ambiente (OKA et al., 2000).

Devido a estas desvantagens, existem pressões por parte da sociedade para que o uso de produtos químicos seja cada vez mais restrito. Existe, além disso, uma expectativa por parte dos agricultores, no sentido de que estes produtos sejam, ao mesmo tempo, atóxicos ao homem e aos animais. Esforços têm sido concentrados na integração de agentes de controle biológico, visando a prática de uma agricultura mais limpa através do uso de insumos naturais biologicamente ativos contra fitopatógenos (COSTA et al., 2000; CAMPANHOLA e BETTIOL, 2003; LOPES et al., 2005). O conceito de produto natural é estendido a todos os compostos de origem biológica, que podem ser específicos de um único organismo, ou comum a um grupo de organismos (SALGADO e CAMPOS, 2003).

Dentre as alternativas estudadas, o efeito de extratos botânicos (SASANELLI, 1992; DIAS et al., 2000), extratos de sementes (KHURMA e SINGH, 1997), exsudatos vegetais (ROCHA e CAMPOS, 2004) e óleos essenciais (LORIMER et al., 1996; OKA et al., 2000; LOPES et al., 2005; BOSENBECKER, 2006) tem sido frequentemente relatado no controle de fitonematóides.

Na literatura são apresentadas várias plantas de efeito nematicida comprovado, como o *Tagetes erecta* L. (CHITWOOD, 2002; SINGH et al., 2003), *Mucuna aterrina* (Piper e Tracy) (BARCELOS et al., 1997) e *Crotalaria spectabilis* (Roth) (SILVA et al., 1989; SANO e NAKASONO, 1986).

Segundo Quarles (1992), extratos botânicos podem apresentar algumas vantagens sobre pesticidas sintéticos, como: (1) oferecerem novos compostos que as pragas ainda não podem inativar; (2) apresentarem uma menor concentração de compostos tóxicos; (3) apresentarem biodegradação rápida e possuírem múltiplos modos de ação, o que torna possível um amplo espectro de uso enquanto retêm uma ação seletiva dentro de cada classe de praga; (4) serem derivados de recursos renováveis, diferentemente dos materiais sintéticos.

Os óleos essenciais são potencialmente úteis no manejo de doenças de plantas cultivadas, especialmente na agricultura orgânica (SALGADO et al., 2003), representando uma alternativa a mais na proteção das lavouras (ISMAN, 2000). O efeito dos óleos essenciais sobre a eclosão e o desenvolvimento de fitonematóides das espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) , *M. exigua* (Goeldi) e *M. javanica* (Treub) tem sido comprovado por vários pesquisadores (LEELA et al., 1992; ABID et

al., 1997; ISMAN, 2000; OKA et al., 2000; OKA, 2001; BOSENBECKER, 2006). Estes óleos podem ser definidos como sendo os elementos voláteis contidos em vários órgãos da planta (SERAFINI et al., 2001) contendo um número elevado de componentes individuais pertencentes a diferentes classes de grupos funcionais sintetizados no metabolismo secundário das plantas (SILVA, 2000), onde se destacam os terpenos, terpenos oxigenados, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados e fenilpropanos (SERAFINI et al., 2001; MOYNA et al., 2002).

Os compostos presentes nos óleos essenciais podem atuar diretamente sobre o patógeno ou serem indutores de resistência, envolvendo a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas (HAMMERSCHMIDT e DANN, 1997; SCHAWN-ESTRADA et al., 2003).

Muitos testes utilizando óleos essenciais e extratos de plantas medicinais estão sendo realizados no controle dos mais diferentes fitopatógenos. No entanto, até o presente momento, os estudos utilizando compostos extraídos de plantas medicinais têm sido realizados, praticamente, apenas “in vitro”, sendo necessários estudos em condições de campo (SCHAWN-ESTRADA et al., 2003). Além disso, não foram encontrados relatos na literatura de trabalhos utilizando óleos essenciais no controle “in vitro” ou “in vivo” de *M. graminicola*.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial nematicida, “in vitro”, de óleos essenciais de plantas bioativas como *Lavandula angustifolia* (Alfazema), *Cymbopogon citratus* (Cidrão), *Eucalyptus globulus* (Eucalipto citriodora), *Mentha piperita* (Hortelã), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), *Matricaria chamomilla* (Camomila), *Ocimum basilicum* (Manjericão), *Achyrocline satureioides* (Marcela), *Origanum vulgare* (Orégano) e *Foeniculum vulgare* (Funcho) sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne graminicola*, e avaliar o potencial dos óleos essenciais no controle de *M. graminicola* aplicado em plantas de arroz irrigado em condições de casa de vegetação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi dividido em três ensaios: (1) o efeito nematostático de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a eclosão de ovos de *Meloidogyne graminicola*; (2) o efeito nematicida sobre os de juvenis de segundo estágio e (3) avaliação do potencial dos óleos essenciais no controle de *M. graminicola* em plantas de arroz irrigado. Os ensaios de eclosão e mortalidade foram constituídos por 10 tratamentos, correspondentes aos 10 óleos essenciais de plantas medicinais. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Os ensaios foram realizados em placas de Elisa mantidas em incubadora no Laboratório de Biologia do Solo e Ambiente do Departamento de Solos da UFSM, Santa Maria, RS. A avaliação do potencial nematicida dos óleos essenciais aplicados em plantas de arroz foi conduzida no Laboratório de Nematologia do Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (Embrapa-CPACT), Pelotas, RS, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com seis repetições.

Para os ensaios utilizou-se como inóculo uma população pura de *Meloidogyne graminicola* (Est. VS1) (CARNEIRO e ALMEIDA, 2001) obtida a partir do isolamento espécie-específico realizado em vasos com capacidade para 2,5 L de solo mantidos com plantas de arroz cultivar IRGA-420 na casa de vegetação do Departamento de Solos, UFSM, Santa Maria, RS. O inóculo do nematóide foi obtido pelo tritramento das raízes conforme técnica descrita por Hussey e Barker (1973), sendo as raízes coletadas dos vasos e lavadas em água corrente para retirada do solo aderido. Em seguida, as raízes foram cortadas em pedaços de 1 cm e colocadas em liquidificador, onde foram trituradas por 30 segundos em uma solução de hipoclorito de sódio 0,1%. Após este tempo, o material foi vertido em peneiras de 20 e 500 mesh e lavado com jatos de água destilada com auxílio de uma pisseta. O material retido na peneira de 500 mesh foi recolhido em um bequer de 100 mL.

Os óleos essenciais foram obtidos no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (Embrapa-CPACT). A extração dos óleos essenciais foi realizada através da técnica do “arraste por vapor d’água” das folhas frescas de *Lavandula angustifolia* (Alfazema), *Cymbopogon citratus* (Cidrão), *Eucalyptus globulus* (Eucalipto citriodora), *Mentha piperita* (Hortelã), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), *Matricaria chamomilla* (Camomila), *Ocimum basilicum*

(Manjeriçã), *Achyrocline satureioides* (Marcela), *Origanum vulgare* (Orégano) e *Foeniculum vulgare* (Funcho).

Inicialmente, as folhas frescas foram picadas, pesadas e divididas em lotes de 80 g cada, e posteriormente colocadas em balão de fundo redondo no aparelho de Clevenger modificado (SERAFINI e CASSEL, 2001) mantendo-se água destilada em ebulição dentro do balão com aquecedor externo. Os componentes vegetais extraídos pelo arraste em vapor d'água, após a passagem por um condensador tipo Liebig, foram coletados e mantidos em refrigeração a 4° C até o uso.

3.1 Avaliação do potencial de dez óleos essenciais de plantas bioativas na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. graminicola*

Para obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2), colocou-se o inóculo, previamente extraído, em funil de Baermann modificado (CHRISTIE e PERRY, 1951), sobre lenço de papel Kleemex fixado na posição mediana do funil, a fim de se obter os J2 eclodidos entre 24 e 36 horas após a extração.

Para a montagem do ensaio, os óleos essenciais obtidos foram solubilizados seguindo-se duas metodologias, sendo a primeira proposta por Lorimer et al. (1996), onde, inicialmente, os óleos foram misturados a dimetil sulfóxido (DMSO) na proporção de 1:1 (v/v). Ao óleo com DMSO, foi adicionada água destilada na proporção de 1:9 (v/v), para a obtenção da mistura óleo essencial – DMSO – água destilada. A seguir, a mistura foi dividida em duas partes, sendo uma parte preparada para utilização no teste de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2), e outra utilizada no teste de eclosão de ovos de *M. graminicola*.

Para o teste da mortalidade, 50 J2 de *M. graminicola* foram colocados em cada orifício da placa de ELISA em 20 µL de água destilada, adicionando-se 20 µL da mistura óleo essencial – DMSO – água destilada e 60 µL de tampão fosfato salino PBS (8,0 g de NaCl, 1,15 g de Na₂HPO₄.7H₂O, 0,2 g de KH₂PO₄ e 0,2 g de KCl) a pH 7,0. Os tratamentos testemunhas constaram de 50 J2 em 80 µL água destilada para a testemunha água e 50 J2 em DMSO 2% v/v em PBS (50 J2 em 20 µL de água destilada + 78 µL PBS + 2 µL DMSO) para testemunha DMSO.

Na segunda metodologia utilizada, os óleos foram solubilizados em etanol na proporção de 9:1 (v/v). Posteriormente, a mistura óleo – etanol foi misturada a Tween-20 0,3% em água destilada na proporção de 1:9 (v/v), resultando em uma concentração de 9% de óleo na mistura. Para mortalidade, 50 J2 de *M. graminicola* foram colocados em cada orifício da placa de Elisa em 20 µL de água destilada, adicionando-se 20 µL da mistura óleo essencial – etanol – Tween-20 0,3% e mais 20 µL de Tween-20 0,3% para obter concentração final do óleo.

Em seguida, as placas foram mantidas fechadas com filme plástico e colocadas em estufa a 26° C no escuro. Decorridas 24 e 48 horas de incubação, placas distintas foram avaliadas em microscópio estereoscópico, a fim de se determinar a percentagem de J2 mortos. No momento da avaliação, em cada orifício, foram adicionados 10 µL de NaOH 1N a 1%, adaptando-se a metodologia proposta por Chen e Dickson (2000), na qual foram caracterizados como mortos os J2 que permaneceram com o corpo completamente distendido durante 3 minutos após a adição de NaOH (Figura 3.1).

A percentagem de juvenis de segundo estágio mortos após exposição aos óleos essenciais foi transformada para raiz quadrada de $x+1,0$ e submetida à análise de variância e teste de médias de acordo com Scott e Knott (1974) pelo software SISVAR (FERREIRA, 2000).

3.2 Óleos essenciais de plantas bioativas na eclosão de ovos de *M. graminicola*

Para o teste da eclosão, 50 ovos de *M. graminicola* foram colocados em cada cavidade da placa de Elisa em 20 µL de água destilada, adicionando-se 20 µL da mistura óleo essencial – DMSO – água destilada e 60 µL de tampão fosfato salino PBS (8,0 g de NaCl, 1,15 g de Na₂HPO₄.7H₂O, 0,2 g de KH₂PO₄ e 0,2 g de KCl) a pH 7,0. As testemunhas constaram de 50 ovos em 80 µL água destilada para a testemunha água e 50 ovos em DMSO 2% v/v em PBS (50 ovos em 20 µL de água destilada + 78 µL PBS + 2 µL DMSO) para testemunha DMSO.

Em seguida, as placas foram mantidas fechadas com filme plástico e colocadas em estufa a 26° C, no escuro.

As avaliações foram realizadas em microscópio estereoscópico de três em três dias até completarem doze dias de incubação, a fim de se determinar a percentagem de eclosão dos ovos. Foi realizado o cálculo da área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE) relativa à percentagem de J2 de *M. graminicola* eclodidos durante o ensaio, empregando-se o programa AVACPD (TORRES e VENTURA, 1991). A percentagem de eclosão foi transformada para raiz quadrada de $x+1,0$ e submetida à análise de variância e teste de médias de acordo com Scott e Knott (1974) pelo software SISVAR (FERREIRA, 2000).

3.3 Potencial dos óleos essenciais de alfazema e cidrão no controle de *M. graminicola* em plantas de arroz irrigado

Plantas de arroz irrigado cultivar BR-IRGA-410, mantidas em copos plásticos com 700 mL de solo esterilizado, foram submetidas a 6 tratamentos com os óleos essenciais de alfazema e cidrão aplicados no solo e na parte aérea das plantas. Quarenta dias após a semeadura, os óleos essenciais foram dispersos em água com solução espalhante adesiva composta de abacate a 2% (20 g de abacate / 1 L de água p/v) batidos no liquidificador e peneirados (BOSENBECKER et al., 2003). Foram aplicados separadamente no solo (10 mL planta⁻¹) ou pulverizados na parte aérea das plantas na concentração de 500 ppm, sendo ambos os tratamentos repetidos a cada sete dias, durante 9 semanas. Plantas pulverizadas apenas com água foram utilizadas como testemunhas. Quarenta e oito horas após a primeira aplicação dos óleos, cada planta de arroz foi inoculada com uma suspensão de 5000 ovos + juvenis de segundo estágio de *M. graminicola*. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com seis repetições.

Após sessenta e cinco dias da inoculação, as raízes foram avaliadas quanto à massa fresca total, massa de raízes frescas, número de perfilhos, número de galhas, número de ovos e fator de reprodução (FR).

Os dados obtidos foram transformados para raiz quadrada de $x+0,1$ e submetidos à análise de variância e teste de médias de acordo com Tukey pelo software SISVAR (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito de óleos essenciais de plantas bioativas na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. graminicola*

Todos os óleos essenciais das plantas medicinais avaliadas neste trabalho apresentaram efeito nematicida significativo sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. graminicola* (Tabela 3.1), quando a solubilização foi realizada com DMSO.

Tabela 3.1 - Percentagem da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne graminicola* por óleos essenciais em 24 e 48 horas de incubação, utilizando-se dimetil sulfóxido (DMSO) como solubilizante. Média de quatro repetições. Santa Maria, 2007.

Espécie vegetal	Nome vulgar	Mortalidade de J2 (%)	
		24 h	48 h
<i>Lavandula angustifolia</i> Chay	Alfazema	99,16 a*	100 a*
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf	Cidrão	94,99 a	95,82 a
<i>Rosmarinus officinallis</i> L.	Alecrim	74,16 b	78,33 b
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Manjeriço	37,49 d	76,66 b
<i>Mentha piperita</i> L.	Hortelã	20,83 e	74,99 b
<i>Origanum vulgare</i> Mill	Orégano	60,83 c	68,33 c
<i>Matricaria chamomilla</i> Blanco	Camomila	30,83 d	63,33 c
<i>Eucalyptus globulus</i> Labil	Eucálio	21,66 e	34,16 d
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	Funcho	19,16 e	29,99 d
<i>Achyrocline satureioides</i> Lam.	Marcela	4,99 f	26,66 d
Testemunha DMSO		4,16 f	4,99 e
Testemunha água		0 g	1,66 e
CV (%)		6,13	5,05

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Verificou-se que os óleos essenciais de alfazema e cidrão, solubilizados com dimetil sulfoxido, causaram os maiores valores de mortalidade do nematóide alcançando, respectivamente, percentagens de 99,16% e 94,99% após 24 horas e 100% e 95,82% após 48 horas da exposição dos J2 aos referidos produtos (Tabela 3.1).

A alta toxicidade sobre os juvenis de *M. graminicola* nos tratamentos alfazema e cidrão pode ser devido à presença de substâncias bioativas presentes nestes óleos, pois segundo Serafini et al. (2001) e Simões et al., (2003), estes apresentam na sua constituição, compostos como o cineol, citral, geraniol e linalol, os quais possuem efeitos bactericida, inseticida e anti-séptico já comprovados.

De maneira geral, observou-se que após 24 horas de exposição dos J2 aos tratamentos, o percentual de mortalidade aumentou efetivamente apenas quando foram aplicados os óleos de manjerição, hortelã e camomila (Tabela 3.1). Este aumento no percentual de mortalidade entre as avaliações de 24 para 48 horas de exposição foi também observado por Abid et al. (1997), Ferriz e Zheng (1999) e Dias et al. (2000), em avaliações quanto ao efeito de extratos aquosos sobre *M. incognita*. Possivelmente, a maior ação dos óleos deve-se ao aumento do período de contato com o organismo ou à fragilização do nematóide devido à inanição durante o ensaio, o que pode ter alterado sua fisiologia, tornando-o mais vulnerável a agentes externos.

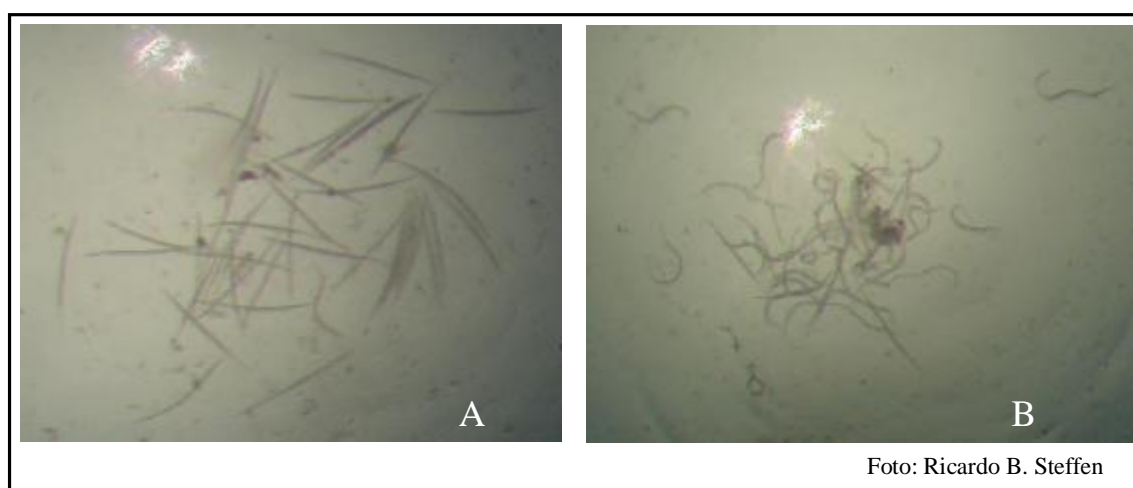


Foto: Ricardo B. Steffen

Figura 3.1 - Juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne graminicola* após 48 horas de exposição aos óleos essenciais de (A) capim cidrão (*Cymbopogon citratus*) e (B) funcho (*Foeniculum vulgare*). Santa Maria, 2007.

Observando-se os resultados obtidos no presente trabalho, evidencia-se a ocorrência de uma maior ação nematicida dos óleos sobre a espécie *M. graminicola* em estudo, em relação a *M. javanica*, *M. incognita* e *M. exigua* apresentadas pela literatura. Esta variação no percentual de mortalidade em diferentes espécies foi também observada por Oka et al. (2000) em estudo do efeito de óleos essenciais sobre nematóides de galhas, utilizando-se etanol como solubilizante. O referido autor encontrou resultados distintos para mortalidade quando foram utilizados J2 das espécies *M. javanica* e *M. incognita*.

Quando os óleos de cidrão e alfazema foram solubilizados em etanol, também foram efetivos no controle de *M. graminicola* (89%) em 24 horas após a exposição dos juvenis. Entretanto, o aumento do período de exposição dos juvenis aos diferentes óleos promoveu maiores índices de mortalidade para os óleos de orégano, manjerição e hortelã (Tabela 3.2) com uma variação de 84,83% a 91,93%.

Tabela 3.2 - Percentagem da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne graminicola* por óleos essenciais em 24 e 48 horas de incubação, utilizando-se etanol como solubilizante. Média de quatro repetições. Santa Maria, 2007.

Espécie Vegetal	Nome vulgar	Mortalidade de J2 (%)	
		24 h	48 h
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf	Cidrão	89,02 a *	98,20 a *
<i>Lavandula angustifolia</i> Chay	Alfazema	89,08 a	92,03 b
<i>Origanum vulgare</i> Mill	Orégano	74,26 c	91,93 b
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Manjerição	81,63 b	89,33 c
<i>Mentha piperita</i> L.	Hortelã	30,33 e	84,83 d
<i>Eucalyptus globulus</i> Labil	Eucalipto	76,20 c	84,79 d
<i>Rosmarinus officinallis</i> L.	Alecrim	75,82 c	77,69 e
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	Funcho	65,05 d	66,02 f
<i>Matricaria chamomilla</i> Blanco	Camomila	18,67 f	25,43 g
<i>Achyrocline satureioides</i> Lam.	Marcela	15,31 f	23,22 g
Testemunha etanol		2,83 g	3,00 h
Testemunha água		0 g	2,40 h
CV (%)		3,43	1,53

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Comparando-se os resultados de mortalidade obtidos com a solubilização dos óleos em DMSO (Tabela 3.1) com os dados referentes à solubilização com etanol (Tabela 3.2), verificou-se que houve apenas algumas diferenças quanto ao percentual de mortalidade e alteração da ordem dos tratamentos que obtiveram melhores respostas nos ensaios. Dessa forma, o uso de etanol promoveu um maior efeito nematicida nas primeiras 24 horas de exposição aos tratamentos, havendo, para a maioria dos tratamentos, pouca diferença em relação às duas leituras.

De acordo com Sukul et al. (1974), a utilização de etanol como solvente químico para obtenção do óleo extrai mais ingredientes ativos devido à sua alta polaridade. Nos experimentos onde foi utilizado o etanol como solubilizante, a ação nematicida máxima foi observada nas primeiras 24 horas de incubação dos J2 nos óleos, havendo um pequeno acréscimo na mortalidade dos mesmos após 48 horas de incubação. Este resultado pode estar relacionado à maior volatilização dos compostos ativos dos óleos essenciais devido ao uso do álcool na mistura. Outra característica observada quanto à utilização do etanol como solubilizante, foi a menor variação encontrada nos resultados nos dois períodos de avaliações.

Os resultados de mortalidade obtidos na concentração dos óleos essenciais utilizada neste trabalho (500 ppm), mostraram-se superiores aos valores relatados pela literatura, em trabalhos onde foram utilizadas outras espécies de *Meloidogyne* e concentrações dos óleos de duas a quatro vezes superiores (ABID et al., 1997; LOPES et al., 2005). Estes resultados sugerem uma maior sensibilidade do nematóide *M. graminicola* aos demais já referenciados pela literatura, pois, para seu controle, é necessário uma baixa concentração dos compostos ativos, não predispondo as plantas a estresses fisiológicos devido à fitotoxicidade que pode ser causada pelo uso destes óleos em altas concentrações (WALKER e MELIN, 1996).

Nos tratamentos onde foram utilizados os óleos essenciais de alecrim, manjerição e hortelã, verificou-se efeito nematicida de 78,33%, 76,66% e 74,99%, respectivamente, quando solubilizados com DMSO (Tabela 3.1). Já quando se utilizou o etanol como solubilizante, o óleo de alecrim manteve sua ação praticamente igual, havendo uma potencialização no efeito dos óleos de manjerição e hortelã, os quais tiveram efeito nematicida de 89,33% e 84,83%, respectivamente (Tabela 3.2).

Segundo Palevitch (1991) e Martins et al. (1994), o manjeriço apresenta no seu conjunto de princípios ativos os componentes chavicol, eugenol, estragol e timol, dos quais o efeito nematocida do eugenol já foi comprovado por Bala e Sukul (1987).

O maior efeito residual foi observado nos tratamentos onde foram utilizados os óleos de hortelã e camomila (solubilizante DMSO), nos quais a mortalidade aumentou de 20,83% e 30,83% após 24 horas da exposição para 74,99% e 63,33% após 48 horas da exposição, respectivamente. Bosenbecker (2006) avaliando o efeito do óleo essencial de hortelã sobre *M. javanica*, encontrou índices de mortalidade de 76,15% em relação à testemunha em água. Oka et al. (2000) observaram mortalidade de 78% dos J2 de *M. javanica*. Chaltee et al. (1982), Sangwan et al. (1990) e Oka et al. (2000) atribuem ao eugenol, componente ativo presente nos óleos essenciais de manjeriço e hortelã, o efeito nematocida sobre *M. incognita*, *M. exigua* e *M. javanica*.

Os tratamentos camomila e orégano apresentaram valores intermediários de mortalidade quando comparados aos demais tratamentos na avaliação em 48 horas de exposição. Embora, em 24 horas de exposição, o óleo de orégano tenha sido superior aos de hortelã e manjeriço, seu efeito após 48 horas foi inferior aos óleos citados (Tabela 3.1).

Os tratamentos eucalipto e funcho apresentaram o menor potencial nematocida entre os óleos testados (Tabela 3.1). Embora Bosenbecker (2006) tenha encontrado 90% de mortalidade de *M. javanica* utilizando o óleo de funcho como controle, no presente trabalho foram encontrados 19,16% e 29,99% de mortalidade em 24 e 48 horas de exposição, respectivamente. Oka et al. (2000) atribuíram a ação nematocida do óleo essencial de funcho sobre *M. javanica* aos compostos anetol e limoneno, presentes em maiores quantidades no óleo.

O óleo essencial de marcela não apresentou ação quanto à mortalidade de J2, sendo os valores obtidos significativamente iguais à testemunha DMSO (Tabela 3.1).

Embora os solubilizantes DMSO e etanol utilizados nos tratamentos tenham apresentado pequeno efeito negativo na sobrevivência dos nematóides, sua utilização não interferiu na avaliação quanto ao efeito dos óleos essenciais testados sobre o nematóide (Tabelas 3.1 e 3.2), devido à baixa percentagem de mortalidade observada nestes tratamentos.

Comparando-se as metodologias utilizadas nos ensaios de mortalidade de juvenis de *M. graminicola*, verificou-se que a metodologia onde foi utilizado o dimetil sulfoxido (DMSO) como solubilizante dos óleos foi mais prática no seu manejo, apresnetando ótimos resultados ao final dos ensaios.

Muito embora os óleos de hortelã, manjeriçã, orégano e eucalipto tenham causado valores altos de mortalidade, optou-se por selecionar os óleos de cidrão e alfazema, os quais mantiveram níveis de mortalidade acima de 85% para ambas metodologias utilizadas.

4.2 Efeito de óleos essenciais de plantas bioativas sobre a eclosão de ovos de *M. graminicola*

Analisando-se os dados de eclosão, verifica-se que embora os óleos essenciais analisados não tenham apresentado diferenças significativas quanto à ação nematostática sobre os ovos de *M. graminicola*, inibiram em média 55% a eclosão quando comparados às testemunhas (Tabela 3.3).

Os dados referentes à primeira avaliação demonstraram que os óleos essenciais de alecrim, orégano, marcela e alfazema foram os que apresentaram maior inibição da eclosão, com 100%, 96,27%, 97,62% e 97,51% de ovos eclodidos, respectivamente, três dias após a exposição dos ovos aos óleos. Apesar de estes mesmos óleos inibirem a eclosão de *M. graminicola* de 62,13% a 84,30% no final do período observado, não apresentaram diferenças significativas.

Oka et al. (2000) estudando o efeito de óleos essenciais sobre a eclosão de *M. javanica* e *M. incognita*, verificaram maior inibição para os óleos cidrão, funcho e hortelã e uma menor inibição para os óleos de manjeriçã, orégano e alecrim, quando comparados aos resultados obtidos no presente trabalho. Os autores atribuíram o efeito nematostático sobre a eclosão aos compostos carvacrol, carvona, geraniol e limoneno, substâncias estas presentes em maiores quantidades nos referidos óleos.

Tabela 3.3 - Percentagem de eclosão de ovos de *Meloidogyne graminicola* expostos à ação de óleos essenciais de plantas medicinais em 3, 6, 9 e 12 dias de incubação. Média de quatro repetições. Santa Maria, 2007.

Tratamento	Nome vulgar	Eclosão (%)				AACPE
		3 dias	6 dias	9 dias	12 dias	
<i>Origunum vulgare</i> Mill	Orégano	5,73 c	8,65 b	11,79 b	16,70 b	94,96 a
<i>Eucalyptus globulus</i> Labil	Eucalipto	8,48 b	13,89 b	18,44 b	24,21 b	146,02 a
<i>Mentha piperita</i> L.	Hortelã	10,94 b	21,40 b	23,60 b	24,25 b	187,78 b
<i>Achyrocline satureioides</i> Lam.	Marcela	2,38 c	5,43 b	20,11 b	32,63 b	129,13 a
<i>Rosmarinus officinallis</i> L.	Alecrim	0,00 c	5,50 b	20,24 b	32,87 b	126,52 a
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Manjericão	12,96 b	20,02 b	28,69 b	33,13 b	215,26 b
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf	Cidrão	12,40 b	21,07 b	31,99 b	33,51 b	228,04 b
<i>Matricaria chamomilla</i> Blanco	Camomila	13,97 b	22,56 b	29,84 b	33,86 b	228,94 b
<i>Lavandula angustifolia</i> Chay	Alfazema	2,49 c	11,35 b	25,75 b	37,87 b	171,84 b
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	Funcho	10,66 b	15,55 b	39,05 b	48,30 b	252,24 b
Testemunha DMSO		26,40 a	42,90 a	59,81 a	72,96 a	457,17 c
Testemunha água		29,28 a	45,41 a	60,06 a	74,02 a	471,36 c
CV (%)		29,87	25,04	21,85	19,77	25,86

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para os tratamentos com óleo de funcho e hortelã, os valores de redução da eclosão (Tabela 3.3) assemelharam-se aos obtidos por Bosenbecker (2006) em testes realizados com *M. javanica*.

Analisando-se os percentuais de eclosão no período total de exposição dos ovos na testemunha em água, foi verificado um aumento aproximado e constante de 15% na eclosão do terceiro ao último dia de avaliações (Tabela 3.3). Este padrão de eclosão pode ser observado para os óleos que apresentaram menor eficiência na inibição de eclosão aos 12 dias de exposição (eclosão > 30%), mas, para todos os tratamentos, o maior percentual de eclosão começa a ser evidente entre os 6 e 9 dias de exposição. Estes resultados corroboram com os apresentados por Salgado e Campos (2003) e Bosenbecker (2006).

Este comportamento deve-se, provavelmente, ao fato de os óleos essenciais serem compostos por substâncias instáveis na presença de luz ou calor e apresentarem volatilização dos compostos ativos presentes, sendo que, à medida

que diminuiu a concentração destes compostos na mistura, diminuiu também a ação inibitória destes sobre a eclosão.

Segundo Salgado e Campos (2003), alguns fatores podem influenciar nos resultados obtidos em testes de eclosão "in vitro", onde os mais comuns são a volatilização dos compostos presentes nas substâncias testadas o uso de ovos com células e embriões em diversos estádios de desenvolvimento. Segundo os autores, esta diferença no estágio de formação pode causar grande variação na eclosão ao longo do tempo.

O progresso da eclosão dos juvenis de segundo estágio ao longo do tempo pode ser melhor visualizado pela área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE), onde os óleos essenciais de orégano, eucalipto, marcela e alecrim proporcionaram menores valores para AACPE, o que refletiu em inibições significativamente maiores da eclosão de *M. graminicola*. Embora o óleo essencial de orégano tenha apresentado maior eficiência quanto a esse parâmetro, o referido óleo não foi um dos tratamentos que causaram as maiores taxas de mortalidade dos juvenis. Da mesma forma, os óleos de alfazema e cidrão, os quais apresentaram os maiores índices de mortalidade (Tabelas 3.1 e 3.2), não apresentaram a mesma resposta quanto à eclosão (Tabela 3.3). Portanto, os diferentes óleos podem estar agindo de forma diferente, dependendo da fase de vida na qual os ovos do nematóide se encontravam.

Analisando-se a interação dos resultados de mortalidade após 48 horas de exposição com a inibição de eclosão de *M. graminicola* causada pelos óleos essenciais testados ao final do 12º dia de exposição dos ovos, através da análise da distância Euclidiana, verificou-se a formação de três grupos quanto à eficiência no controle destes organismos (Figura 3.2).

Entre os óleos essenciais testados, os óleos de alfazema e cidrão constituem o grupo de maior eficiência no controle de *M. graminicola*, apresentando uma distância de 56% do grupo de eficiência mediana, formado pelos óleos de alecrim, manjerição, hortelã, orégano e camomila.

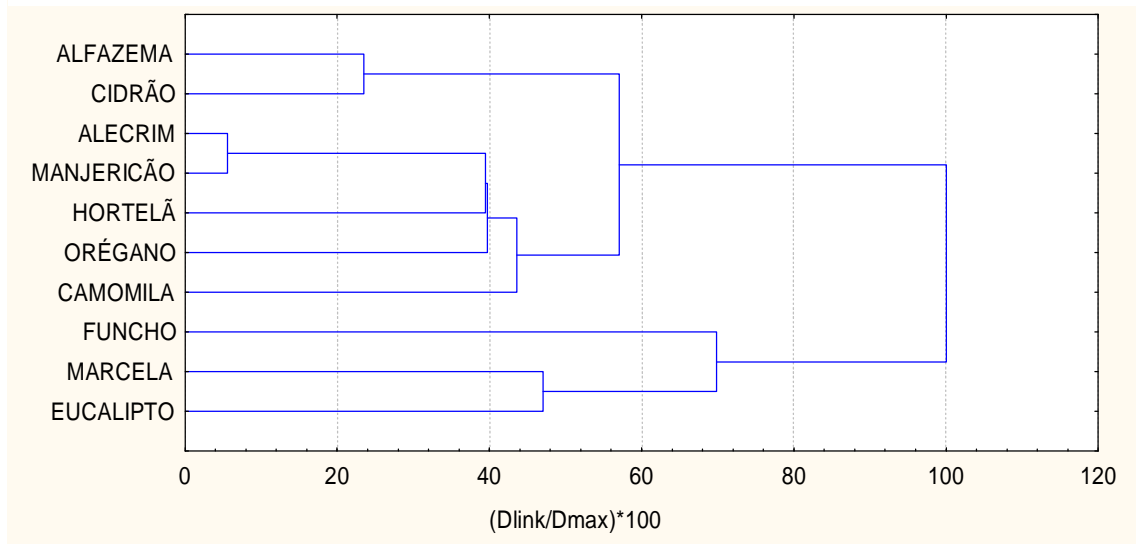


Figura 3.2 - Diagrama da distância Euclidiana formado da interação entre os resultados da mortalidade de J2 e inibição da eclosão de ovos de *Meloidogyne graminicola* causados pela ação dos óleos essenciais testados nos ensaios. Santa Maria, 2007.

Devido ao fato de que no final das avaliações não houve diferença significativa entre os óleos analisados, optou-se por realizar os testes “In vivo” utilizando-se os óleos essenciais que apresentaram os melhores resultados nos ensaios de mortalidade.

4.3 Avaliação do potencial dos óleos essenciais de alfazema e cidrão no controle de *M. graminicola* em plantas de arroz irrigado

De acordo com os dados obtidos neste trabalho, observou-se que todos os óleos essenciais testados proporcionaram redução significativa no número de galhas, ovos e, conseqüentemente, no fator de reprodução de *M. graminicola* (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 - Número de perfilhos, matéria de planta fresca, número de galhas, número de ovos e fator de reprodução de *Meloidogyne graminicola* em plantas de arroz irrigado cultivar BR-IRGA-410 tratadas com óleos essenciais de alfazema e cidrão. Média de seis repetições. Santa Maria, 2007.

Tratamento	Altura da planta (cm)	Perfilhos (Nº)	Matéria fresca (g)		Galhas (Nº)	Ovos (Nº)	FR
			Planta	Raíz			
Cidrão (parte aérea)	55,55 a*	7 a	11,24 a	3,32 a	37 a	6 866 a	1,37 a
Cidrão (solo)	55,06 a	8 a	15,41 a	5,52 a	72 a	7 991 a	1,59 a
Alfazema (parte aérea)	57,33 a	9 a	15,50 a	5,65 a	72 a	11 291 a	2,25 a
Alfazema (solo)	52,98 a	8 a	11,41 a	4,18 a	44 a	6 083 a	1,21 a
Sem aplicação de óleo	58,35 a	10 a	18,38 a	7,00 b	169 b	25 141 b	5,02 b
CV (%)	3,49	15,45	15,61	18,10	23,51	21,23	17,08

* Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Todos os óleos testados mostraram-se efetivos no controle do nematóide, obtendo, significativamente, menor número de ovos nas raízes e, por conseqüência, menor fator de reprodução quando comparados com o tratamento onde não foram aplicados os óleos essenciais (Tabela 3.4). Estes resultados, juntamente com os obtidos no item 4.1, comprovam o potencial nematicida destes produtos.

Não foi observada interação significativa entre os óleos testados e o modo de aplicação destes produtos. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas, os óleos de alfazema aplicado via solo e cidrão via parte aérea das plantas proporcionaram uma redução de 74% a 72% no número de ovos do nematóide respectivamente. A ação nematicida destes óleos pode estar relacionada à presença de substâncias bioativas como o cineol, citral, geraniol e linalol, as quais apresentam efeitos bactericida e inseticida comprovados (SERAFINI et al., 2001; SIMÕES et al., 2003).

Provavelmente, a pulverização de ambos os óleos pode ter induzido resistência nas plantas de arroz a *M. graminicola*, conforme o menor valor no número de galhas, ovos e no fator de reprodução observados.

A redução do número de galhas, ovos e, conseqüentemente, do fator de reprodução do nematóide pode ter ocorrido pelo contato direto dos óleos essenciais ao solo, o que proporcionaria uma ação direta sobre estes organismos. Já, os óleos aplicados via parte aérea das plantas podem ter induzido alguma forma de resistência ou mecanismo de defesa das plantas de arroz ao nematóide, sejam estas por modificações enzimáticas na planta, seja por alterações fisiológicas ocorridas nas raízes. De acordo com Lopes et al. (2001), os compostos aplicados nas plantas podem ser liberados via exsudação das raízes, atuando contra os nematóides. Bosenbecker (2006) em estudos quanto à ação de óleos essenciais aplicados em plantas de batata, verificou que o óleo de funcho aplicado na parte aérea das plantas proporcionou uma redução de 85% na população final de *M. javanica*. Roy et al. (1993) analisando o efeito da pulverização de *Acacia auriculiformis* (A. Cunn) em plantas de tomateiro, observaram que a aplicação via foliar apresentou uma maior inibição na formação de galhas.

Analisando-se os dados da matéria fresca das raízes (Tabela 3.4) verificou-se menor peso no sistema radicular das plantas de arroz, quando submetidas aos tratamentos com ambos os óleos em relação ao tratamento sem a aplicação dos óleos.

Salgado e Campos (2003), estudando o efeito dos extratos vegetais de urucum, santa-bárbara, cravo-da-índia e canela em casca pulverizados na parte aérea de cafeeiros, verificaram que a utilização destes compostos promoveu uma menor altura das plantas em relação ao tratamento sem a aplicação dos óleos. Os autores atribuíram este menor desenvolvimento das plantas ao somatório dos estresses resultantes da inoculação de nematóides e da aplicação dos extratos com substâncias supostamente de efeito alelopático. Entretanto, neste trabalho não foram observadas reduções da parte aérea e do número de perfilhos entre os tratamentos onde foram aplicados os óleos essenciais e sem a aplicação.

Considerando-se os resultados obtidos nos testes “in vitro” e “in vivo” quanto ao uso de óleos essenciais no controle de *M. graminicola* em arroz irrigado, verifica-se grande efeito potencial no manejo integrado desta praga em pequenas áreas orizícolas. Entretanto, são necessários estudos adicionais para validar o uso destes produtos, visando uma agricultura sustentável, evitando os efeitos deletérios ao homem e ao ambiente provocados pelo uso de agroquímicos.

5 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de alfazema, cidrão e alecrim foram os mais eficientes quanto ao efeito nematicida sobre *Meloidogyne graminicola* e sobre os ovos do nematóide “in vitro”;

Os óleos essenciais de alfazema e cidrão reduziram a reprodução de *Meloidogyne graminicola* nas raízes das plantas tratadas, quando aplicado diretamente no solo ou pulverizado na parte aérea das plantas;

O uso de etanol como solubilizante dos óleos essenciais potencializou seu efeito nas primeiras horas de incubação para mortalidade de juvenis de segundo estágio.

A utilização do dimetil sulfoxido como solubilizante dos óleos proporcionou os melhores resultados na seleção “in vitro” do que o etanol.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABID, M. et al. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Mediterrânea**, v. 25, p. 155-157, 1997.

BALA, S. K.; SUKUL, N. C. Systemic nematicidal effect of eugenol. **Nematropica**, v. 17, n. 2, p. 219-222, 1987.

BARCELOS, F. F. et al. Atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna aterrima* e *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 20., Gramado. **Resumos...**, Gramado, 1997. p.64.

BOLAND, D. J.; BROPHY, J. J.; HOUSE, A. P. N. **Eucalyptus leaf oils**: uso, chemistry, distillation and marketing. Melbourne: Inkata, 1991. p.11-28.

BOSENBECKER, V. K.; GOMES, C. B.; GOMES, J. C. C. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *Phytophthora infestans* em batata. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 5., SEMINÁRIO ESTADUAL SOBRE AGROECOLOGIA, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2003. 1 CD-ROM.

BOSENBECKER, V. K. **Efeitos de óleos essenciais de plantas bioativas no controle de *Phytophthora infestans* e *Meloidogyne javanica* em batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2006, 65f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

BRIDGE, J.; LUC, M.; PLOWRIGTH, R. A. Nematode parasites of rice. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. St. Albans, C.A.B. International, Institute of Parasitology, 1990. p.69-107.

BRIDGE, J.; PAGE, S. L. J. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. *Indica*). **Revue Nematologie**. v. 5, n. 2, p. 225-232, 1982.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. 279p.

CARNEIRO, R. M. D.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

CHATTERJEE, A. et al. Nematicidal principles from species of lamiaceae. **Journal of Nematology**, v. 14, n. 1, p. 118-120, 1982.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, p. 117-121, 2000.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Revue Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.

CHRISTIE, J. R.; PERRY, V. G. Removing nematodes from soil. **Proceedings of Helminthological Society of Washington**, v. 18, p. 106-108, 1951.

COSTA, M. J. N. et al. Patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incógnita* em tomatesiros (*Lycopersicon esculentum*) com aplicação de filtrados fúngicos ou extratos de plantas e de esterco de animais. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 219-226, 2000.

DIAS, C. et al. Efeito de frações de esterco bovino na eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 23, p. 34-39, 1999.

DIAS, C. R. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 203-210, 2000.

DECKER, H. **Plant nematodes and their control**. Phytonematology. New Delhi Amerind Publishing, 1981, 540p.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 3, p. 241-263, 1999.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 84p.

FERREIRA, D. F. **Sistemas de análise estatística para dados balanceados**. Lavras:UFLA/DEX/SISVAR, 2000. 145p.

HAMMERSCHMIDT, R.; DANN, E. K. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N. A.; RECHCIGL, J. E. **Environmentally safe approaches to crop disease control**. Boca Raton: CRC-Lewis Publishers, 1997. p.177-199.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, n. 12. 1973.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.

LEELA, N. K. et al. Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v. 20, p. 57-58, 1992.

LOPES, E. A. et al. Efeito dos extratos aquosos de *Mucuna preta* e de *Manjeriço* sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-74, 2005.

LORIMER, S. D. et al. A nematode larval motility inhibition assay for screening plant extracts and natural products. **Journal of Agricultural of the Food Chemistry**, v. 44, p. 2842-2845, 1996.

LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. London: CAB International, 1990. 629p.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1994. 220p.

MOYNA, P.; DELLACASA, E.; MENÉNDEZ, P. Técnicas analíticas aplicadas aos óleos essenciais. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002, 433p.

OKA, Y. et al. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Nematology**, v. 90, n. 7, p. 710-715, 2000.

OKA, Y. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, v. 3, n. 2, p. 159-164, 2001.

PADGHAM, J. L. et al. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 1, p. 42-48, 2004.

PALEVITCH, D. Agronomy applied to medicinal plant conservation. In: AKERELE, O., HEYWOOD, V., SYNGE, H. **Conservation of medicinal plants**. New York. Cambridge University Press, 1991. p.167-178.

QUARLES, W. Botanical pesticides from *Chenopodium*. **IPM Practitioner**, v. 14, n. 2, p. 1 – 11, 1992.

KRISHNA-PRASAD, K. S.; RAO, Y. S. Effect of few systemic pesticides as soil treatments on the growth and development of *Meloidogyne graminicola* in rice roots. **Indian Journal of Nematology**. v. 12, p. 14-21, 1982.

KHURMA, U. R.; SINGH, A. Nematicidal potential of seed extracts: in vitro effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterranea**, v. 25, p. 49-54, 1997.

ROCHA, F. S.; CAMPOS, V. P. Efeito de exsudatos de cultura de células de plantas em juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 294-299, 2004.

ROY, D. et al. Nematicidal principle from the funicle of *Acacia auriculiformis*. **Indian Journal of Nematology**, v. 23, p. 152-157, 1993.

SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V. P. Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro e de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 41-48, 2003.

SALGADO, S. M. L. et al. e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* em óleos essenciais. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 17-22, 2003.

SANGWAN, N. K. et al. Nematicidal activity of some essential oils. **Pesticide Science**, v. 28, p. 331-335, 1990.

SASANELLI, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *xiphinema index*. **Nematologia Mediterranea**, v. 20, p. 53-55, 1992.

SANO, Z. L.; NAKASONO, K. Histological responses of three leguminous enemy plants to the penetration and development of *Meloidogyne incognita*. **Japanese Journal of Nematology**, v. 16, n. 12, p. 48-55, 1986.

SHARMA, S. B. et al. Plant-parasitic nematodes associated with rice and wheat-based cropping systems in Nepal. **International Journal of Nematology**, v. 11, p. 35-38. 2001.

SCHAWN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. Mesa Redonda do XXXVI Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Uberlândia: **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 554-556, 2003.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, 1974.

SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agroindústria, 2001. p.333-377.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 463p.

SILVA, R. A. **Avaliação de extratos vegetais na inibição “in vitro” de fungos fitopatogênicos**. 2000. 44p. (Mestrado em Agroquímica e Agroindústria), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

SILVA, G. S. Da; FERRAZ, S. E.; SANTOS, J. M. dos. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria* spp. **Nematologia Brasileira**, v. 13, p. 151-163, 1989.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. UFRGS; Ed. UFSC, 2003. 1102p.

SINGH, G. et al. Studies on essential oils. Part 35: Chemical and biocidal investigations on *Tagetes erecta* leaf volatile oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 62-65, 2003.

SPERANDIO, C. A.; AMARAL, A. S. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* causador da falsa bicheira do arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Lavoura Arrozeira**, v. 47, n. 413, p. 3-5, 1994.

SUKUL, N. C.; DAS, P. K., DE, G. C. Nematicidal action of some edible crops. **Nematologica**, v. 20, p. 187-191, 1974.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre:Artmed, 2004. 719p.

TORRES, J. C.; VENTURA, J. A. AVACPD: um programa para calcular a área e volume abaixo da curva de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira**. v. 16, n. 52, 1991.

ZAMBOLIM, L. et al. Agro-waste soil amendments for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 250-253, 1996.

WALKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 4, p. 629-635, 1996.

WHITEHEAD, A. G. **Plant nematode control**. Wallingord: CAB International, 1997. 384p.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos nas condições em que foram realizados estes experimentos, foi possível estabelecer quatro pontos importantes quanto ao fitoparasitismo de *Meloidogyne graminicola* em plantas de arroz irrigado:

- este organismo está presente em algumas lavouras orizícolas da região central do Estado do Rio Grande do Sul;
- por alguma forma de seleção interespecífica ou de disseminação, *M. graminicola* foi o único nematóide do gênero *Meloidogyne* a ser encontrado fitoparasitando plantas de arroz irrigado na região;
- dentre os cultivares recomendados para o Estado, não há resistência ao organismo, sendo encontrada apenas uma tendência de menor susceptibilidade por alguns materiais;
- a utilização de óleos essenciais de plantas bioativas pode ser uma alternativa eficiente no controle do nematóide.

Assim, os resultados acima permitem fazer algumas sugestões à continuidade do trabalho como:

- Conscientização dos agricultores e técnicos responsáveis pela assistência destas áreas, dos danos e perdas econômicas gerados por este nematóide;
- Levantamento de todas as espécies de nematóides que ocorrem nas áreas cultivadas com arroz irrigado no Estado;
- Desenvolvimento de cultivares resistentes ao ataque de *Meloidogyne graminicola*;
- Viabilização da aplicação dos óleos essenciais para o controle do nematóide a campo.