

WÂNIA DOS SANTOS NEVES

USO DE RESÍDUOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DOS NEMATÓIDES DAS
GALHAS *Meloidogyne javanica* (Treub) E *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White)

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Fitopatologia, para
obtenção do título de *Doctor
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

N518u
2007

Neves, Wânia dos Santos, 1973-

Uso de resíduos vegetais para o controle de nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* (Treub) e *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) / Wânia dos Santos Neves. – Viçosa, MG, 2007.

ix, 77f. : il.(algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Leandro Grassi de Freitas.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Nematóide-das-galhas - Controle. 2. *Meloidogyne javanica*. 3. *Meloidogyne incognita*. 4. Resíduos agrícolas. 5. Brassica. 6. Mamão - Semente. 7. Rizobactérias. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 632.6257

WÂNIA DOS SANTOS NEVES

USO DE RESÍDUOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DOS NEMATÓIDES DAS
GALHAS *Meloidogyne javanica* (Treub) E *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White)

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Fitopatologia, para
obtenção do título de *Doctor
Scientiae*.

APROVADA: 14 de março 2007

Prof. Silamar Ferraz
(Co-orientador)

Prof. Maurício Dutra Costa
(Co-orientador)

Prof. Onkar Dev Dhingra

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior

Prof. Leandro Grassi de Freitas
(Orientador)

Aos meus pais, Argemiro e Teresinha, minha base de apoio.

Ao meu filho Lucas, meu amor.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me concedeu a vida e a sabedoria, me ajudando a vencer mais uma etapa da minha vida profissional, me dando força e iluminando meus caminhos em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis.

Aos meus pais, por tudo que fizeram e continuam fazendo por mim não medindo esforços para que eu chegasse até aqui.

Ao meu filho, Lucas, por suportar minha ausência e muitas vezes a minha falta de paciência.

Aos meus irmãos.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade que me deram de realizar o Curso de Doutorado.

Ao Prof. Leandro Grassi de Freitas, pela orientação e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Prof. Silamar Ferraz, pelos ensinamentos transmitidos, pela colaboração, críticas, sugestões e pela amizade.

Ao Prof. Maurício Dutra Costa, pelos ensinamentos transmitidos, colaboração e compreensão.

Ao CNPq, pela bolsa concedida durante o curso.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia.

Aos colegas e amigos do laboratório de Nematologia/BIOAGRO Cléia, Fábio, Everaldo, Deisy, Guilherme, Janaína, Larissa, Marcelo, Márcio, Paulinho, Ronaldo, Rosângela, Sílvia e Vanessa pelas brincadeiras, pelo convívio, apoio, ajuda e amizade.

Aos amigos e colegas do departamento de Fitopatologia, em especial ao Aderlan e ao Ricardo Brainer, pela amizade.

Á todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o meu sucesso.

BIOGRAFIA

Wânia dos Santos Neves é filha de Argemiro da Costa Neves e Teresinha dos Santos, nascida em Barbacena, MG.

Em agosto de 1999, concluiu o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Em 2003, concluiu o Programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Controle Alternativo de Fitonematóides.

Nesse mesmo ano, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de Doutorado, em Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, com ênfase em Nematologia, submetendo-se à defesa de tese em março de 2007.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	01
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	04

CAPÍTULO 1

BIOFUMIGAÇÃO DO SOLO COM ESPÉCIES DE BRÁSSICAS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*.

RESUMO	06
SUMMARY	07
INTRODUÇÃO	08
MATERIAL E MÉTODOS	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

CAPÍTULO 2

EFEITO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE SOLO BIOFUMIGADO COM RESÍDUOS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE BRÁSSICAS SOBRE *Meloidogyne javanica*.

RESUMO	20
SUMMARY.....	21
INTRODUÇÃO	22
MATERIAL E MÉTODOS	23

RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

CAPÍTULO 3

EFEITO DE EXTRATO DE SEMENTES DE MAMÃO SOBRE A ECLOSÃO E INATIVAÇÃO DE JUVENIS DE *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*.

RESUMO	38
SUMMARY.....	39
CONTEÚDO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

CAPÍTULO 4

USO DE FARINHA DE SEMENTE DE MAMÃO PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*.

RESUMO	47
SUMMARY.....	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	50
RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

CAPÍTULO 5

INCORPORAÇÃO DE FARINHA DE SEMENTE DE MAMÃO AO SOLO, EM DIFERENTES DOSES, PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*.

RESUMO	62
SUMMARY	63
INTRODUÇÃO	64
MATERIAL E MÉTODOS	64
RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

CONCLUSÕES GERAIS	77
--------------------------------	-----------

RESUMO

NEVES, Wânia dos Santos, D.S. Universidade Federal de Viçosa, março de 2007. **Uso de resíduos vegetais para o controle dos nematóides das galhas *Meloidogyne javanica* (Treub) e *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White).** Orientador: Leandro Grassi de Freitas. Co-Orientadores: Silamar Ferraz e Maurício Dutra Costa.

Os nematóides das galhas, gênero *Meloidogyne*, são considerados os de maior importância agrícola, pois parasitam mais de 2000 espécies de plantas, causando perdas significativas. O controle desses nematóides é muito difícil devido à escassez de cultivares resistentes, dificuldade da adoção de rotação de culturas e às restrições ao uso de nematicidas químicos devido aos efeitos nocivos ao meio ambiente que seu uso acarreta. Por essas razões, métodos alternativos de controle têm sido amplamente estudados. A solarização do solo, que é o seu aquecimento através da cobertura com lona plástica transparente controla patógenos do solo e plantas daninhas diretamente pelas altas temperaturas, mas também por induzir processos microbianos que promovem a supressividade do solo. Esse método tem se mostrado mais eficiente quando combinado à incorporação de certos materiais orgânicos, resultando num processo conhecido como biofumigação, que consiste na produção e aprisionamento de gases tóxicos durante a decomposição da matéria orgânica. Formas do gás isotiocianato são tóxicos para fitopatógenos de solo e são gerados pela hidrólise de glucosinolatos presentes em plantas da família das brássicas e em sementes e folhas do mamoeiro (*Carica papaya*). Além da ação nematicida dos gases produzidos durante a biofumigação, a incorporação de materiais orgânicos melhora as características físico-

químicas do solo e aumenta a diversidade da microbiota. Portanto a biofumigação pode gerar aumento de bactérias que podem atuar no controle de fitonematóides. Dessa forma, o objetivo geral desse trabalho foi avaliar os efeitos diretos e indiretos da incorporação de resíduos vegetais ao solo, sobre os nematóides das galhas *M. javanica* e *M. incognita*. Os tratamentos de biofumigação com couve-flor, brócolis e mostarda reduziram o número de galhas por sistema radicular em 61,3, 60,8 e 46,8%, respectivamente, em relação à testemunha (pousio). Todos os tratamentos diferiram da testemunha no número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular e o peso da parte aérea das plantas foi superior em todos os tratamentos em que o solo foi incorporado com matéria orgânica. Foi avaliado o potencial de controle biológico de isolados bacterianos obtidos a partir de solo biofumigado com resíduos de brássicas. Da seleção massal de 59 isolados, 19 reduziram o número de massas de ovos por sistema radicular em mais de 50% ($P \leq 0,05$). Entre os 19 isolados, seis se destacaram e reduziram o número de massas de ovos em 63%, 65%, 73%, 77%, 78% e 93% em relação à testemunha. Na reavaliação dos isolados bacterianos em container maior e com maior pressão de inóculo, os isolados não reduziram o número de galhas e de ovos de *M. javanica* e não induziram o desenvolvimento da planta. Em experimento *in vitro*, os isolados não reduziram significativamente a eclosão de juvenis de *M. javanica* em comparação com o tratamento testemunha (água). Extrato de semente de mamão, quando avaliado *in vitro*, resultou na redução da eclosão de *M. javanica* em 95,3% e de *M. incognita* em 99,3%, em relação à testemunha, e em 100% de morte de juvenis de ambos os nematóides. A incorporação de farinha de semente de mamão ao solo resultou em até 100% de controle no que se refere ao número de galhas e de ovos por sistema radicular para *M. javanica* e *M. incognita*. A altura e o peso da parte aérea das plantas, bem como o peso radicular, foram superiores nas plantas cultivadas em solo tratado com farinha de semente de mamão.

ABSTRACT

NEVES, Wânia dos Santos, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, March of 2007. **Use of plant residues for the control of the root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* (Treub) e *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White).** Adviser: Leandro Grassi de Freitas. Co-Advisers: Silamar Ferraz and Maurício Dutra Costa.

The root-knot nematodes, *Meloidogyne* genus, are considered the most important ones in the agriculture, as they parasitize more than 2,000 plant species, causing significant losses. The control of these nematodes is complicated by the lack of resistant cultivars, difficulty of adoption of crop-rotation practices and to the restrictions to the use of chemical nematicides due to hazardous effects to the environment they cause. For these reasons, alternative control methods have been widely studied. The soil solarization, which is heating the soil by covering it with transparent plastic sheet during the summer, controls soil pathogens and weeds directly by the high temperatures, but also by the induction of microbial processes that turn the soil suppressive. This method has shown to be more effective when combined with soil amendment with certain plant residues, resulting in the production and trapping of toxic gases during the organic material decomposition, process known as biofumigation. Forms of the isothiocyanate gas are toxic to soilborne plant pathogens and are generated by the hydrolysis of glucosinolates present in plants of the Brassicaceae family and in seeds and leaves of the papaya plant (*Carica papaya*). Besides the nematicidal effect of the toxic gases, the soil amendment with organic materials improve the chemical-physical characteristics of the

soil and the microbial diversity, favoring the biocontrol. Therefore, the biofumigation may induce the development of bacteria that may act controlling the nematodes. For this reason, the general objective of this work was to evaluate the direct and indirect effects of the soil amendment with plant residues, on the control of the root-knot nematodes *M. javanica* and *M. incognita*. The biofumigation with cauliflower, broccolis and mustard reduced the number of galls per root-system in 61.3, 60.8 and 46.8%, respectively, in relation to the control treatment (fallow). All treatments reduced the number of *M. javanica* eggs per root-system and increased the shoot weight when compared to the control treatment ($P \leq 0.05$). The biocontrol potential of bacteria isolated from soils amended with brassica residues was evaluated. From the massal screening of 59 isolates, 19 reduced the number of egg masses per root system in more than 50% ($P \leq 0.05$). In the re-evaluation of the isolates in larger containers and under larger inoculum pressure, the isolates did not reduce the number of galls and eggs of *M. javanica* or induced the plant development. The isolates did not reduce significantly the *M. javanica* egg-hatching in an *in vitro* experiment. Extract of papaya seeds, when evaluated *in vitro*, reduced the egg-hatching of *M. javanica* in 95.3% and of *M. incognita* in 99.3%, in relation to the control treatment, and in 100% of death of the juveniles of both nematodes. The incorporation of dry and ground papaya seeds into the soil resulted in up to 100% control as for number of galls and eggs per root-system, for both *M. javanica* and *M. incognita*. The height and weight of the shoots as well as the root-system weight were superior in the plants grown in soils amended with the papaya seeds.

INTRODUÇÃO GERAL

Os nematóides das galhas, gênero *Meloidogyne*, são considerados os mais importantes na agricultura, pois parasitam mais de 2000 espécies de plantas, sejam monocotiledôneas ou dicotiledôneas, herbáceas ou lenhosas (Sasser & Frekman, 1987). Esses nematóides induzem a formação de células gigantes na região vascular da raiz, reduzindo a quantidade de água e de minerais translocados do solo para a planta (Zimmerman & McDonough, 1978). Como consequência, a planta passa a apresentar deficiência nutricional, murcha acentuada durante o período mais quente do dia, redução do crescimento das plantas, diminuição na área foliar e baixa produtividade (Gonçalves *et al.*, 1995). Só na cultura do tomate, as perdas chegam a 18 milhões de toneladas por ano (Sasser, 1989). Os sintomas mais característicos causados por esses nematóides aparecem nas raízes e tubérculos que, quando infectados, engrossam e formam as galhas típicas.

A introdução desses nematóides em áreas não infestadas deve ser sempre evitada devido à complexidade do manejo de áreas onde eles ocorrem. Em solos já infestados, a utilização da resistência genética é a medida mais desejável, porém limitada pela escassez de cultivares resistentes e pela quebra de resistência à *M. incognita* em temperaturas de solo superiores à 28° C (Dropkin, 1969), o que frequentemente acontece em clima tropical. A rotação com culturas comerciais, como estratégia de controle do nematóide das galhas, é muito difícil devido à ampla gama de hospedeiros que as principais espécies de *Meloidogyne* apresentam. O controle químico propicia proteção temporária, após a qual a população do nematóide pode voltar a atingir altos níveis. Além disso, a partir da década de 80, vários nematicidas foram retirados do mercado

devido à persistência no solo, à contaminação da água de lençóis freáticos e aos efeitos prejudiciais aos seres humanos e à fauna do planeta (Jatala, 1985).

Por estas razões, existe grande interesse por métodos alternativos de controle que sejam baratos, eficientes e ecologicamente aceitáveis. Alguns desses métodos são a solarização do solo, a incorporação de matéria orgânica, a biofumigação e o controle biológico. A solarização, que consiste no aquecimento do solo através de sua cobertura com plástico transparente durante o verão, além de matar nematóides pelo calor, induz processos microbianos que promovem a supressividade do solo (Katan & De Vay, 1991). A solarização tem se mostrado mais eficiente quando combinada à biofumigação, que consiste na produção de gases tóxicos durante a decomposição de certos materiais orgânicos (Stapleton & De Van, 1995), a exemplo do gás isotiocianato e seus derivados. O alil-isotiocianato, extraído de folhas de mostarda, proporcionou 100% de controle de *Meloidogyne javanica* em experimentos casa de vegetação (Neves, 2003). Sementes de mamão (*Carica papaya* L.) contêm glucosinolatos que dão origem ao benzil-isotiocianato (Dar et al, 1965; Kermanshai *et al.*, 2001), com comprovada ação anti-helmíntica, sendo ministradas como vermífugo na medicina popular (Roig & Mesa, 1974; Lal *et al.*, 1976; Werner, 1992). O efeito anti-helmíntico da semente de mamão tem sido comprovado cientificamente em testes *in vitro* e em animais infectados (Krishnakumari e Majumder, 1960; Dar *et al.*, 1965; Lal *et al.*, 1976), razão que justifica pesquisas envolvendo seu uso contra fitonematóides no solo.

Além da ação nematicida dos gases produzidos durante a decomposição de certos resíduos vegetais, a incorporação de materiais orgânicos pode melhorar as características físico-químicas do solo e aumentar a diversidade da microbiota, também favorecendo o controle biológico de doenças de plantas (Hoitink & Fahy, 1986). Stevens *et al.* (2003) relataram aumento significativo de bactérias de espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas* fluorescentes na rizosfera, rizoplano e no interior de tecidos radiculares de tomateiro e batata doce, cultivados em solo solarizado, quando comparado com solo não solarizado. Essas bactérias geralmente estão associadas às raízes de plantas e são conhecidas na literatura como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitonematóides, a exemplos dos gêneros *Azobacter*, *Azospirillum* e *Acetobacter* (Brown, 1974; Elmerich, 1984; Kloepper *et al.*, 1988; Glick, 1995). Além dos efeitos diretos de produção de toxinas e antibióticos, as rizobactérias, são capazes de ativar mecanismos de defesa das plantas através da indução de resistência sistêmica (Oostendorp & Sikora, 1990). O uso dessas bactérias pode ser de grande importância para o controle de

fitonematóides, uma vez que são, geralmente, inócuas ao homem, não causam impacto ambiental e oferecem maior segurança para aplicadores e consumidores.

Assim, os objetivos específicos desse trabalho foram: avaliar o efeito da biofumigação com diferentes espécies de brássicas no controle de *M. javanica*; avaliar *in vitro* o efeito de extrato de sementes de mamão sobre a eclosão e inativação de juvenis de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*; avaliar o efeito da incorporação da semente de mamão seca e moída ao solo, com e sem e cobertura com filme plástico transparente, para o controle dos nematóides *M. incognita* e *M. javanica* em casa de vegetação; avaliar o efeito da incorporação da semente seca e moída de mamão ao solo, em diferentes concentrações, sobre *Meloidogyne javanica* em casa de vegetação; selecionar bactérias do solo biofumigado com espécies de brássicas que apresentem potencial para controle biológico de nematóides pelo tratamento de sementes e de solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWN, M.E. 1974. Seed and root bacterization. *Annual Review of Phytopathology*, 12:181-197.
- DAR, R.N.; GARG, L.C.; PATHAK, R.D. 1965. Anthelmintic activity of *Caryca papaya* seeds. *Indian Journal of Pharmacy*, 27: 335-336.
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology* , 59: 1632-1639.
- ELMERICH, C. 1984. Molecular biology and ecology of diazotrophs associated with non-leguminous plants. *Bio/Technology*, 2: 967-978.
- GLICK, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41:109-117.
- GONÇALVES, W.; MAZZAFERA P.; FERRAZ, L.C.C.B.; SILVAROLLA, M.B. & LIMA, M.M.A. 1995. Biochemical basis of coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita*. *Plantation Recherche Development*, 2: 54-60.
- HOITINK, H.A.J. & FAHY, P.C. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Annual Review Phytopathology*, 24: 93-114.
- JATALA, P. Biological control of nematodes. 1985. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C., ed. *An advanced treatise on Meloidogyne. Biology and control*. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1:303-308.
- KATAN, J. & DeVAY. 1991. *Soil solarization*. Boca Raton: CRC Press, 267p.
- KERMANSZAI, R.; MCCARRY, B.E.; ROSENFELD, J.; SUMMERS, P.S.; WERETILNYK , E.A. & SORGER, G.J. 2001. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. *Phytochemistry*, 57: 427-435.
- KLOEPPER, J.W.; R. LIFSHITZ, & M.N. SCHROTH. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas Sci. Animal Plant Science*, p. 60-64.
- KRISHNAKUMARI, M.K. & MAJUMDER, S.K. 1960. Studies on anthelmintic activities of seeds of *Carica papaya* Linn. *Annals of Biochemistry and Experimental Medicine*, 20:551-556.
- LAL, J.; CHANDRA, S.; RAVIPRKASH, V. & SABIR, M. 1976. *In vitro* anthelmintic action of some indigenous medicinal plants on *Ascaridia gali* worms. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 20:64-68.
- NEVES, W.S. 2003. Atividade nematocida de extratos de pimenta malagueta, mostarda e alho sobre *Meloidogyne javanica* (Tese de Mestrado). Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

- OOSTENDORP, M. & SIKORA, R.A. 1990. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. Review Nematology, 14: 269-274.
- ROIG & MESA, J.T. 1974. Plantas Medicinales Aromaticas o Venenosas de Cuba. Ciencia Y Tecnica. Instituto del Libro, La Habana.
- SASSER, J. N. 1989. Plant parasitic nematodes: The farmer's hidden enemy. Publication Department of Plant Pathology and the Consortium for International Crop Protection. 114p.
- SASSER, J. N., & FRECKMAN, D. W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. In: J. A. VEECH & D. W. DICKSON, (Ed.) Vistas on Nematology. Maryland: Society of Nematologists, p.7-14.
- STAPLETON, J.J. & De VAY, J.E. 1995. A soil solarization: a natural mechanism of integrated pest management. In: Reuveni, R. (Ed). Novel approaches in integrated pest management. Boca Raton: Lewis, p.309-322.
- STEVENS, C.; KHAN, V.A.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; PLOPER, L.D.; BACKMAN, P.A.; COLLINS, D.J.; BROWN, J.E. & WILSON, M.A. 2003. Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. Plant and Soil, 253: 493-506.
- WERNER, D. 1992. Where there is no doctor. Hesperian foundation, Palo Alto, CA.
- ZIMMERMAN, M.H. & J. McDONOUGH. 1978. Dysfunction in the flow of food. In: Horsfall, J.G. & E. B. Cowling (eds.). Plant Disease, An Advanced Treatise. How Plants Suffer from Disease. Academic Press, New York, 3: 117-140.

CAPÍTULO 1

Biofumigação do Solo com Espécies de Brássicas para o Controle de *Meloidogyne javanica**

WÂNIA DOS SANTOS NEVES¹; LEANDRO GRASSI DE FREITAS¹; MARCELO MAGALHÃES COUTINHO¹; DOUGLAS FERREIRA PARREIRA¹, SILAMAR FERRAZ & MAURÍCIO DUTRA COSTA²

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a UFV.

Apoio financeiro: CNPq

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. CEP 36571-000

E-mail: waniasantosneves@yahoo.com.br

²Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. CEP 36571-000. Brasil

Recebido para publicação em 01/03/2007 (Nematologia Brasileira)

Resumo – Neves, W.S.; Freitas, L.G.; Coutinho, M.M.; Parreira, D.F.; Ferraz, S. & Costa, M.D. 2006. Biofumigação do solo com espécies de brássicas para o controle de *Meloidogyne javanica*.

Uma muda de tomate com 20 dias de idade foi transplantada por vaso com dois litros de capacidade contendo uma mistura de solo argiloso e areia na proporção 1:1 (v:v) e após dois dias adicionou-se para a infestação do substrato 5000 ovos de *M. javanica*. Decorridos 90 dias da multiplicação do nematóide, as plantas foram retiradas e o substrato dos vasos foi misturado em betoneira para homogeneizar a distribuição dos nematóides e redistribuído em vasos. Cem gramas de parte aérea fresca e picada de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), mostarda (*Brassica juncea*), brócolis

(*Brassica oleracea* var. *italica*) ou couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) foram depositadas na superfície do substrato de cada vaso (50 g/l de substrato). Após 6 dias, o material orgânico foi incorporado e os vasos cobertos com polietileno transparente por 30 dias. Os tratamentos constaram de incorporação de material vegetal com ou sem cobertura com plástico. No tratamento testemunha foi feito o pousio do solo durante o mesmo período de tempo, sem incorporação de material vegetal e sem cobertura do solo com o plástico. Decorridos os 30 dias de tratamento do solo, uma muda de tomate foi transplantada por vaso 24 horas após a retirada do plástico. Sessenta dias após o transplântio foram avaliados os números de galhas e ovos por sistema radicular, a altura e o peso da parte aérea das plantas. Os tratamentos de biofumigação com couve-flor, brócolis e mostarda reduziram o número de galhas em 61,3, 60,8 e 46,8%, respectivamente, em relação à testemunha (pousio), da qual diferiram estatisticamente. Todos os tratamentos diferiram da testemunha em relação ao número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular e o peso da parte aérea das plantas foi superior em todos os tratamentos em que o solo foi incorporado com matéria orgânica.

Palavras-chave: *Meloidogyne javanica*, biofumigação, brássicas.

Summary - Neves, W.S; Freitas, L.G.; Coutinho, M.M.; Parreira, D.F.; Ferraz, S. & Costa, M.D. 2006. Biofumigation of soil with species of Brassicae for the control of *Meloidogyne javanica*.

One 20 day-old tomato seedling was transplanted per pot onto 2 liters of a mixture of clay soil and sand 1:1 (v:v) and, 2 days later, 5000 eggs of *Meloidogyne javanica* were added to infest the substrate. After allowing 90 days for the nematode rearing, the whole plants were pulled out from the pots and the substrates were mixed in a concrete mixer machine to homogenize nematode distribution and replaced into the pots. One hundred

grams of chopped shoots of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*), mustard (*Brassica juncea*), broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) or cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) were deposited over the substrate surface of each pot (50g/l of substrate). Six days later, the organic material was incorporated and the pots were covered with a transparent polyethylene plastic sheet for 30 days. One tomato seedling was transplanted per pot 24 hours after the removal of the plastic cover. Fallow was done in the control treatment. The numbers of galls and eggs per root system and the weight and height of the shoot were evaluated 60 days after the transplanting. The biofumigation with cauliflower, broccoli, and mustard reduced the gall numbers in 61.3, 60.8 and 46.8%, respectively, in relation to the control treatment (fallow), from which they differed statistically. All treatments differed from the control concerning the number of eggs of *M. javanica* per root system, and the shoot weight and height were superior in all treatments in which the organic material was incorporated.

Key words – *Meloidogyne javanica*, biofumigation, Brassicaceae.

Introdução

Em geral, as olerícolas são muito suscetíveis ao parasitismo por nematóides, sofrendo redução no porte da planta, amarelecimento das folhas, seca prematura e má-formação de frutos, o que reflete em queda na produção. As galhas e massas de ovos em decorrência da infecção por *Meloidogyne* spp. podem ser observadas nas raízes.

Medidas preventivas devem ser tomadas para evitar a introdução de fitonematóides em áreas onde ainda não estão presentes, pois sua erradicação é impraticável e uma série de medidas deve ser adotada para minimizar os prejuízos por eles causados nas culturas. O controle por meio de resistência genética, embora desejável, é limitado pela escassez de cultivares resistentes e pela quebra de resistência

em temperaturas de solo superiores à 28° C (Dropkin, 1969), o que pode acontecer frequentemente em clima tropical. A rotação de cultura com outras olerícolas para os nematóides das galhas é muito difícil, pois eles possuem ampla gama de hospedeiros. O controle químico propicia uma proteção temporária, após a qual a população pode atingir altos níveis em pouco tempo. Além disso, a partir da década de 80, vários nematicidas foram retirados do mercado devido à persistência no solo, contaminação da água de lençóis freáticos e aos efeitos prejudiciais aos seres humanos e à fauna do planeta (Jatala, 1985).

Por estas razões, métodos alternativos de controle têm sido estudados. A solarização tem se mostrado eficiente no controle de patógenos do solo (Katan et al., 1976) e consiste na cobertura do solo úmido por um filme plástico transparente antes do plantio, durante cerca de oito semanas em regiões de alta radiação solar. O aquecimento do solo mata diretamente os nematóides em camadas mais superficiais e induz processos microbianos que promovem o controle de fitopatógenos fazendo com que o solo se torne supressivo (Katan & De Vay, 1991). A solarização tem se mostrado mais eficiente quando combinada à biofumigação, a qual se baseia na decomposição de materiais orgânicos, como espécies de brássicas, esterco de galinha e casca de arroz, que produzem gases tóxicos eficientes no controle de doenças do solo (Stapleton & De Van, 1995). Além da ação direta dos gases, a utilização de materiais orgânicos pode melhorar as características físico-químicas do solo e aumentar a diversidade da microbiota, também favorecendo o controle de doenças de plantas (Hoitink & Fahy, 1986).

A decomposição de brássicas, como a mostarda, libera compostos tóxicos com comprovado efeito nematicida (Mayton *et al.*, 1996), dentre eles os compostos sulfurosos, os glicosinolatos (Lewis & Papavizas, 1971), incluindo isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e epinitrilas (Mayton, *et al.*, 1996). O metil isotiocianato é ingrediente ativo de fumigantes de solo comerciais e o alil isotiocianato é um composto

volátil tóxico para fungos (Lewis & Papavizas, 1971). Este apresentou 100% de eficiência no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro cultivado em vasos em casa de vegetação, o que comprova também sua ação nematicida (Neves, 2003).

Desta maneira a hipótese desse trabalho é a de que a biofumigação com espécies de brássicas seja um método eficiente para o controle de nematóides, portanto objetivou-se avaliar o efeito da biofumigação com diferentes espécies de brássicas no controle de *M. javanica*.

Material e Métodos

Em vasos plásticos de 2 litros de capacidade foi colocado substrato composto de solo argiloso e areia, na proporção de 1:1 (v: v), previamente peneirados e tratados com brometo de metila. Uma muda de tomateiro Santa Cruz 'Kada', com 20 dias de idade, foi transplantada para cada vaso. Dois dias após o transplante o substrato de cada vaso foi infestado com uma suspensão de 5000 ovos de *M. javanica*, obtidos de raízes de tomateiro pela extração segundo o método Hussey e Barker, adaptado por Boneti & Ferraz (1981). As plantas de tomate permaneceram por 90 dias nos vasos para a multiplicação do inóculo e infestação do substrato, simulando uma infestação natural. Após esse período as plantas foram arrancadas, os substratos dos vasos foram colocados em betoneira para homogeneização da distribuição dos nematóides e colocados nos vasos novamente. Foram espalhados na superfície do substrato de cada vaso 100 gramas de matéria fresca picada de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), mostarda (*Brassica juncea*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) ou de brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*) por vaso, o que corresponde, em condições de campo a 10 Kg/m² numa profundidade de até 20 cm. Esse material permaneceu na superfície do solo por seis dias para perder o excesso de água, sendo então incorporado ao substrato. Efetuou-se a rega para ajuste da umidade próximo à capacidade de campo, sendo os vasos

envoltos por plástico de polietileno transparente com espessura de 100µm. Um tratamento com solo infestado com o nematóide, sem matéria orgânica e sem o plástico, foi utilizado como testemunha. Após 30 dias da incorporação dos resíduos de brássicas ao solo, o plástico foi retirado e após 24 horas foi plantada uma muda de tomate (*Lycopersicon esculentum*) de, aproximadamente, 20 dias de idade, em cada vaso. As plantas foram cultivadas por um período de 45 dias, recebendo os tratos culturais necessários. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação e irrigados sempre que necessário.

Os tratamentos consistiram de: 1) Solo infestado com o nematóide, com incorporação de resíduos de brássicas, sem cobertura com plástico transparente; 2) Solo infestado com o nematóide, com incorporação de resíduos de brássicas, coberto com plástico transparente; 3) Solo infestado com o nematóide, sem adição de resíduos de brássicas, coberto com plástico transparente; 4) Solo infestado com o nematóide sem adição de matéria orgânica e sem a cobertura com plástico transparente (testemunha positiva = pousio); 5) Solo não infestado com o nematóide (testemunha negativa); 6) Solo infestado com nematóide com plantio contínuo de tomateiro.

Uma amostra composta de solo foi coletada antes de ser submetido aos devidos tratamentos para a quantificação da população inicial de juvenis de *M. javanica* por 100 cm³ de solo. A extração dos juvenis do solo foi feita pelo método da flotação centrífuga em sacarose (Jenkins, 1964). A população de *M. javanica* do experimento foi de aproximadamente 8000 juvenis de segundo estágio por vaso contendo 2 litros de substrato.

A temperatura ambiente no interior da casa de vegetação foi monitorada diariamente. As médias das temperaturas máxima e mínima (durante o período da solarização e biofumigação do solo) foram de 32°C e 16°C respectivamente.

Após 45 dias do transplante das mudas, foram avaliados o peso fresco e a altura da parte aérea das plantas, o número de galhas e o número de ovos. Para a contagem do número de galhas/sistema radicular, as raízes foram armazenadas em geladeira até o momento da avaliação. Para a retirada dos ovos do sistema radicular, as raízes de cada planta foram agitadas manualmente em NaOCl na concentração de 0,5%, durante 3 minutos. A seguir, os ovos foram coletados em peneira de 0,025 mm de abertura (500 mesh), enxaguados em água corrente e guardados em tubos plásticos armazenados na geladeira (7°C) até o momento da contagem. Os ovos foram contados com o auxílio de câmara de Peters e microscópio estereoscópio.

Foram feitas dez repetições de cada tratamento em delineamento inteiramente casualizado e os dados obtidos foram submetidos à análise estatística através do sistema SAEG (Euclides, 1983). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A incorporação de couve-flor, brócolis e mostarda ao solo e posterior cobertura com plástico, resultou no maior controle do nematóide, reduzindo o número de galhas em 61,3; 60,8 e 46,8%, respectivamente, em relação ao tratamento pousio (Figura 1). A incorporação de brócolis e repolho ao solo sem a cobertura com plástico também reduziu significativamente o número de galhas em relação à testemunha. A solarização do solo, a incorporação de resíduos de couve-flor e mostarda sem a posterior cobertura com plástico transparente e a incorporação do repolho com cobertura do solo com plástico, não diferiram da testemunha em relação ao número de galhas por sistema radicular. A maior redução do número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular foi com a incorporação de brócolis e posterior cobertura do solo com plástico, com redução do número de ovos em 93%, quando comparado à testemunha (Figura 2). Entretanto, todos

os tratamentos em que foram adicionados resíduos de brássicas ao solo, independentemente da cobertura com plástico ou não, apresentarem números de ovos inferiores ao da testemunha pousio, o que demonstra que apenas a incorporação do material vegetal ao solo já é suficiente para diminuir o número de ovos de *M. javanica*.

Esses resultados corroboram os encontrados por Stapleton & Duncan (1998) que avaliaram o efeito da adição de resíduos de brássicas sobre a sobrevivência de *M. incognita* no solo. Nesse trabalho os autores verificaram que a adição do material vegetal ao solo causou a redução do número de galhas nas raízes de tomateiro de 95% a 100%, quando o solo foi aquecido a 38°C, após 7 dias de incubação. Em 2006, Baptista *et al.* observaram a diminuição da formação de galhas radiculares em tomate e redução do número de juvenis de *Meloidogyne* sp. no solo numa profundidade de 0-20cm com a adição de couve e brócolis ao solo. Foi demonstrado, no presente trabalho, que a incorporação do material vegetal ao solo é mais eficiente quando associada à solarização. Bettiol *et al.* (1996) relatam que a solarização por 139 dias consecutivos resulta em redução significativa do número de galhas causadas por *M. javanica* em quiabeiro. Experimentos realizados por Schoenmaker & Ghini (2001) nos quais se comparou a solarização com a biofumigação foi observado que a biofumigação é mais eficiente do que a solarização no controle de patógenos de solo.

A altura das plantas cultivadas em solo solarizado e em solo com incorporação de brócolis e posterior cobertura com plástico foi maior do que a de plantas cultivadas em solo sem nematóide. (Figura 3). Em um tratamento adicional em que o solo manteve-se com plantas e nematóides durante todo o período do experimento, as plantas apresentaram altura muito inferior aos demais tratamentos. Os demais tratamentos não diferiram entre si.

Todos os tratamentos com incorporação de resíduos vegetais de brássicas, independente da cobertura do solo, resultaram em plantas com maior peso de parte aérea

do que a testemunha pousio (Figura 4). O peso das plantas cultivadas em solo solarizado foi estatisticamente igual ao peso das plantas em solo sem infestação do nematóide. No tratamento no qual foi feito cultivo sucessivo no solo, as plantas apresentaram peso 90% menor do que o da testemunha e 95% menor do que as plantas cultivadas em solo com brócolis mais cobertura do solo com plástico. O peso da parte aérea das plantas cultivadas em solo sem o nematóide foi maior do que o peso das plantas do solo solarizado, pousio e com plantio sucessivo e menor do que todos os tratamentos em que ao solo foram incorporados os resíduos vegetais das brássicas. Portanto, a incorporação de brássicas como repolho, mostarda, couve-flor e brócolis, resulta em ganho de peso da parte aérea das plantas mesmo quando comparado com plantas em solo não infestado pelo nematóide, o que pode trazer como consequência o aumento de produtividade. Em comparação à testemunha, os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos de biofumigação com brócolis (em conjunto com a cobertura) biofumigação com couve-flor (incorporação de couve-flor mais a cobertura com o plástico) e apenas a incorporação de brócolis, que resultaram em ganho de peso de 73%, 66% e 62% respectivamente.

Baptista *et al.* (2006) avaliaram o desenvolvimento e a produção precoce de plantas de tomate e observaram maior altura, massa da matéria fresca e seca da parte aérea e peso de frutos nas plantas do híbrido Alambra crescidas em solo solarizado. Os resultados obtidos por Baptista *et al.* (2006) também evidenciaram o efeito favorável da solarização na disponibilidade de nutrientes do solo, o que significará maior qualidade e produtividade dos cultivos. Segundo Haynes (1984), o aumento da temperatura no solo, durante a solarização, favorece o aumento de organismos saprófitas acentuando a produção de ácidos orgânicos por esses organismos, o que contribui para a disponibilidade do fósforo para plantas, visto que ácidos orgânicos podem ser fortemente adsorvidos pelo solo, o que resulta na competição com os sítios de adsorção

de fósforo, aumentando conseqüentemente, a disponibilidade desse nutriente para as plantas.

A associação da incorporação de material vegetal ao solo e a cobertura do solo com plástico transparente faz com que haja controle satisfatório do nematóide, ao mesmo tempo em que diminui o tempo do tratamento no solo, já que trabalhos anteriores, como o realizado por Bettiol *et al.* (1996), relatam que para o controle de alguns nematóides é preciso um período de aproximadamente 3 a 4 meses de solarização do solo a altas temperaturas. Essa associação também é eficiente em temperaturas não tão elevadas como as sugeridas por Katan *et al.* (1976) para se obter sucesso na solarização, mostrando então que é possível que o método seja usado em climas mais amenos com resultados satisfatórios.

No presente trabalho, podemos concluir que a biofumigação do solo com brócolis, couve-flor e mostarda é eficiente em controlar o nematóide *M. javanica* em casa de vegetação, visto que diminui tanto o número de galhas como o número de ovos presentes nas raízes das plantas. A incorporação dos resíduos vegetais ao solo também foi eficiente em relação ao ganho de peso da parte aérea das plantas quando comparado tanto com a testemunha com nematóide como com a testemunha sem nematóide, ou seja, mesmo em solo sem a presença do nematóide, a incorporação de brássicas promove um melhor desenvolvimento das plantas o que pode resultar em maior produtividade. Com base nesses resultados pode-se concluir que a biofumigação do solo com espécies de brássicas como brócolis, couve-flor e mostarda é uma boa alternativa para o controle de *M. javanica* devendo ser realizados experimentos utilizando diferentes quantidades de material vegetal e diferentes períodos de tratamento do solo.

Referências Bibliográficas

- BAPTISTA M.J; SOUZA R.B; PEREIRA W; CARRIJO A.O.; VIDAL, M.C. & CHARCHAR J.M. 2006. Solarização do solo e biofumigação no cultivo protegido de tomate. *Horticultura Brasileira*, 24: 47-52.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; CUNHA, M.I.B; TRATCH, R. & GALVÃO, J.A.H. 1996. Solarização do solo para o controle do nematóide das galhas em quiabeiro. *Horticultura Brasileira*, 14: 158-160.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 6 (suplemento): 553 (resumo).
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology*, 59: 1632-1639.
- DUNCAN, A. 1991. Glucosinolatos, p. 127-147 In: Toxic Substances in Crop Plants. J. P. D'Mello, C. M. Duffus, and J. H. Duffus, eds. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- HAYNES, R.J. 1984. Lime and phosphate in the soil-plant system. *Advances in Agronomy*, 37: 249- 315.
- HOITINK, H.A.J. & FAHY, P.C. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Annual Review Phytopathology*, 24: 93-114.
- JATALA, P. Biological control of nematodes. 1985. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C., ed. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Biology and control. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1:303-308.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from the soil. *Plant Disease Reporter*, 48: 692.
- KATAN, J. & DeVAY. 1991. Soil solarization. Boca Raton: CRC Press, 267p.
- KATAN, J.; GREENBERGER, A.; ALON, H. & GRINSTEIN, A. 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. *Phytopathology*, 66: 683-688.
- LEWIS, J.A. & PAPAIVIZAS, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology*, 61: 208-214.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*, 86: 267-271.

- NEVES, W.S. 2003. Atividade nematicida de extratos de pimenta malagueta, mostarda e alho sobre *Meloidogyne javanica* (Tese de Mestrado). Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.
- SCHOENMAKER, I.A.S. & GHINI, R. 2001. Biofumigação do solo para o controle de *Pythium* spp. *Summa Phytopathologica*, 27: 308-312.
- STAPLETON, J.J. & DEVAY, J.E. 1983. Response of phytoparasitic and free-living nematodes to soil solarization and 1,3-Dichloropropene in California. *Phytopathology*, 73: 1429-1436.
- STAPLETON, J.J. & DUNCAN, R.A. 1998. Soil desinfestation with cruciferous amendments and sublethal heating: effects on *Meloidogyne incognita*, *Sclerotium rolfsii* and *Pythium ultimum*. *Plant Pathology*, 47: 737-742.

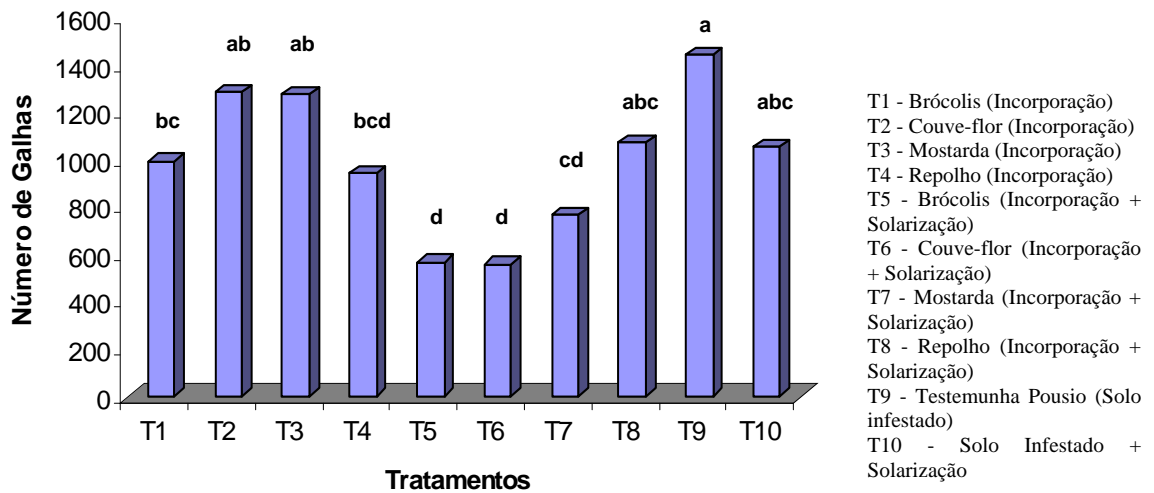


Figura 1 – Média do número de galhas formadas por *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro Santa Cruz ‘Kada’ cultivado por 45 dias em solo submetido a diferentes tratamentos (vide legenda) em casa de vegetação.

Letras iguais, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

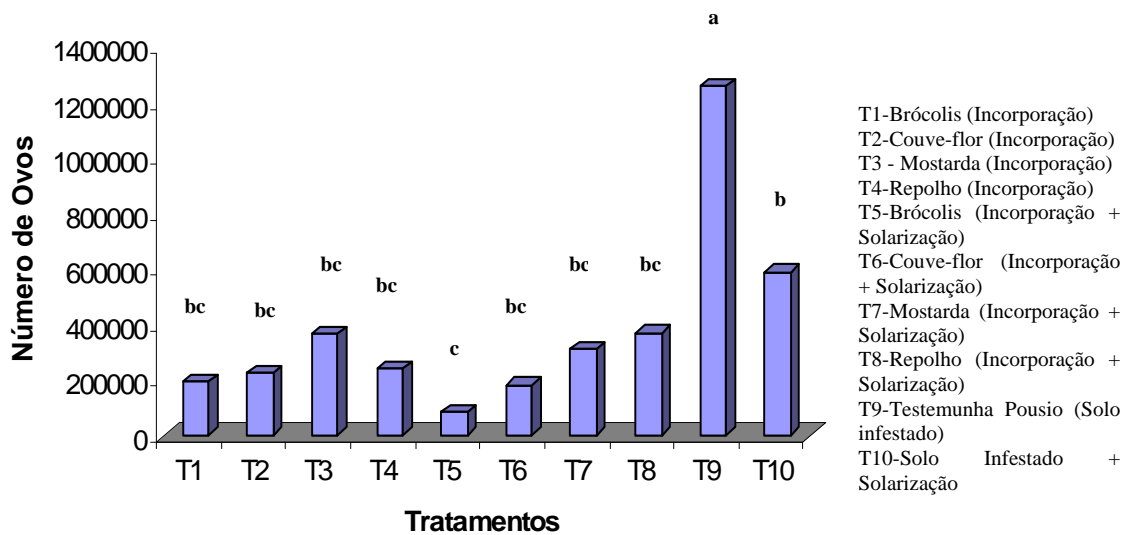


Figura 2 – Média do número de ovos formadas por *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro Santa Cruz ‘Kada’ cultivado por 45 dias em solo submetido a diferentes tratamentos (vide legenda) em casa de vegetação.

Letras iguais, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

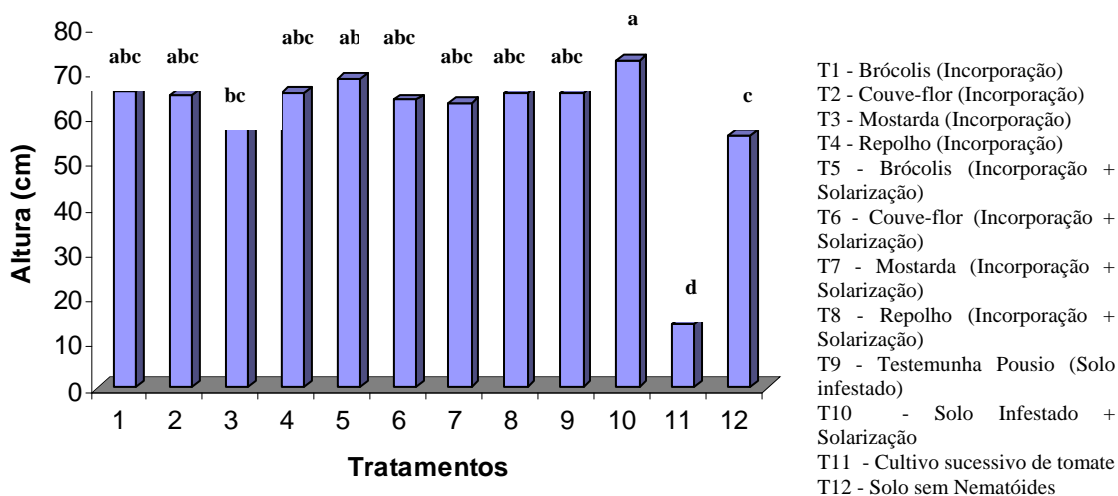


Figura 3 – Média da altura (cm) de plantas de tomate Santa Cruz ‘Kada’ cultivadas por 45 dias em solo submetido a diferentes tratamentos (vide legenda) em casa de vegetação.

Letras iguais, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

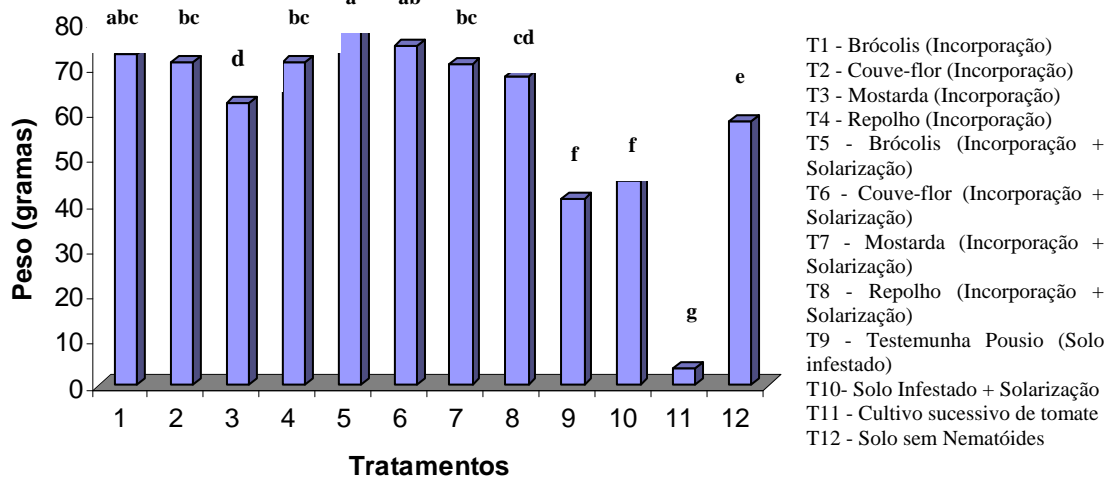


Figura 4 – Média do peso (gramas) de plantas de tomate Santa Cruz ‘Kada’ cultivadas por 45 dias em solo submetido a diferentes tratamentos (vide legenda) em casa de vegetação.

Letras iguais, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

CAPÍTULO 2

Efeito de bactérias isoladas de solo biofumigado com resíduos de diferentes espécies de brássicas sobre *Meloidogyne javanica*

WÂNIA DOS SANTOS NEVES*, LEANDRO GRASSI DE FREITAS, MAURÍCIO DUTRA COSTA, VANESSA SABIONI DE ALMEIDA & SILAMAR FERRAZ

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a UFV.

Apoio financeiro: CNPq

Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa , MG.

CEP 36571-000

E-mail: wanciasantosneves@yahoo.com.br

Resumo – Neves, W.S., Freitas, L.G., Costa, M.D., Almeida, V.S. & Ferraz, S. 2007. Efeito de bactérias isoladas de solo biofumigado com resíduos de diferentes espécies de brássicas sobre *Meloidogyne javanica*.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de bactérias, isoladas de solo biofumigado com diferentes espécies de brássicas, para o controle biológico de *Meloidogyne javanica*. Amostras de solo biofumigado com 50 g/L de resíduos de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), mostarda (*Brassica juncea*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) ou de brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*) por litro de solo foram coletadas e 60 isolados de bactérias foram obtidos por centrifugação e posteriormente pelo método de diluição serial, dessas amostras. Procedeu-se, em casa de vegetação, seleção massal de isolados com maior potencial de controle. Sementes de tomateiro Santa Cruz ‘Kada’ foram imersas em suspensão bacteriana por 24 horas e transferidas para mistura de solo e areia 1:1 (v:v) em tubete plástico com capacidade de

250mL. Após 20 dias, o solo de cada tubete foi infestado com suspensão aquosa de 1000 ovos de *M. javanica*. Água foi utilizada como testemunha. Após 45 dias, avaliaram-se a altura das plantas e o número de massas de ovos por sistema radicular. Dos 60 isolados avaliados, 19 se diferenciaram estatisticamente da testemunha e reduziram em mais de 50% o número de massas de ovos. Nenhum dos isolados promoveu aumento na altura das plantas quando comparados com a testemunha. Entre os 19 isolados, seis se destacaram e reduziram o número de massas de ovos em 63%, 65%, 73%, 77%, 78% e 93% em relação à testemunha. Os isolados com maior potencial de controle foram reavaliados em casa de vegetação e *in vitro* para medir a inibição de eclosão dos ovos do nematóide. Em nenhum dos dois experimentos os isolados diferenciaram-se da testemunha em relação ao controle do nematóide, não promovendo também o crescimento das plantas em casa de vegetação.

Palavras-chave: Controle, *Meloidogyne javanica*, solo biofumigado, bactérias.

Summary - Neves, W.S.; Freitas, L.G.; Costa, M.D.; Almeida, V.S. & Ferraz, S. 2007.

Effect of bacteria isolated from biofumigated soil with residues of different species of brassicaceae on *Meloidogyne javanica*.

This study evaluated the potential of bacteria, isolated from soil biofumigated with different species of brassicas, for the biological control of *Meloidogyne javanica*. Samples of soil biofumigated with 50 g/L of residues of broccoli, cauliflower, mustard or cabbage were collected and 60 isolates of bacteria were obtained by the centrifugation and serial dilution method. A screening of isolates with potential for the control of the nematode was conducted in the green house. Seeds of tomato plants Santa Cruz 'Kada' were immersed in a bacterial suspension for 24 hours and then transferred into a mixture of soil and sand 1:1 (v:v) in 250 mL plastic tube. After 20 days, the soil of

each tube was infested with aqueous suspension of 1,000 eggs of *M. javanica*. Water was used as control. After 45 days, the height of the plants and the number of egg masses were evaluated in the root system. None of the isolates increased plant height when compared to the control. Among the 19 isolates that reduced the number of eggs per plant, six stood out, with reductions of 63%, 65%, 73%, 77%, 78% and 93% when compared to the control. These isolates were re-evaluated in the greenhouse and tested for egg-hatching reduction *in vitro*. In neither of the two experiments the isolates differed from the control treatment.

Key words – Control, *Meloidogyne javanica*, biofumigated soil, bacteria.

Introdução

Os nematóides do gênero *Meloidogyne*, também conhecidos como nematóides das galhas, são considerados os mais importantes do mundo (Sasser & Frekman, 1987), causando grandes perdas em olerícolas, principalmente na cultura do tomate, com prejuízos que chegam a 18 milhões de toneladas por ano (Sasser, 1989).

Métodos alternativos ao uso de nematicidas químicos, caros e poluentes são de grande importância para a produção agrícola sustentável. O uso de matéria orgânica, a solarização do solo, a biofumigação e o controle biológico com fungos e bactérias são alguns dos métodos ecologicamente aceitáveis que vêm sendo cada vez mais investigados.

Certos resíduos vegetais e animais, quando incorporados ao solo, liberam gases tóxicos ao serem decompostos. Além da ação direta dos gases, a utilização de materiais orgânicos pode melhorar as características físico-químicas do solo e aumentar a diversidade da microbiota, favorecendo também o controle biológico de doenças de plantas (Hoitink & Fahy, 1986). A solarização do solo tem ação limitada contra os

nematóides, mas quando combinada com a incorporação de matéria orgânica, acelera sua decomposição e aprisiona os gases que atuam contra os nematóides. Além disso, ao alterar a composição da microbiota do solo, pode favorecer o desenvolvimento de organismos benéficos enquanto reduz a ocorrência dos fitopatogênicos. Stevens e colaboradores (2003) relataram o aumento significativo de bactérias de espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas* fluorescentes na rizosfera, rizoplano e no interior de tecidos radiculares de tomateiro e batata doce, cultivados em solo solarizado, quando comparado com solo não solarizado. Essas bactérias geralmente estão associadas às raízes de plantas e são conhecidas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitonematóides, assim como outras bactérias dos gêneros *Azobacter*, *Azospirillum* e *Acetobacter* (Brown, 1974; Elmerich, 1984; Kloepper *et al.*, 1988; Glick, 1995).

Além dos efeitos diretos de produção de toxinas e antibióticos, as rizobactérias, são capazes de ativar mecanismos de defesa das plantas através da indução de resistência sistêmica (Oostendorp & Sikora, 1990). O uso dessas bactérias pode ser de grande importância para o controle de fitonematóides, uma vez que não causam impacto ambiental e oferecem maior segurança para aplicadores e consumidores.

A hipótese deste trabalho é que a biofumigação do solo promove o desenvolvimento de bactérias que são agentes eficientes de controle biológico de nematóides. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo isolar bactérias associadas ao solo biofumigado com espécies de brássicas e selecionar isolados com potencial para controle biológico de nematóides pelo tratamento de sementes e de solo.

Material e Métodos

O nematóide *Meloidogyne javanica* foi multiplicado e mantido em raízes de tomateiro cv. Santa Clara, em casa de vegetação, por aproximadamente 70 dias.

Decorrido esse período, foi feita a extração de ovos pelo método de Hussey e Barker (1973) modificado por Boneti & Ferraz (1981). As concentrações das suspensões dos ovos foram ajustadas com o auxílio da câmara de Peters em microscópio estereoscópio, para a utilização como inóculo nos experimentos.

Foram colocados na superfície do solo de cada vaso 50 gramas de resíduos de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), mostarda (*Brassica juncea*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) ou brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*) por quilograma de solo. O material foi incorporado ao solo e, após 6 dias, o solo foi molhado até próximo a capacidade de campo e envolto por um plástico de polietileno transparente com espessura de 100 µm. Após 30 dias o plástico foi retirado e foram coletadas amostras de solo de cada um dos tratamentos para o isolamento das bactérias.

O isolamento das bactérias do solo foi feito pelo método de diluição em placas de Petri, em que foram adicionados 10 g da mistura de solo de cada tratamento em 100mL de solução salina (NaCl 0,85%). As amostras foram preparadas e mantidas sobre agitação vigorosa por 1 hora e, em seguida, foram submetidas à diluição em série, das quais foram utilizados 100 µL das suspensões de 10^4 a 10^9 para semeio em placas de Petri contendo o meio 523 de Kado & Heskett (1970), com auxílio de alça de Drigalsky. As placas foram levadas à incubadora a 28°C, onde permaneceram por 24 horas. As colônias que surgiram foram repicadas para tubo de ensaio contendo o mesmo meio. Os tubos foram mantidos em incubadora por 24 horas a mesma temperatura. No total foram obtidos 60 isolados.

A seleção das bactérias foi realizada avaliando-se o seu potencial de agente de controle de nematóides e o seu efeito no crescimento das plantas em casa de vegetação. Para isso, sementes de tomate foram microbiolizadas utilizando-se o método descrito por Oostendorp & Sikora (1989) modificado para 24 horas (Fabry, 2002). As sementes foram imersas em suspensão bacteriana preparada com água destilada e mantidas à

temperatura ambiente. Sementes mantidas em água foram usadas como testemunha. Após 24 horas as sementes foram semeadas em tubetes plásticos com capacidade para 250 mL, contendo solo e areia na proporção 1:1. Foram usadas três sementes por tubete e após a germinação foi feito um desbaste onde foi deixada apenas uma planta por tubete. Cinco dias após o desbaste o solo foi infestado com uma suspensão contendo 1000 ovos de *Meloidogyne javanica*. Foi usado também um tratamento no qual as sementes que foram imersas apenas em água foram plantadas em solo sem infestação de nematóides, totalizando 366 parcelas experimentais. As avaliações foram feitas 45 dias após a infestação do solo. Foram avaliados a altura das plantas e o número de massas de ovos por sistema radicular. Para a contagem do número de massas de ovos/sistema radicular, as raízes foram imersas por 15 minutos em solução aquosa de floxina B (15 mg de floxina B/ litro de água) para coloração das massas de ovos. Depois de coradas as raízes foram colocadas em papel toalha e armazenadas em geladeira até o momento da avaliação. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do programa estatístico SAEG (Euclides, 1983). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo método de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

Os isolados bacterianos com maior potencial de controle foram reavaliados em casa de vegetação. O experimento foi montado de forma a avaliar duas formas de aplicação da bactéria: microbiolização das sementes e suspensão bacteriana sob a forma de rega diretamente no solo. O método de microbiolização das sementes com suspensão bacteriana foi montado da mesma forma descrita anteriormente, porém em maior volume de solo, utilizando-se vasos de 4 litros de capacidade. As culturas dos isolados foram raspadas com alça de Drigalski sobre meio B de King (King *et al.*, 1954) em placas de Petri e mantidas a 28°C durante 48 horas. Após esse período, fez-se a raspagem da cultura bacteriana e preparou-se uma suspensão aquosa ajustada para

$DO_{540} = 0,5$. As sementes foram imersas em suspensão bacteriana preparada com água destilada e mantidas à temperatura ambiente. Sementes mantidas em água foram usadas como testemunha. Após 24 horas as sementes foram semeadas em vasos de plástico. No método em que a suspensão bacteriana foi aplicada diretamente no solo, as sementes foram colocadas no solo sem nenhum tratamento e, após 15 dias, 5 mL de suspensão bacteriana aquosa dos respectivos isolados, preparada como descrita anteriormente, foram colocados diretamente no solo sob a forma de rega. Para ambos os métodos, 20 dias após a semeadura, o solo de cada vaso foi infestado com 4000 ovos de *M. javanica*. Dez repetições por tratamento foram utilizadas, nas duas formas de aplicação da bactéria. Os parâmetros avaliados foram altura, peso da parte aérea, peso das raízes e número de ovos e de galhas por sistema radicular das plantas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo método teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

Foi feita também uma avaliação *in vitro* dos isolados que se apresentaram mais eficientes no controle de *M. javanica* em casa de vegetação, para medir a inibição de eclosão dos juvenis. Aproximadamente 200 ovos de *M. javanica*, contidos em 1 mL de água, foram colocados em 2 mL de suspensão aquosa de bactérias em placas de Petri com 5 cm de diâmetro. O tratamento usado como testemunha foi composto pela suspensão contendo os ovos do nematóide e água. Os ovos em suspensão foram incubados a 26°C, em recipiente fechado durante 21 dias. As avaliações foram feitas 24 horas após a montagem do experimento e, a cada 3 dias, foram feitas leituras do número de juvenis eclodidos e de ovos remanescentes, com auxílio de microscópio estereoscópio. Os resultados foram expressos em porcentagem de eclosão de juvenis de acordo com a fórmula:

Porcentagem de eclosão = $[\text{número de juvenis}/(\text{número de juvenis} + \text{número de ovos})] \times 100$.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o sistema SAEG (Euclides, 1983). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

Resultados e Discussão

Dos 60 isolados avaliados, 19 se diferenciaram estatisticamente da testemunha reduzindo em mais de 50% o número de massas de ovos por sistema radicular. Entre os 19 isolados, seis se destacaram, reduzindo o número de massas de ovos em 63%, 65%, 73%, 77%, 78% e 93% em relação à testemunha (Figura 1). Nenhum dos isolados promoveu aumento na altura das plantas (Figura 2).

Os seis isolados bacterianos que resultaram em melhor controle do nematóide foram reavaliados em casa de vegetação. Na reavaliação, os isolados bacterianos não diferiram estatisticamente da testemunha em relação ao número de galhas, nas duas formas de aplicação (Figuras 3 e 4), e em relação ao número de ovos quando aplicados na forma de rega. Na microbiolização das sementes, o isolado bacteriano 23 resultou em maior multiplicação do nematóide (Figura 3).

Em relação ao peso da parte aérea das plantas, todos os tratamentos foram estatisticamente iguais à testemunha com e sem nematóide, sendo que as plantas cultivadas em solo tratado com suspensões bacterianas dos isolados 83 e 23 diferiram estatisticamente das plantas do isolado 32, resultando em maior peso da parte aérea (Figura 5).

A altura e o peso das raízes das plantas não diferiram significativamente entre os tratamentos, tanto para a microbiolização das sementes como para a suspensão bacteriana jogada diretamente no solo (Figuras 6 e 7).

Segundo Cook & Baker (1993) o tratamento do solo com vapor, calor ou fumigação forma um vácuo biológico e os primeiros organismos a recolonizar o solo possuem alta capacidade saprofítica. No trabalho aqui desenvolvido, apesar dos isolados terem sido obtidos de solo em que foi incorporada matéria orgânica e coberto com plástico, tais isolados só foram eficientes em controlar o nematóide na seleção massal em que foi utilizado pequeno volume de solo. Quando esse volume foi aumentado, as bactérias testadas não foram capazes de efetuar o controle dos nematóides ou de promover o crescimento das plantas.

Alguns autores relatam que a forma de aplicação das rizobactérias pode ser um fator importante na multiplicação das bactérias e colonização da rizosfera (Mazzola *et al.*, 1995). Segundo Kloepper *et al.* (1985), os isolados de rizobactérias com habilidade de utilizar exudatos de sementes possuem vantagem competitiva na colonização das raízes, o que parece não ter sido o caso dos isolados testados no presente trabalho, visto que em nenhuma das formas de aplicação da bactéria houve controle do nematóide.

Os isolados não diferiram estatisticamente da testemunha (água) em relação à eclosão de juvenis de *M. javanica* no experimento realizado *in vitro* (Figura 8). Pouco se sabe sobre os mecanismos de ação das rizobactérias sobre os fitonematóides. Presume-se que envolvam a produção de toxinas, a modificação dos exsudatos radiculares da planta, reduzindo a eclosão de ovos, a atração e o reconhecimento do hospedeiro e a indução de resistência sistêmica (Oostendorp & Sikora, 1990). No teste *in vitro* não foi observado redução ou atraso na eclosão dos juvenis em nenhum dos isolados testados, o que indica que a inibição da eclosão não tenha sido o mecanismo de ação envolvido. Contudo, a falta de inibição de eclosão dos juvenis não significa que o

isolado não seja também efetivo *in vivo*, pois as bactérias podem atuar por outros mecanismos de ação, em outra fase do ciclo de vida do nematóide. Por outro lado, alguns autores relatam que organismos com boa atividade antagonista *in vitro* nem sempre possuem boa atividade antagonista no solo (Becker *et al.*, 1988; Neipp & Becker, 1999; Racke & Sikora, 1992).

De acordo com Kloepper *et al.* (1990) a indução de crescimento das plantas pode ser outro mecanismo de atuação das rizobactérias, porém no presente trabalho, nos experimentos realizados em casa de vegetação, também não foi observado maiores peso e altura nas plantas tratadas com os isolados bacterianos.

Os resultados obtidos nos experimentos realizados no presente trabalho podem ser devido a fatores abióticos, visto que a seleção massal foi realizada em época quente do ano, de dezembro a fevereiro, e a reavaliação das bactérias em casa de vegetação foi feita em época fria, de abril a junho. Segundo Weller (1988), a atividade microbiana aumenta com o aumento da temperatura. Outro fator que pode ter feito com que os isolados selecionados na seleção massal não fossem eficientes quando re-avaliados é o fato da população do nematóide ter sido quatro vezes maior que a população da seleção massal, que foi de 1000 ovos por tubete. As bactérias foram aplicadas apenas uma vez, por microbiolização das sementes ou via rega no solo, e talvez esse fato tenha sido outra razão de não se ter obtido sucesso em relação ao controle como foi obtido na seleção massal. É possível que a proteção conferida por esses agentes de biocontrole só seja eficiente em maior volume de solo, quando aplicados mais vezes, durante a condução da cultura.

Com base nos resultados obtidos, pode-se aqui concluir que as bactérias isoladas de solo biofumigado com diferentes espécies de brássicas não se comportaram como bons agentes de controle de nematóides sob aplicação na forma de rega no solo e microbiolização das sementes em casa de vegetação, visto que os resultados obtidos na

seleção massal não se confirmaram quando aplicadas em vasos com capacidade para maior volume de solo. Talvez sejam necessárias aplicações semanais para que tais isolados sejam eficientes como agentes de biocontrole de nematóides. Em nenhum dos experimentos realizados em casa de vegetação os isolados bacterianos selecionados atuaram como promotores de crescimento das plantas. Com os resultados obtidos *in vitro* pode-se afirmar que a inibição da eclosão não é o mecanismo de ação que os isolados bacterianos selecionados utilizaram para promover o controle dos nematóides na seleção massal.

Referências Bibliográficas

- BECKER, J.O., ZAVALETA-MEJIA, E., COLBERT, S.F., SCHROTH, M.N., WEINHOLD, A.R., HANCOCK, J.G., GUNDY, S.D.V., & VAN-GUNDY, S.D. 1988. Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. *Phytopathology*, 78:1466-1469.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 553.
- BROWN, M.E. 1974. Seed and root bacterization. *Annual Review of Phytopathology*, 12:181-197.
- COOK, R.J. & K.F. BAKER. 1993. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul: The American Phytopathological Society, 523p.
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology*, 59: 1632-1639.
- ELMERICH, C. 1984. Molecular biology and ecology of diazotrophs associated with non-leguminous plants. *Bio/Technology*, 2: 967-978.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- FABRY, C.F.S. 2002. Controle de *Meloidogyne javanica* por rizobactérias antagonistas a fitonematóides (Tese de Mestrado). Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa, 68p.
- GLICK, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41:109-117.

- HOITINK, H.A.J. & FAHY, P.C. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, 24: 93-114.
- KADO, C.I. & RESKETT, M.G. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60:969-979.
- KING, E.O.; M.K. WARD & D.E. RANEY. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 44:301-307.
- KLOEPPER, J.W.; F.M.; SCHER; M. LALIBERTÉ. & I. ZALESCA. 1985. Measuring the spermosphere colonizing capacity of bacterial inoculants. *Canadian Journal of Microbiology*, 31:926-929.
- KLOEPPER, J.W.; R. LIFSHITZ, & M.N. SCHROTH. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas Sci. Animal Plant Science*, p. 60-64.
- KLOEPPER, J.W.; ZABLOTOWICZ, R.M. & LIFSHITZ, R. 1990. Plant growth-promoting mediated by rhizosphere colonizers. In: Keister, D.L. & Cregan, P.B. eds. *The rhizosphere and plant growth*. Dordrecht, Academic Publishers, p. 315-326.
- MAZZOLA, M. W.P. STHALMAN & J. E. LEACH. 1995. Application method affects the distribution and efficacy of rhizobacteria suppressive of downy brome (*Bromus tectorum*). *Soil Biology and Biochemistry*, 27(10):1271-1278.
- NEIPP, P.W., J.O. BECKER. 1999. Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris vulgaris* against *Heterodera schachtii*. *Journal of Nematology*, 31(1): 54-61.
- OOSTENDORP, M. & SIKORA, R.A. 1989. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. *Review Nematology*, 12: 77-83.
- OOSTENDORP, M. & SIKORA, R.A. 1990. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Review Nematology*, 14: 269-274.
- RACKE, J. & SIKORA, R.A. 1992. Influence of the plant health-promoting rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* and *Bacillus sphaericus* on *Globodera pallida* root infection of potato and subsequent plant growth. *Journal of Phytopathology*, 134: 198-208.
- SASSER, J. N. 1989. Plant parasitic nematodes: The farmer's hidden enemy. Publication Department of Plant Pathology and the Consortium for International Crop Protection. 114p.
- SASSER, J. N., & FRECKMAN, D. W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. In: J. A. VEECH & D. W. DICKSON, (Ed.) *Vistas on Nematology*. Maryland: Society of Nematologists, p. 7-14.

- SCHROTH, M.N. & HANCOCK, J.G. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science*, 216: 1376-1381.
- SPIEGEL, Y.; COHN, E.; GALPER, S.; SHARON, E. & CHET, I. 1991. Evaluation of a new isolated bacterium, *Pseudomonas chitinolytica*, for controlling the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Biocontrol Science Technological*, 1:115-125.
- STEVENS, C.; KHAN, V.A.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; PLOPER, L.D.; BACKMAN, P.A.; COLLINS, D.J.; BROWN, J.E. & WILSON, M.A. 2003. Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. *Plant and Soils*, 253: 493-506.
- WELLER, D.M. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 1508-15012.
- WELLER, D.M. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopahtology*, 26: 1508-15012.

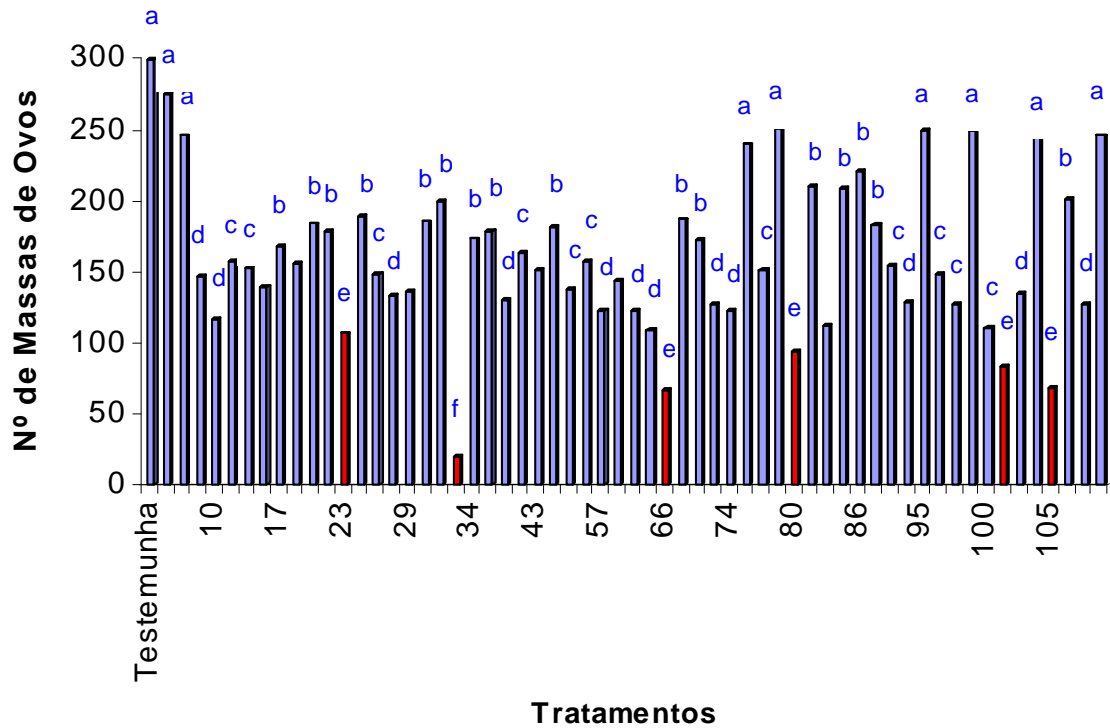


Figura 1: Número de massas de ovos de *M. javanica* por sistema radicular de tomateiro oriundos de sementes microbiolizadas com diferentes isolados bacterianos obtidos de solo biofumigado com diferentes espécies de brássicas. Barras em destaque indicam isolados bacterianos que apresentaram valores médios estatisticamente menores que os demais tratamentos quando comparados pelo método de de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. (Média de 6 repetições)

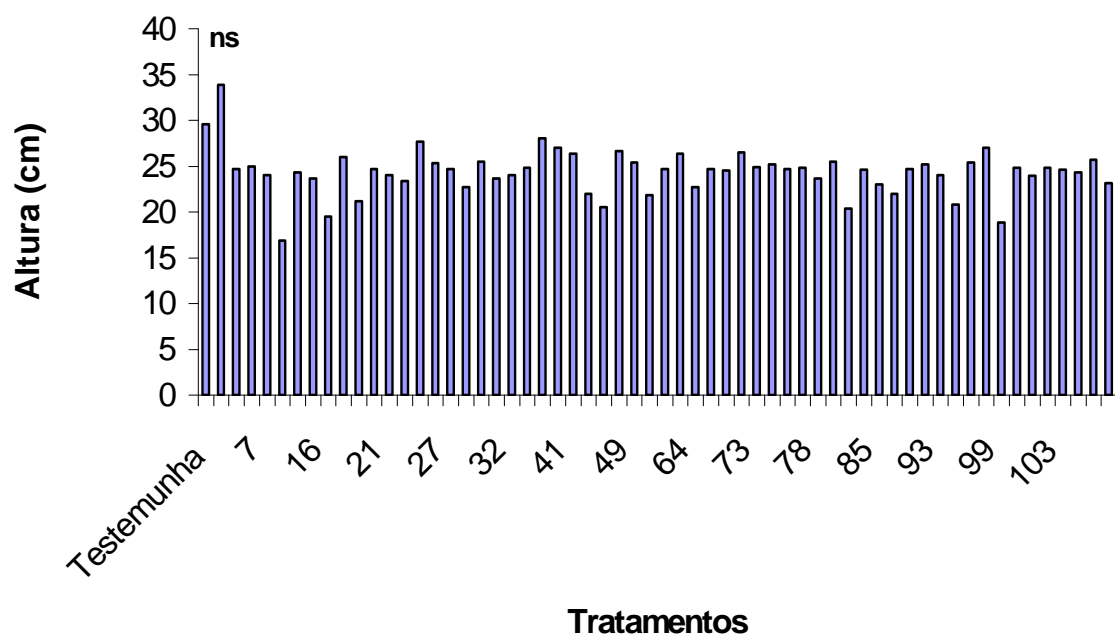


Figura 2: Altura das plantas (cm) de tomateiro oriundas de sementes microbiolizadas por 24 horas em suspensão bacteriana de diferentes isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas.
 (Média de 6 repetições. ^{*ns} Não significativo pelo teste F, à 5% de probabilidade)

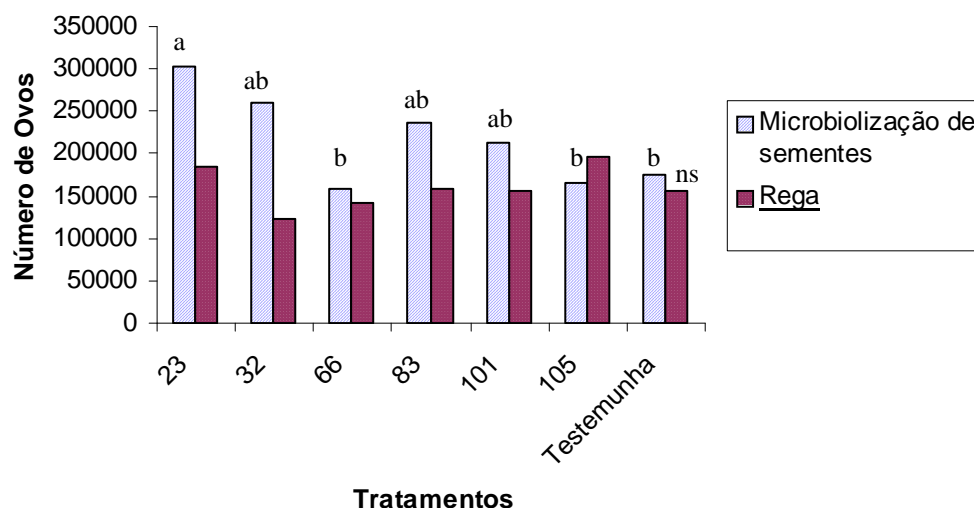


Figura 3: Número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, oriundas de sementes e mudas tratadas com suspensão bacteriana de isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas.

Letras iguais, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

(Média de 10 repetições. ^{*ns} Não significativo pelo teste F, à 5% de probabilidade)

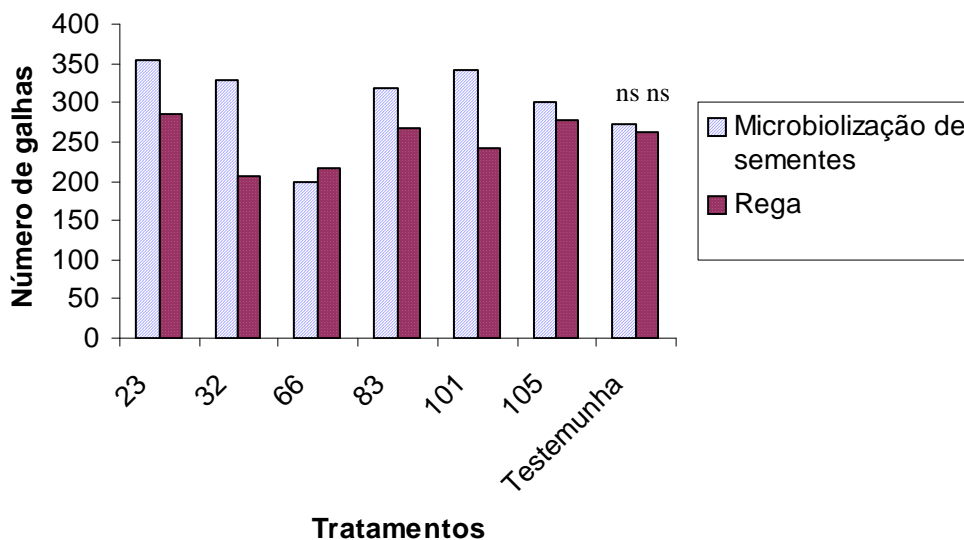


Figura 4: Número de galhas de *M. javanica* por sistema radicular de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, oriundas de sementes e mudas tratadas com suspensão bacteriana de isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas.

(Média de 10 repetições. ^{*ns} Não significativo pelo teste F, à 5% de probabilidade)

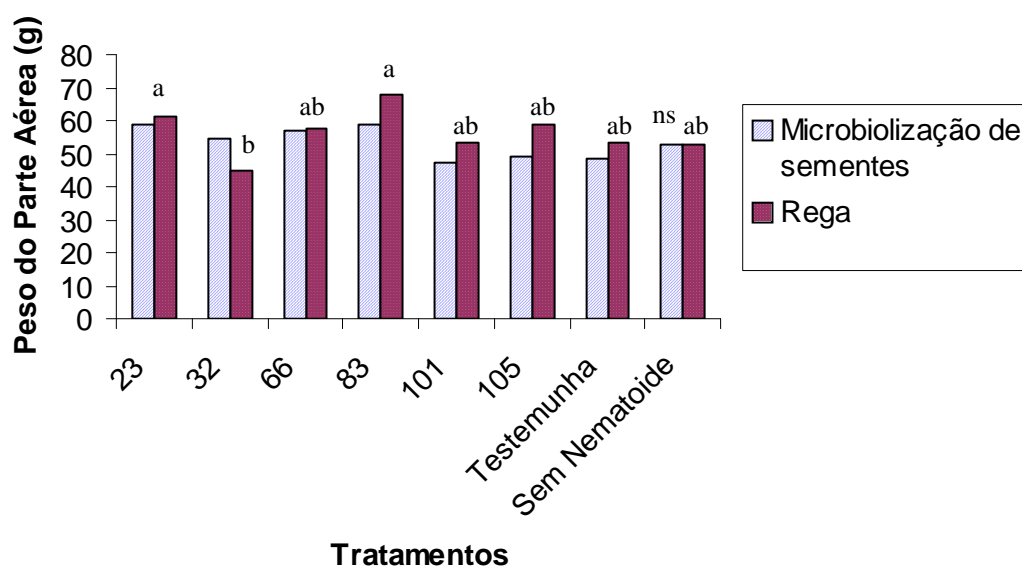


Figura 5: Peso da parte aérea (g) de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, oriundas de sementes e mudas tratadas com suspensão bacteriana de isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas. Letras iguais, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$). (Média de 10 repetições. *ns Não significativo pelo teste F, à 5% de probabilidade)

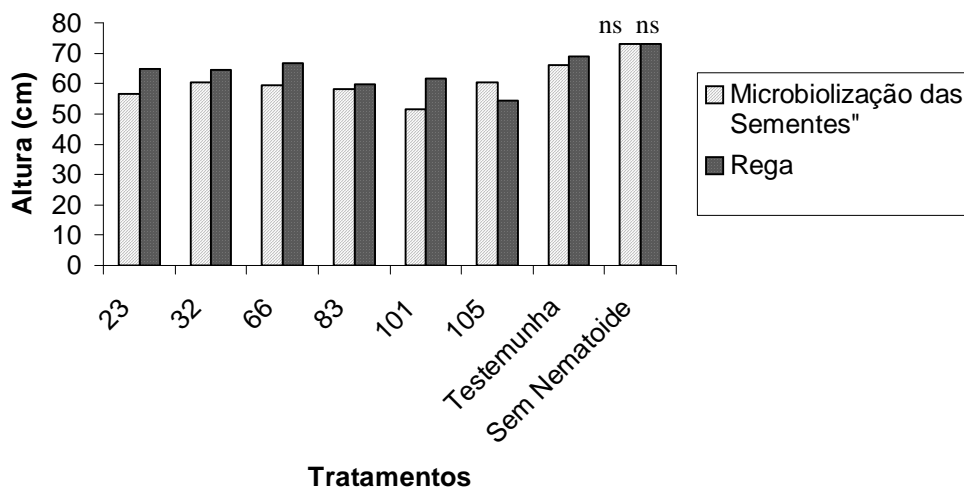


Figura 6: Altura (cm) de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, oriundas de sementes e mudas tratadas com suspensão bacteriana de isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas. (Média de 10 repetições. *ns Não significativo pelo teste F, à 5% de probabilidade)

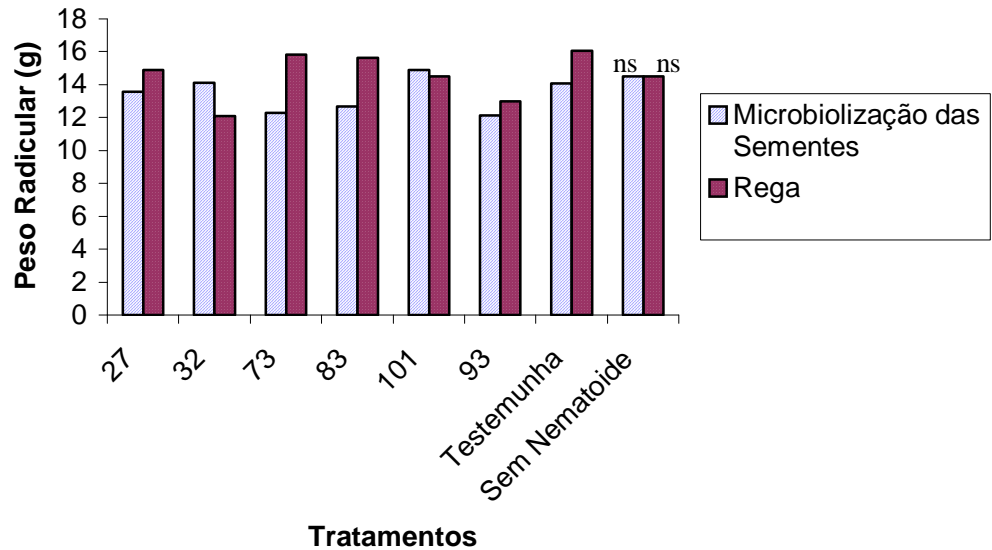


Figura 7: Peso do sistema radicular (g) de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, oriundas de sementes e mudas tratadas com suspensão bacteriana de isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas. (Média de 10 repetições. *ns Não significativo pelo teste F, à 5% de probabilidade)

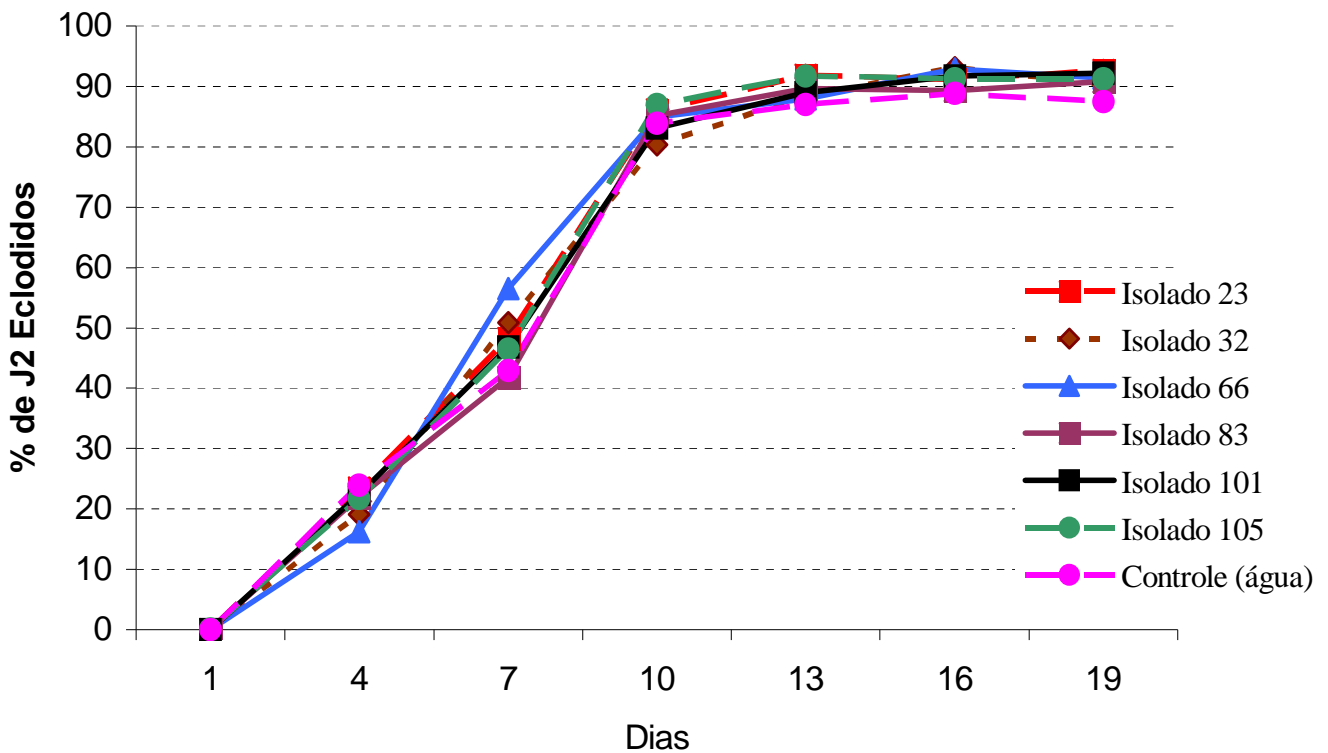


Figura 8: Porcentagem de eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne javanica* deixados em água (testemunha) e em suspensão bacteriana de isolados obtidos de solo biofumigado com espécies de brássicas. (Média de 5 repetições)

CAPÍTULO 3

Comunicação científica

Efeito de Extrato de Sementes de Mamão sobre a Eclosão e a Inativação de Juvenis de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*

WÂNIA DOS SANTOS NEVES, LEANDRO GRASSI DE FREITAS, MARCELO
MAGALHÃES COUTINHO, ROSANGELA DALLEMOLE-GIARETTA &
SILAMAR FERRAZ

¹Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia,

CEP 36571-000, Viçosa-MG

e-mail: wanciasantosneves@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 07/03/2007 (Nematologia Brasileira)

Resumo – Neves, W.S.; L.G. Freitas; M. M. Coutinho; R. Dallemole-Giaretta & S. Ferraz. 2006. Efeito de extrato de sementes de mamão sobre a eclosão e a inativação de juvenis de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

Avaliaram-se, *in vitro*, o efeito do extrato de sementes de mamão sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* e as atividades nematostática e nematicida do extrato sobre juvenis de segundo estágio de *M. javanica* e de *M. incognita*. Para obtenção do extrato foi usado 1g de sementes de mamão secas e trituradas em 10 mL de água fervente e filtradas após 24 horas de infusão. O experimento para a avaliação da eclosão dos juvenis foi montado em placas de Petri, onde foram depositados 2,0 mL do extrato e 1,0 mL de suspensão aquosa com

aproximadamente 200 ovos de *M. javanica* ou *M. incognita*. Os ovos foram incubados a 26°C em placas de Petri em recipiente fechado durante 16 dias. Para avaliação das atividades nematostática e nematicida do extrato sobre juvenis foram depositados, em placas de Petri, 1,0 mL de suspensão aquosa com aproximadamente 100 juvenis de *M. incognita* ou *M. javanica* e 2,0 mL do extrato. Os juvenis em solução de extrato e em água destilada foram incubados a 26°C em placas de Petri em recipiente fechado. Decorridas 24 horas, as porcentagens de juvenis ativos e inativos foram determinadas. Os juvenis foram enxaguados em peneira de 0,025 mm após a contagem e colocados em água por mais 24 horas antes de se avaliar a porcentagem de juvenis vivos e mortos. Para os dois experimentos água destilada foi usada como testemunha. Os experimentos foram feitos com cinco repetições por tratamento. O extrato de semente de mamão reduziu a eclosão de *M. javanica* em 95,3% e de *M. incognita* em 99,3% em relação à testemunha. Todos os juvenis de *M. javanica* e de *M. incognita* foram mortos pelo extrato.

Palavras-chave: *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*, juvenis, eclosão, nematostática, nematicida.

Summary — Neves, W.S.; L.G. Freitas; M.M. Coutinho; R. Dallemole-Giaretta & S. Ferraz. 2006. Effect of the extract of papaya seeds on *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* egg hatching and juvenile inactivation.

The effect of the extract of papaya seeds on *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* egg hatching and second-stage juvenile inactivation and death were evaluated *in vitro*. In order to obtain the extract, 1 g of ground dry seeds was placed in 10 mL of filtered-boiling water for 24 hours. The egg hatch test was conducted in Petri dishes, where 2.0 mL of the extract and 1.0 mL of aqueous suspension with approximately 2000 eggs of

M. javanica or *M. incognita* were placed. The eggs were incubated at 26°C in Petri dishes in a sealed container for 16 days. To evaluate the nematostatic and nematicide activities of the extract on the juveniles, 1.0 mL of aqueous suspension was poured in each Petri dish with 100 juveniles of *M. incognita* or *M. javanica* and 2.0 mL of the extract. The juveniles in the extract solution or in distilled water were incubated at 26°C in Petri dishes in a sealed container. After 24 hours, the percentages of active and inactive juveniles were determined. The juveniles were washed over a 0.025 mm sieve after being counted and placed into water for 24 hours, before having the percentages of living and dead juveniles determined. Distilled water was used in both experiments as control. Each treatment had five replicates. The extract of papaya seeds reduced the egg hatching of *M. javanica* in 95.3% and of *M. incognita* in 99.3% when compared to the control. All juveniles of *M. javanica* and *M. incognita* were killed by the extract.

Keywords: *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*, juveniles, hatching, nematostatic, nematicide.

Conteúdo

Os fitonematóides causam grandes perdas na produção agrícola em todo o mundo e seu controle químico tem sido evitado devido à alta toxicidade dos nematicidas. Por esse motivo a busca por métodos alternativos de controle, como o uso de extratos de diferentes espécies e partes de plantas, têm sido cada vez mais investigados.

De acordo com Quarles (1992), extratos botânicos apresentam vantagens sobre pesticidas sintéticos, tais como: serem menos concentrados e conseqüentemente menos tóxicos, serem biodegradados rapidamente, possuírem um amplo modo de ação e serem derivados de recursos renováveis.

Vários pesquisadores têm descrito o efeito de extratos botânicos sobre os fitonematóides e algumas plantas têm apresentado um grande potencial como matéria prima para a produção de nematicidas naturais (Lewis & Papavizas, 1971; Mayton, *et al.*, 1996; Lazzeri *et al.*, 1993; Ferris & Zheng, 1999).

A decomposição de certos materiais orgânicos libera compostos tóxicos com comprovado efeito nematicida. Espécies de brássicas liberam os glicosinolatos incluindo isotiocianatos, nitrilas e tiocianatos (Mayton *et al.*, 1996; Mithen, 2001; Wittstock and Halkier, 2002). O alil isotiocianato é um composto volátil tóxico para fungos e o composto metil isotiocianato é ingrediente ativo de fumigantes comerciais de solo (Lewis & Papavizas, 1971). Esse composto apresentou 100% de eficiência no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro cultivado em vasos, em casa de vegetação, o que comprova também sua ação nematicida (Neves, 2003). Sementes de mamão, *Carica papaya* L. (Caricaceae), contém benzyl-glicosinolato que dá origem ao benzyl-isothiocianato (Dar *et al.*, 1965; Tang *et al.* 1972; Kermanshai *et al.*, 2001) com comprovada ação anti-helmíntica. Essas sementes vêm sendo usada como vermífugo há séculos na medicina popular nos mais diversos lugares, como Índia e países das Américas do Sul e Central (Roig & Mesa, 1974; Lal *et al.*, 1976; Werner, 1992). Assim sendo, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito *in vitro* de extrato de sementes de mamão sobre a eclosão e a inativação de juvenis de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

As sementes de mamão foram colocadas, por 36 horas, em estufa com temperatura ajustada em 60°C e, posteriormente, trituradas em multiprocessador por aproximadamente 10 segundos. Para obtenção do extrato foi usado 1g de sementes de mamão secas e trituradas em 10 mL de água fervente, seguida da filtragem do extrato após 24 horas de infusão. Os ovos de *M. javanica* e *M. incognita* foram obtidos à partir de tomateiro Santa Cruz ‘Kada’, mantido em casa de vegetação, e extraídos conforme a

metodologia proposta por Hussey e Barker, adaptada por Boneti & Ferraz (1981), e contados com o auxílio de câmara de Peters em microscópio estereoscópio.

O experimento para avaliação do efeito do extrato sobre a eclosão dos juvenis foi montado em placas de Petri com 5 cm de diâmetro, onde foram depositados 2 mL do extrato e 1,0 mL de suspensão aquosa com, aproximadamente, 200 ovos de *M. javanica* ou *M. incognita*. Placas com água destilada foram usadas como testemunha. Foram feitas cinco repetições para cada tratamento. Os ovos em solução de extrato foram incubados a 26°C em recipiente fechado durante 16 dias. Decorrido esse período, contou-se o número de juvenis eclodidos e de ovos remanescentes com o auxílio de microscópio estereoscópio, calculando-se a porcentagem de eclosão de juvenis de acordo com a fórmula:

Porcentagem de eclosão = [número de juvenis/(número de juvenis + número de ovos)] x 100.

No experimento em que foi avaliada a atividade nematicida do extrato de sementes de mamão sobre os juvenis de *M. javanica* e *M. incognita*, utilizaram-se placas de petri de 5 cm de diâmetro, adicionadas de 2,0 mL da solução teste e 1,0 mL de suspensão contendo, em média, 300 juvenis de *M. javanica* ou *M. incognita*, com auxílio de pipeta semi-automática. As placas foram colocadas em incubadora a 26°C no escuro. A avaliação foi feita 24 horas após a montagem do experimento, determinando-se a porcentagem de juvenis móveis e imóveis. Após a avaliação, cada suspensão contendo os extratos e os juvenis foram vertidos cuidadosamente sobre peneira de 0,025 mm de abertura (500 mesh). Os juvenis foram lavados com água corrente e, com o auxílio de uma piseta contendo água, foram transferidos novamente para as placas de Petri e deixados em repouso por mais 24 horas, após o que, foi avaliada a porcentagem de recuperação dos nematóides para averiguar a atividade nematicida dos extratos.

Os experimentos foram montados em delineamentos inteiramente casualizados. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste F a 5 % de probabilidade.

Decorridos 16 dias da montagem do experimento, a taxa de eclosão de juvenis de *M. javanica* e *M. incognita* na presença do extrato de semente de mamão foi de 1,1% e 0,4%, respectivamente, o que mostra uma redução significativa em relação à testemunha que apresentou 52,0% e 36% de juvenis de *M. incognita* e *M. javanica* eclodidos, respectivamente. Esse resultado significa uma redução na eclosão dos juvenis de *M. javanica* em 96,8% e de *M. incognita* em 99,3% em relação à testemunha (Tabela 1).

O extrato de semente de mamão apresentou 100% de eficiência na inativação e morte de juvenis de *M. javanica* e de *M. incognita* (Tabela 1). Taxas de mortalidade de 6,8% e 8,6% dos juvenis de *M. javanica* e de *M. incognita*, foram observadas no tratamento testemunha, respectivamente. O efeito nematostático de alguns extratos não implica que eles tenham também efeito nematicida (Dias *et al.*, 2000 e Ferris & Zheng, 1999), o que demonstra a importância do estudo da taxa de recuperação dos juvenis em água.

O alil isotiocianato é um glicosinolato, predominante em algumas espécies de brássicas, tóxico a alguns fitopatógenos (Mayton *et al.*, 1996). De fato, Lazzeri *et al.* (1993) já haviam investigado o efeito de glicosinolatos e de seus produtos sobre o nematóide *Heterodera schachtii*, observando que alil isotiocianato causou a morte de 100% dos nematóides após 96 horas de exposição ao produto, *in vitro*. Foi observado por Gonçalves *et al.* (2000) que óleo essencial de frutos de feijão bravo, *Capparis flexuosa*, rico em glicosinolatos, inativou 97,3% dos juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, *in vitro*. O óleo de mostarda e dois produtos a base de alil isotiocianato

também resultaram em 100% de mortalidade de juvenis de *M. javanica*, *in vitro* e reduziram a eclosão dos juvenis em até 80% (Neves, 2003).

Nesse estudo constatou-se que o extrato de semente de mamão é muito eficiente para inibir a eclosão de juvenis e pode causar a morte de 100% destes, sendo o uso de produtos à base de sementes de mamão, no controle do nematóide das galhas, *M. javanica* e *M. incognita*, bastante promissor.

Referências Bibliográficas

- BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6: 553.
- DAR, R.N.; GARG, L.C. & PATHAK, R.D. 1965. Anthelmintic activity of *Caryca papaya* seeds. Indian Journal of Pharmacy, 27: 335-336.
- DIAS, C.R.; SCHWAN, A.V.; EZEQUIEL, D.P.; SARMENTO, M.C. & FERRAZ, S. 2000. Avaliação de extratos aquosos de plantas medicinais sobre a sobrevivência de *Meloidogyne incognita*. Nematologia Brasileira, 24(2): 203-210.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- FERRIS, H. & ZHENG, L. 1999. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology, 31(3): 241-263.
- GONÇALVES, F.J.T.; FREIRE, F.C.O. & NETO, M.A. 2000. Atividade antagonística do óleo essencial dos frutos de *Capparis Flexuosa* (Capparaceae) em ovos e juvenis de *Meloidogyne incognita*. I Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais, 35 (resumo). Fortaleza
- HUSSEY, R.S. 1985. Host-parasite relationship and associated physiological changes. In: J.N. SASSER & C. C. CARTER, eds. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. I: Biology and control. North Carolina State University Graphics. Raleigh, p.143-153.
- KERMANSHAI, R.; MCCARRY, B.E.; ROSENFELD, J.; SUMMERS, P.S.; WERETILNYK, E.A. & SORGER, G.J. 2001. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. Phytochemistry, 57: 427-435.

- LAL, J.; CHANDRA, S.; RAVIPRKASH, V. & SABIR, M. 1976. *In vitro* anthelmintic action of some indigenous medicinal plantas on *Ascaridia gali* worms. Indian Journal of Physiology and Pharmacology, 20: 64-68.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. Journal Agric. Food Chemical, 41:825-829.
- LEWIS, J. A. & PAPAVIDAS, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. Phytopathology, 61: 208-214.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. Phytopathology, 86: 267-271.
- MITHEN, R.F., 2001. Glucosinolates and their degradation products. Advances in Botanical Research, 35: 213–262.
- NEVES, W.S. 2003. Atividade nematicida de extratos de pimenta malagueta, mostarda e alho sobre *Meloidogyne javanica* (Tese de Mestrado). Viçosa-MG, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 73p.
- QUARLES, W. 1992. Botanical pesticides from *Chenopodium*. IPM Practitioner, 14(2): 1-11.
- ROIG & MESA, J.T. 1974. Plantas Medicinales Aromaticas o Venenosas de Cuba. Ciencia Y Tecnica. Instituto del Libro, La Habana.
- WERNER, D. 1992. Where there is no doctor. Hesperian foundation, Palo Alto, CA.
- WITTSTOCK, U.& HALKIER, B.A., 2002. Glucosinolate research in the *Arabidopsis era*. Trends in Plant Science, 7: 263–270.

Tabela 1: Percentuais de mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) após a exposição de ovos de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* ao extrato de semente de mamão.

	<i>M. incognita</i>		<i>M. javanica</i>	
	Testemunha	Extrato	Testemunha	Extrato
J2 Eclodidos (%)	52a*	0,4b	36a	1,12b
Mortalidade de J2 (%)	8,6a	100b	6,8a	100b

*Letras diferentes, nas linhas, indicam significância ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

CAPÍTULO 4

Uso de Farinha de semente de mamão para o Controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*

WÂNIA DOS SANTOS NEVES*, LEANDRO GRASSI DE FREITAS, MARCELO
MAGALHÃES COUTINHO, ROSANGELA DALLEMOLE-GIARETTA &
SILAMAR FERRAZ

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a UFV.

Apoio financeiro: CNPq

Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG.

CEP 36571-000

E-mail: wanciasantosneves@yahoo.com.br

Resumo –Neves, W.S; Freitas, L.G.; Dallemole-Giaretta, R.; Coutinho, M.M. & Ferraz, S. 2007. Uso de farinha de semente de mamão para o controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*.

A incorporação ao solo de farinha de semente de mamão, com ou sem solarização, foi avaliada como método de controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em casa de vegetação. Mudanças de tomate com 20 dias de idade foram transplantadas para vasos contendo mistura de solo e areia na proporção 1:1 (v:v). Dois dias após o transplante, o solo foi infestado com 5000 ovos do nematóide. Decorridos 60 dias para a multiplicação do nematóide, as plantas foram retiradas e o solo proveniente de todos os vasos foi misturado em betoneira para homogeneizar a distribuição dos nematóides. O pó de mamão foi preparado triturando-se sementes secas de mamão em multiprocessador. A cada litro de solo foram incorporadas 100 gramas de pó de sementes de mamão e a

mistura foi redistribuída em vasos que foram envoltos com plástico polietileno transparente por 30 dias. Após 24 horas da retirada do plástico, plantou-se uma muda de tomate por vaso. Os tratamentos constaram de incorporação de material vegetal com ou sem cobertura com plástico. No tratamento testemunha foi feito pousio do solo durante 30 dias. Após 60 dias foi avaliado o peso das raízes, o peso da parte aérea e a altura das plantas, o número de galhas e de ovos por sistema radicular. A incorporação da farinha de semente de mamão ao solo resultou em até 100% de controle dos nematóides em relação ao número de galhas e de ovos por sistema radicular para as duas espécies de nematóides. A altura e o peso da parte aérea das plantas, bem como o peso radicular foram superiores nos tratamentos onde foi incorporada ao solo a farinha de semente de mamão, independente da cobertura com o plástico.

Palavras-chave: *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*, biofumigação, sementes, mamão

Summary – Neves, W.S; Freitas, L.G.; Giaretta-Dallemole, R.G.; Coutinho, M.M. & Ferraz, S. 2007. The use of papaya-seed flour for the control of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*.

The incorporation of papaya-seed flour into the soil, with or without solarization, was evaluated, in a greenhouse experiment, as a method for controlling *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. Twenty-day-old tomato seedlings were transplanted to pots containing a mixture of soil and sand at the proportion of 1:1 (v:v). After 2 days, the soil was infested with 5,000 eggs of one of the nematodes. After allowing 60 days for the nematode rearing, the whole plants were pulled out from the pots, and the substrates were mixed in a concrete mixer machine to homogenize the nematode distribution, and replaced into the pots. The papaya seed flour was made by grinding dry seeds of papaya in a multiprocessor. The papaya seed (100 g) were added into 1 L of soil, the mixture

was replaced into the pots and that were subsequently covered with transparent polyethylene sheet for 30 days to trap any volatiles produced. One tomato seedling was transplanted per pot 24 hours after plastic removal. Fallow was done in the control treatment. The numbers of galls and eggs per root system and the weight and height of the shoot were evaluated 60 days after the transplanting. The incorporation of the papaya-seed resulted in 100% control, measured as the number of galls and eggs per root system for both nematode species. The height and weight of the aerial parts of the plants as well as root weight were higher in the treatments where the papaya-seed was incorporated, independently of the plastic cover.

Key words – *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*, biofumigation, seeds, papaya.

Introdução

A crescente importância dos fitonematóides na agricultura e seu difícil manejo, principalmente devido à toxicidade dos nematicidas químicos, faz com que haja uma busca cada vez maior por alternativas para o controle de nematóides que sejam, ao mesmo tempo, baratas, eficientes e ecologicamente aceitáveis.

Segundo Katan & De Vay (1991), a cobertura do solo com plástico transparente (solarização), além de matar nematóides pelo calor, induz processos microbianos que promovem a supressividade do solo. A combinação da solarização com a biofumigação, que consiste na produção de gases tóxicos durante a decomposição de certos materiais orgânicos, faz com que o controle de patógenos do solo se torne mais eficiente (Stapleton & De Van, 1995). O alil isotiocianato é um composto volátil tóxico para fungos e nematóides (Neves et al., 2003; Lewis & Papavizas, 1971). Segundo Neves *et*

al. (2003), experimentos em casa de vegetação com esse composto promoveram 100% de eficiência no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. Sementes de mamão, *Carica papaya* L. (Caricaceae), contém glucosinolatos que dão origem a benzil-isotiocianato (Dar et al, 1965; Tang et al., 1972; Kermanshai et al., 2001) e têm ação anti-helmíntica comprovada, sendo usada como vermífugo na medicina popular (Roig & Mesa, 1974; Lal et al., 1976; Werner, 1992). O efeito anti-helmíntico da semente de mamão tem sido comprovado em testes *in vitro* em animais infectados (Krishnakumari e Majumder, 1960; Dar et al., 1965; Lal et al., 1976). Neves et al. (2005a) estudaram a atividade de extrato aquoso de sementes de mamão sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* em testes realizados *in vitro* e constataram redução na eclosão de *M. javanica* em 95,3% e de *M. incognita* em 99,3%. Em outro trabalho, Neves et al. (2005b) estudaram o efeito nematostático e nematicida de sementes de mamão sobre *M. javanica* e *M. incognita* e relataram que houve 100% de eficiência na morte de juvenis de ambas as espécies do nematóide, demonstrando que esse material pode ser uma eficiente opção de controle de nematóides no solo.

Assim sendo, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da incorporação de sementes de mamão, secas e moídas, com e sem cobertura com filme plástico transparente, para o controle dos nematóides *M. incognita* e *M. javanica*, em casa de vegetação.

Material e Métodos

Os nematóides *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* foram multiplicados e mantidos em raízes de tomateiro cv. Santa Clara, em casa de vegetação. O substrato empregado para plantio do tomateiro foi composto de solo e areia na proporção 1:1 (v:v) e a mistura tratada com brometo de metila.

Mudas de tomateiro cv. Santa Clara com 20 dias de idade foram transplantadas para vasos plásticos contendo 4 L do substrato. Dois dias após o transplântio das mudas, o solo de cada vaso foi infestado com 5.000 ovos *M. javanica* ou *M. incognita* provenientes de uma população pura, previamente confirmada por eletroforese. Durante a condução dos tomateiros foram feitas irrigações diárias e adubações quinzenais em cobertura com N, P, K e micronutrientes.

As sementes de mamão foram separadas da polpa dos frutos, lavadas e secas em estufas por 36 horas a, aproximadamente, 60°C. Após a secagem, as sementes foram trituradas em multiprocessador obtendo-se uma farinha, e esta foi armazenada em local seco e ventilado até sua utilização nos experimentos.

Em vasos de plástico de 1 L de capacidade foi colocada a mistura de solo argiloso e areia, na proporção de 1:1 (v: v), previamente peneirados e tratados com brometo de metila. O substrato de cada vaso foi infestado com uma suspensão de 5000 ovos de *M. javanica* ou de *M. incognita*, obtidos de raízes de tomateiro pela extração segundo o método de Hussey e Barker, adaptado por Boneti & Ferraz (1981). O transplântio de mudas de tomate foi feito dois dias após a infestação do solo. Para simular uma infestação natural de nematóides no campo, as plantas de tomate foram cultivadas em casa de vegetação durante três meses.

Decorrido esse período, as plantas foram retiradas e o solo foi revolvido em uma betoneira por dez minutos para homogeneização. Foram coletadas subamostras do solo, antes da biofumigação, para formar uma amostra composta da qual foi feita uma análise para quantificar os nematóides, extraídos pelo método de flotação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1964). O solo foi colocado novamente nos vasos e 100 g do pó de SM foram incorporados, o que corresponde à concentração de 10%. O solo foi molhado até próximo à capacidade de campo e coberto com plástico de polietileno transparente com espessura de 100µm. Um tratamento com solo infestado com o nematóide, sem a

incorporação da farinha e sem a cobertura com o plástico constituiu o tratamento testemunha. Após 30 dias da cobertura do solo, o plástico foi retirado e após 24 horas foi plantada uma muda de tomate de aproximadamente 20 dias de idade, em cada vaso. As plantas foram cultivadas por um período de 60 dias, recebendo os tratamentos culturais necessários.

A temperatura máxima e mínima do ambiente foi monitorada diariamente. As médias da temperatura máxima e mínima do ar no interior da casa de vegetação, durante o período da solarização e biofumigação do solo, foram de 32°C e 14°C respectivamente. O número de juvenis do solo, determinado pela extração utilizando-se o método de Jenkins (1964), foi de 170 juvenis de *M. javanica*/100 cm³ e 659 juvenis de *M. incognita*/100 cm³.

Os tratamentos foram: 1) Solo infestado com os nematóides com incorporação da farinha, sem cobertura com plástico transparente; 2) Solo infestado com incorporação da farinha, coberto com plástico transparente; 3) Solo infestado e coberto com plástico transparente; 4) Solo infestado (testemunha pousio); 5) Solo infestado com plantio contínuo de tomateiro; 6) Solo não infestado (testemunha negativa).

O peso e a altura da parte aérea das plantas, o peso dos sistemas radiculares e o número de galhas e de ovos por planta foram avaliados após 60 dias do transplante das mudas. Para a retirada dos ovos do sistema radicular, as raízes de cada planta foram agitadas manualmente em recipiente fechado com 250 mL de NaOCl na concentração de 0,5%, durante 3 minutos. A seguir, os ovos foram coletados em peneira de 0,025 mm de abertura (500 mesh) e enxaguados em água corrente e guardados em tubos plásticos armazenados na geladeira (7°C) até o momento da avaliação. Os ovos foram contados com o auxílio de câmara de Peters e microscópio estereoscópio.

Os ensaios foram montados em delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições para cada tratamento. Os dados obtidos na avaliação foram submetidos à ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

Resultados e Discussão

A biofumigação do solo com a SM (incorporação da SM + cobertura) reduziu em 100% o número de galhas (Figura 1) e de ovos (Figura 2) de *M. javanica* e de *M. incognita*. O número de galhas e de ovos no tratamento em que houve apenas a incorporação da farinha ao solo, sem a cobertura com o plástico, não diferiu estatisticamente do número de galhas e de ovos obtidos no tratamento em que foi incorporada a farinha ao solo, com posterior cobertura com o plástico. Isso possivelmente se deu devido à alta concentração de farinha no solo utilizada no experimento (100g/kg de solo), que produziu grande quantidade de gases. Em menores concentrações talvez haja necessidade de cobrir o solo para aprisionar os gases tempo suficiente para atuar sobre os nematóides.

Os glicosinolatos liberam isotiocianatos, nitrilas e tiocianatos (Mayton *et al.*, 1996; Mithen, 2001; Wittstock and Halkier, 2002) e os glicosinolatos das sementes de mamão dão origem ao benzil-isotiocianato (Dar *et al.*, 1965; Tang *et al.* 1972; Kermanshai *et al.*, 2001). Extrato de sementes de mamão causou morte de 100% de juvenis de *M. javanica* e *M. incognita* e redução na eclosão de juvenis de *M. javanica* de *M. incognita* em 95,3% e 99,3%, respectivamente, em experimento *in vitro* (Neves *et al.* 2005a, 2005b). Coimbra *et al.* (2006) também observaram 100% de imobilidade de juvenis e adultos do nematóide *Scutellonema bradys* após a exposição por 24 horas aos extratos de sementes e de folhas de mamão. Esses autores também obtiveram nesse trabalho 67,2% e 64,8% de mortalidade do nematóide exposto ao extrato de sementes e

de folhas de mamão, respectivamente. Neves (2003) e Lazzeri et al. (1993) já haviam constatado 100% de eficiência de alil-isotiocianato no controle dos nematóides *M. javanica* e *Heterodera schachtii*, respectivamente. Por esses resultados e os do presente trabalho, podemos concluir que ambos benzil e alil isotiocianatos têm grande efeito nematicida.

As plantas cultivadas em solo incorporado com farinha de semente de mamão, independente da cobertura com o plástico, tiveram peso da parte aérea, altura e peso das raízes muito superior aos demais tratamentos (Figura 3, 4 e 5). Nas plantas cultivadas em solo infestado com *M. javanica*, o tratamento apenas com incorporação de farinha proporcionou aumentos de 780%, 1682% e 84% no peso das raízes, no peso e na altura da parte aérea das plantas, respectivamente. Em solo também infestado com *M. javanica* que recebeu a farinha e a cobertura com plástico, esses ganhos foram, respectivamente, de 492%, 1284% e 88,5%, quando comparados às plantas cultivadas em solo não infestado com nematóide. Em relação ao peso da raiz e ao peso da parte aérea, as plantas do tratamento em que a farinha foi apenas incorporada apresentaram valores estatisticamente maiores em comparação ao tratamento do solo com a incorporação seguida de biofumigação. O tratamento em que o solo foi apenas solarizado, sem incorporação da farinha, não diferiu do tratamento em que o solo foi submetido a cultivos sucessivos de tomate durante todo o período do experimento e nem dos tratamentos sem nematóide e do pousio em relação ao peso da parte aérea e radicular. Já em relação à altura, as plantas do solo solarizado foram maiores que as plantas cultivadas em solo sem nematóide, pousio e plantio sucessivo de tomate.

Nas plantas cultivadas em solo infestado com *M. incognita* o tratamento em que a farinha foi apenas incorporada ao solo proporcionou um aumento de 670%, 1561% e 77% no que diz respeito ao peso radicular e ao peso e altura da parte aérea das plantas, respectivamente. No solo com incorporação da farinha seguida de biofumigação, esses

aumentos foram de 590%, 1467% e 70%, respectivamente. Em relação à altura e peso das raízes das plantas, não houve diferença estatística entre cobrir o solo com plástico transparente ou não, após a incorporação da farinha. Já em relação ao peso da parte aérea das plantas, as plantas cultivadas em solo apenas com a incorporação da farinha apresentaram peso maior que plantas cultivadas em solo incorporado com a farinha e biofumigado. Ou seja, apenas a incorporação da farinha já é suficiente para o aumento do peso e da altura das plantas, não sendo necessário a cobertura com plástico. O peso das raízes e o peso da parte aérea das plantas cultivadas em solo solarizado não diferiram estatisticamente dos tratamentos pousio, solo sem infestação de nematóides e solo cultivado com plantios sucessivos de tomate. Porém em relação à altura, as plantas cultivadas em solo solarizado apresentaram valores maiores que as plantas de tais tratamentos, sendo esse valor menor apenas nos tratamentos em que a farinha foi incorporada ao solo. Tanto para *M. javanica* quanto para *M. incognita*, os tratamentos testemunha pousio, solo sem infestação de nematóides e solo cultivado com plantios sucessivos de tomate, não diferiram estatisticamente entre si em relação ao peso das raízes e da parte aérea das plantas.

Os resultados encontrados no presente trabalho consolidam a afirmação de que a incorporação de material vegetal ao solo propicia aumento do peso das plantas, o que pode refletir em maior produtividade da cultura. Nos resultados obtidos por Blum *et al.* (2003) os autores observaram que incorporação de cama aviária e, em menor intensidade, de casca de pinus, melhoram as propriedades físicas e químicas do solo, favorecendo assim a emergência e o desenvolvimento inicial de cucurbitáceas como a moranga e o pepino, o que pode ocasionar aumentos na produtividade. No trabalho realizado por Demétrio *et al.* (1997), a incorporação de feijão-bravo, *Capparis flexuosa*, ao solo proporcionou valores de produção de matéria seca de milho superiores aos obtidos com a aplicação de nitrogênio ao solo. Nesse trabalho os autores demonstram

que o acúmulo de N no tecido do milho nos tratamentos com incorporação de feijão-bravo, foi semelhante à quantidade de N acumulada no tratamento com aplicação exclusiva de N, mostrando a eficiência no fornecimento de N pela incorporação de material vegetal ao solo, mesmo para cultura de ciclo curto.

Nesse trabalho podemos concluir que tanto a biofumigação do solo com farinha de semente de mamão como a simples incorporação desse material resultaram em um controle altamente eficiente de *M. javanica* e *M. incognita*, além de promover o crescimento das plantas tanto em relação ao peso das raízes como também em relação ao peso da parte aérea e altura das plantas. Pelos valores encontrados no presente trabalho, essa promoção do crescimento das plantas por si só já é suficiente para que o uso da semente de mamão incorporada ao solo seja altamente promissor como condicionador de solo. Além desse fato, pelo controle do nematóide observado nesse estudo, o uso da semente de mamão se pode ser indicado como produto alternativo eficiente e promissor na agricultura, principalmente no contexto de agricultura familiar, sustentável e orgânica.

Referências Bibliográficas

- BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 6 (suplemento): 553 (resumo).
- BLUM, L.E.B.; AMARANTE, C.V.T.; GÜTTLER, G.; MACEDO, A. F.; KOTHE, D.; SIMMLER, A.; PRADO, G. & GUIMARÃES, L. 2003. Produção de moranga e pepino em solo com incorporação de cama aviária e casca de pinus. Horticultura Brasileira, 21(4): 627-631.
- COIMBRA, J.L.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M.S.; SOUSA, C.S. & RIBEIRO, F.L.B. 2006. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41(7): 1209-1211.
- DAR, R.N.; GARG, L.C.; PATHAK, R.D. 1965. Anthelmintic activity of *Caryca papaya* seeds. Indian Journal of Pharmacy, 27: 335-336.

- DEMÉTRIO, R.; GUERRA, J.G.M.; SANTOS, G. de A.; DEJAIR LOPES de ALMEIDA, D.L.; POLLI, H. & CAMARGO, F.A.O. 1997. Absorção de nitrogênio do solo pelo milho influenciada pela adição de diferentes resíduos de culturas.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- HUSSEY, R.S. 1985. Host-parasite relationship and associated physiological changes. In: J.N. SASSER & C. C. CARTER, eds. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Biology and control. North Carolina State University Graphics. Raleigh, 1: 143-153.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48: 692.
- KATAN, J. & De VAY. 1991. Soil solarization. Boca Raton: CRC Press, 267p.
- KERMANSHAI, R.; MCCARRY, B.E.; ROSENFELD, J.; SUMMERS, P.S.; WERETILNYK, E.A. & SORGER, G.J. 2001. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. *Phytochemistry*, 57: 427-435.
- KRISHNAKUMARI, M.K. & MAJUMDER, S.K. 1960. Studies on anthelmintic activities of seeds of *Carica papaya* Linn. *Annals of Biochemistry and Experimental Medicine*, 20: 551-556.
- LAL, J.; CHANDRA, S.; RAVIPRakash, V. & SABIR, M. 1976. *In vitro* anthelmintic action of some indigenous medicinal plants on *Ascaridia gali* worms. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 20: 64-68.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. *Journal Agricultural Food Chemical*, 41: 825-829.
- LEWIS, J. A. & PAPAVIDAS, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology*, 61: 208-214.
- MITHEN, R.F., 2001. Glucosinolates and their degradation products. *Advances in Botanical Research*, 35: 213-262.
- NEVES, W.S.; COUTINHO, M.M.; ZOOCA, R.J.F.; DALLEMOLE-GIARETTA, R. & FREITAS, L.G. 2005a. Inibição da eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* por extrato aquoso de sementes de mamão. In: XXXIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Brasília-DF. *Fitopatologia Brasileira*, 32 (Suplemento).
- NEVES, W.S.; COUTINHO, M.M.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R.J.F.; FREITAS, L.G. & FABRY, C.F.S. 2005b. Atividade nematicida de extratos de semente de mamão sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. In: XXXIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Brasília-DF. *Fitopatologia Brasileira*, 32 (Suplemento).

- NEVES, W.S. 2003. Atividade nematicida de extratos de pimenta malagueta, mostarda e alho sobre *Meloidogyne javanica* (Tese de Mestrado). Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.
- ROIG & MESA, J.T. 1974. Plantas Medicinales Aromaticas o Venenosas de Cuba. Ciencia Y Tecnica. Instituto del Libro, La Habana.
- STAPLETON, J.J. & De VAY, J.E. 1995. A soil solarization: a natural mechanism of integrated pest management. In: Reuveni, R. (Ed). Novel approaches in integrated pest management. Boca Raton: Lewis, p.309-322.
- WERNER, D. 1992. Where there is no doctor. Hesperian foundation, Palo Alto, CA.
- WITTSTOCK, U.& HALKIER, B.A., 2002. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. Trends in Plant Science, 7: 263–270.

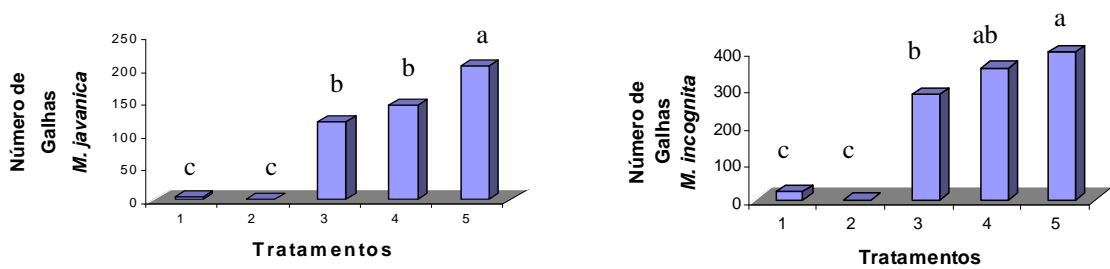


Figura 1: Número de Galhas por Sistema Radicular de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, submetido a diferentes tratamentos

- 1 - Incorporação de farinha de semente de mamão, sem cobertura com plástico transparente
- 2 - Biofumigação com farinha de semente de mamão (incorporação + cobertura com plástico)
- 3 - Solarização do solo
- 4 - Testemunha pousio
- 5 - Plantio contínuo de tomateiro

Barras com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

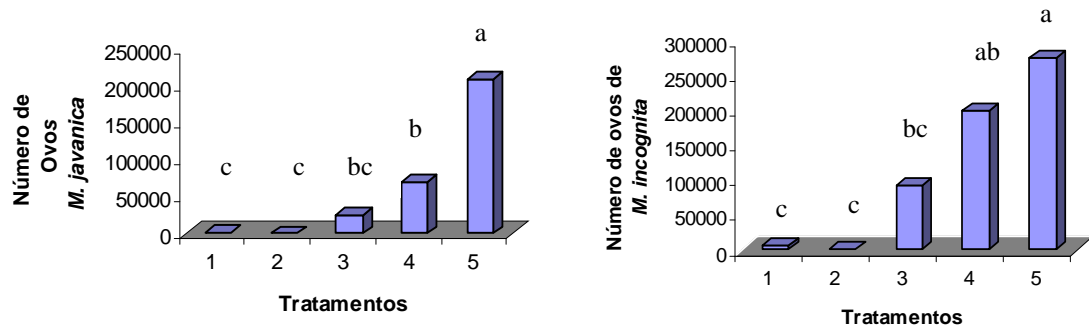


Figura 2: Número de Ovos por Sistema Radicular de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, submetido a diferentes tratamentos

- 1 - Incorporação de farinha de semente de mamão, sem cobertura com plástico transparente
- 2 - Biofumigação com farinha de semente de mamão (incorporação + cobertura com plástico)
- 3 - Solarização do solo
- 4 - Testemunha pousio
- 5 - Plantio contínuo de tomateiro

Barras com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

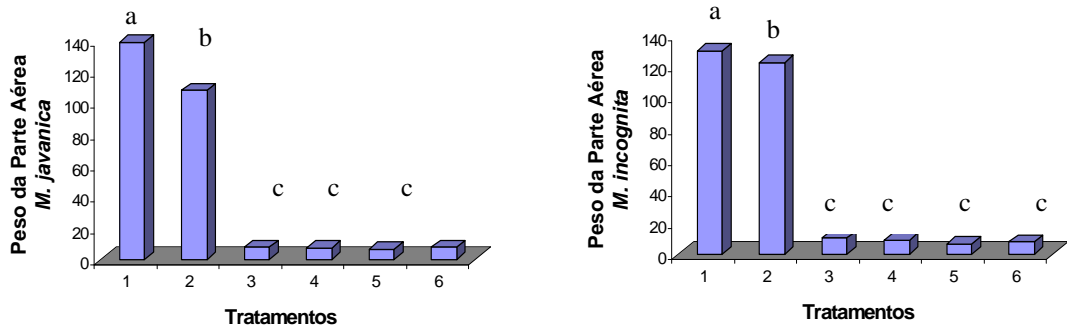


Figura 3: Peso da parte aérea de plantas (g) cultivadas em solo infestado com nematóides, submetido a diferentes tratamentos

- 1 - Incorporação de farinha de semente de mamão, sem cobertura com plástico transparente
- 2 - Biofumigação com farinha de semente de mamão (incorporação + cobertura com plástico)
- 3 - Solarização do solo
- 4 - Testemunha pousio
- 5 - Plantio contínuo de tomateiro
- 6 - Solo não infestado com nematóide

Barras com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

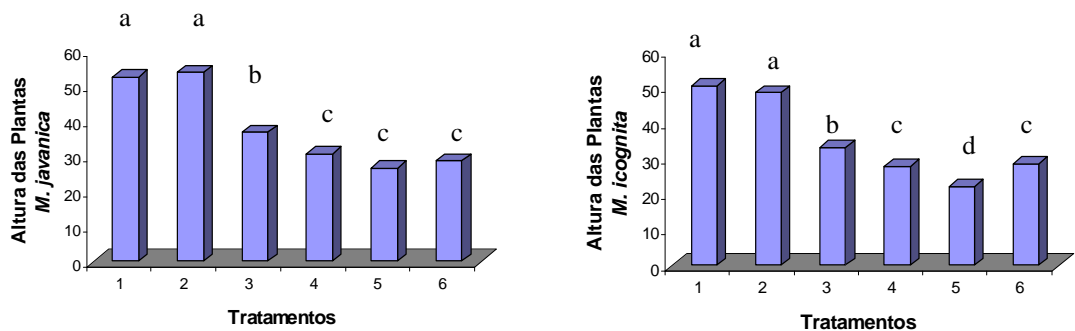


Figura 4: Altura das plantas (cm) cultivadas em solo infestado com nematóides, submetido a diferentes tratamentos

- 1 - Incorporação de farinha de semente de mamão, sem cobertura com plástico transparente
- 2 - Biofumigação com farinha de semente de mamão (incorporação + cobertura com plástico)
- 3 - Solarização do solo
- 4 - Testemunha pousio
- 5 - Plantio contínuo de tomateiro
- 6 - Solo não infestado com nematóide

Barras com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

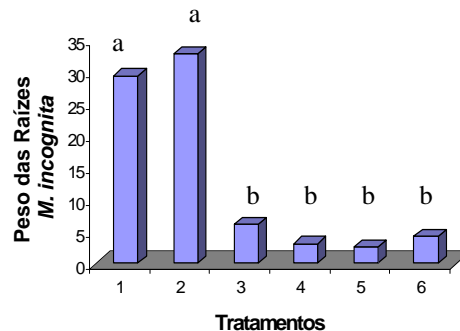
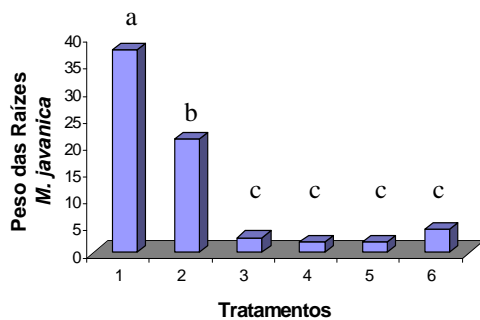


Figura 5: Peso do sistema radicular (g) de plantas cultivadas em solo infestado com nematóides, submetido a diferentes tratamentos

- 1 - Incorporação de farinha de semente de mamão, sem cobertura com plástico transparente
- 2 - Biofumigação com farinha de semente de mamão (incorporação + cobertura com plástico)
- 3 - Solarização do solo
- 4 - Testemunha pousio
- 5 - Plantio contínuo de tomateiro
- 6 - Solo não infestado com nematóide

Barras com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

CAPÍTULO 5

Incorporação de farinha de semente de mamão ao solo, em diferentes doses, para o controle de *Meloidogyne javanica*

WÂNIA DOS SANTOS NEVES^{(1)*}, LEANDRO GRASSI DE FREITAS⁽¹⁾,
ROSANGELA DALLEMOLE-GIARETTA⁽¹⁾, MARCELO MAGALHÃES
COUTINHO⁽¹⁾, VANESSA SABIONI DE ALMEIDA⁽¹⁾ e SILAMAR FERRAZ⁽¹⁾

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a UFV

Apoio financeiro: CNPq

⁽¹⁾Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. CEP
36571-000

E-mail: waniasantosneves@yahoo.com.br

Incorporação de farinha de semente de mamão ao solo, em diferentes doses, para o controle de *Meloidogyne javanica*

Resumo – Esse trabalho avaliou a incorporação ao solo de farinha de semente de mamão em diferentes doses para o controle de *Meloidogyne javanica*. Mudanças de tomate foram transplantadas para vasos de 1 litro de capacidade contendo solo e areia (1:1, v:v) e, dois dias depois, o solo de cada vaso foi infestado com 5000 ovos do nematóide. Após 60 dias, as plantas foram retiradas e o solo misturado em betoneira para homogeneizar a distribuição dos nematóides. Para cada litro de solo foram incorporadas doses de 1 a 10% de farinha e a mistura foi redistribuída nos vasos. Decorridos 30 dias, uma muda de tomate foi plantada por vaso. A incorporação de sementes moídas de mamão reduziu o número de galhas em até 100%. Todas as doses de sementes de mamão resultaram em aumento do peso da parte aérea das plantas quando comparados à

testemunha. Apenas a dose de 1% de semente de mamão incorporada ao solo não resultou em aumento do peso do sistema radicular das plantas quando comparadas à testemunha. A altura das plantas cultivadas em solo incorporado com todas as doses testadas, com exceção de 1% e 2%, foram superiores a da testemunha.

Termos para Indexação: *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, biofumigação, sementes, mamão.

Soil amendment with papaya-seed flour to control of *Meloidogyne javanica*.

Summary - This study evaluated the incorporation of papaya-seed flour at different doses for the control of *Meloidogyne javanica*. Tomato plants were transplanted to 1 liter pots, containing soil and sand (1:1, v:v), and two days later, the soil of each pot was infested with 5,000 eggs of the nematode. After 60 days, the plants were taken out and the soil was mixed in a concrete mixer to homogenize nematode distribution. For each liter of soil, different doses (1-10%) of the flour were incorporated and then redistributed into the pots. Thirty days after, one tomato seedling was planted per pot and the plants were conducted for x days. The incorporation of ground completely prevented the formation of root galls. All doses of papaya seeds resulted in increased shoot weight when compared to the control. The dose of 1% did not result in increases of weight of the root system of the plants when compared to the control. The height of the plants cultivated in incorporated soil with all the doses tested, except those of 1% and 2%, were larger than the ones of the control.

Index terms – *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, seeds, papaya.

Introdução

Um dos métodos alternativos para o controle de nematóides bastante estudado atualmente é a incorporação de matéria orgânica ao solo, que pode atuar alterando a composição da sua microbiota e produzindo gases letais a patógenos (Stapleton, *et al.*, 2000). O efeito anti-helmíntico da semente de mamão tem sido comprovado em testes *in vitro* e em animais (Krishnakumari e Majumder, 1960; Dar *et al.*, 1965; Lal *et al.*, 1976). Sementes de mamão (*Carica papaya* L. (Caricaceae)) contêm glicosinolatos que dão origem a isotiocianatos (Dar *et al.*, 1965; Mayton *et al.*, 1996; Kermanshai *et al.*, 2001). Neves *et al.* (2005a) estudaram a atividade de extrato aquoso de sementes de mamão sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* em testes realizados *in vitro* e constataram redução na eclosão de *M. javanica* em 95,3% e de *M. incognita* em 99,3%. Em outro trabalho, Neves *et al.* (2005b) também estudaram o efeito nematostático e nematicida de sementes de mamão sobre *M. javanica* e *M. incognita* e relataram que houve 100% de eficiência na morte de juvenis de ambas as espécies do nematóide, demonstrando que a semente de mamão pode ser eficiente opção de controle desses organismos.

O objetivo do trabalho foi avaliar a incorporação da farinha de semente de mamão ao solo, em diferentes concentrações, para o controle de *Meloidogyne javanica* em casa de vegetação.

Material e Métodos

O nematóide *Meloidogyne javanica* foi multiplicado e mantido em raízes de tomateiro cv. Santa Clara, em casa de vegetação. A extração de ovos foi feita pelo método de Hussey e Barker modificado por Boneti & Ferraz (1981). Para a utilização

como inóculo, as concentrações de ovos foram ajustadas com o auxílio da câmara de Peters em microscópio estereoscópico.

As sementes de mamão foram colocadas para secar ao sol sobre superfície de cimento por aproximadamente 15 dias. Durante a noite, as sementes foram cobertas com lona plástica para evitar que adquirissem umidade por sereno ou chuva. Após a secagem as sementes foram trituradas em multiprocessador, obtendo-se uma farinha, que foi armazenada, em local seco e ventilado, até sua utilização nos experimentos.

Para simular uma infestação natural de nematóides no campo, plantas de tomate foram cultivadas em casa de vegetação durante dois meses. As mudas de tomates foram transplantadas para vasos de plástico de 1 litro de capacidade onde foi colocada uma mistura de solo argiloso e areia, na proporção de 1:1 (v: v), previamente peneirados e tratados com brometo de metila. Dois dias após o transplântio das mudas, o solo de cada vaso foi infestado com uma suspensão de 5000 ovos de *M. javanica*. Decorrido o período de dois meses, as plantas foram retiradas e o solo foi revolvido em uma betoneira por dez minutos para sua homogeneização. Foram coletadas subamostras do solo, antes da incorporação das sementes, para formar uma amostra composta com a qual foi feita a quantificação dos nematóides presentes, através do método da flotação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1964). O solo foi colocado novamente nos vasos e a semente moída de mamão foi incorporada, em diferentes doses.

As doses de semente de mamão usadas no experimento foram: 0% (testemuha), 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% e 10% de sementes em relação ao volume de solo (p:v). Foi adicionado também, um tratamento sem a infestação com nematóide, visando comparações com os demais tratamentos em relação à altura, peso da parte aérea e peso das raízes das plantas. As temperaturas máxima e mínima do ambiente foram monitoradas diariamente (durante o período de pousio do solo incorporado com sementes de mamão) e as médias máxima e mínima no interior da casa de vegetação foram de

35°C e 14°C respectivamente. A extração dos juvenis do solo pelo método de Jenkins (1964) resultou na média de 415 juvenis de *M. javanica*/100cm³ de solo, o que representa 4150 J2/vaso.

Durante trinta dias o solo foi mantido em vasos sem a presença de plantas e irrigado sempre que necessário. Decorrido esse período, foi plantada uma muda de tomate de aproximadamente 20 dias de idade, em cada vaso. As plantas foram cultivadas por um período de 60 dias, recebendo os tratos culturais necessários.

Foram avaliados o peso e a altura da parte aérea das plantas, o peso das raízes e o número de galhas e de ovos por planta. Para a retirada dos ovos do sistema radicular, as raízes de cada planta foram agitadas manualmente em NaOCl na concentração de 0,5%, durante 3 minutos. A seguir, os ovos foram coletados em peneira de 0,025 mm de abertura (500 mesh), enxaguados em água corrente e guardados em tubos plásticos na geladeira (7°C) até o momento da avaliação. Os ovos foram contados com o auxílio de câmara de Peters e microscópio estereoscópio.

O período do experimento foi de setembro de 2006 a janeiro de 2007, em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia, no campus da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. O experimento foi montado em delineamentos inteiramente casualizado, com oito repetições para cada tratamento. Os dados obtidos na avaliação foram analisados utilizando-se o pacote Statistica (Statsoft, 1998) e submetidos à análise de variância e de regressão, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A incorporação das sementes de mamão ao solo resultou em até 100% de redução do número de galhas de *M. javanica*, quando comparado com a testemunha. Todas as doses testadas diferiram estatisticamente da testemunha e não diferiram entre si, em relação à redução do número de galhas de *M. javanica* por sistema radicular do tomateiro (Figura 1). A testemunha resultou no número médio de 193 galhas por sistema radicular, enquanto que a maior média obtida nos demais tratamentos foi de 24 galhas por sistema radicular de plantas cultivadas em solo em que foram incorporados 4% de sementes de mamão, porém esse valor não diferiu estatisticamente dos tratamentos em que não foi encontrada nenhuma galha por planta. Mesmo em doses baixas, como a 1%, a incorporação de sementes de mamão ao solo foi eficiente em reduzir o número de galhas causadas pelo nematóide. Com esse resultado, evidencia-se que o uso da semente de mamão em grandes aéreas pode ser viável.

Resultados satisfatórios com a incorporação de matéria orgânica ao solo para o controle de nematóides, também foram obtidos por outros autores. Papavizas (1966 e 1967) observou considerável redução de *Aphanomyces euteicles*, causador da podridão de raiz, em ervilha, quando foram incorporados ao solo em casa de vegetação folhas e talos de crucíferas, tais como, repolho, mostarda, couve e nabo. Segundo Mayton *et al.* (1996) os compostos sulfurosos liberados pela decomposição das brássicas são os responsáveis pelo efeito nematicida. Dentre esses compostos sulfurosos estão os isotiocianatos, nitrilas e tiocianatos, que são liberados quando os glicosinolatos dos tecidos, na presença de mirosinase, entram em contato com a água (Mayton *et al.*, 1996; Mithen, 2001; Wittstock and Halkier, 2002). Lazzeri *et al.* (1993) investigaram o efeito de glicosinolatos e de seus produtos sobre o nematóide *Heterodera schachtii*, observando

que alil isotiocianato causou a morte de 100% dos nematóides após 96 horas de exposição ao produto *in vitro*.

Isotiocianatos também são liberados de sementes de mamão. Segundo Kermanshai *et al.* (2001), o isotiocianato de benzila é a substância predominante a apresentar atividade anti-helmintica nessas sementes. A eficiência do uso de farinha de semente de mamão no controle de nematóides também foi observada por Neves *et al.* (2005a e 2005b) em um trabalho realizado *in vitro* em que foi testado o extrato aquoso de sementes secas de mamão na concentração de 10% sobre a eclosão e a inativação de juvenis de *M. javanica* e *M. incognita*. Os autores demonstraram nesses trabalhos que houve redução de 95,3% e 99,3% na eclosão de *M. javanica* e de *M. incognita*, respectivamente, e 100% de eficiência na inativação e morte de juvenis de ambas as espécies do nematóide. Extrato de sementes de mamão também foi testado por Coimbra *et al.* (2006) e resultou em 100% de eficiência em relação à imobilidade de juvenis e adultos do nematóide *Scutellonema bradys*, após 24 horas de exposição ao extrato e em 67,2% de mortalidade dos nematóides expostos ao extrato.

Em relação ao peso da parte aérea das plantas todas as doses de semente de mamão diferiram estatisticamente da testemunha (Figura 2). O tratamento em que foi usado 1% da semente de mamão, além de diferir da testemunha, também diferiu dos demais tratamentos, proporcionando, em média, um aumento de peso em torno de 78% em relação à testemunha. No tratamento com incorporação de de semente de mamão na dose de 1% foi obtido o menor peso das plantas em relação à testemunha, quando se compara com as demais doses. A incorporação de sementes de mamão ao solo, proporcionou um ganho de peso da parte aérea de até 300% em relação à testemunha.

A altura das plantas cultivadas no solo em que não houve incorporação de semente de mamão (testemunha) foi estatisticamente igual à altura das plantas dos tratamentos em que foram incorporados 1% e 2% da semente ao solo e diferente dos

demais tratamentos (Figura 3). Os tratamentos com 8%, 9% e 10% de sementes incorporadas ao solo resultou, respectivamente, em plantas com altura 55, 70 e 56% maior que as plantas do tratamento testemunha. Esse aumento significa um ganho de aproximadamente 30 cm de altura quando se compara com plantas do tratamento testemunha, que tiveram em média 43 cm de altura, com as plantas com incorporação de 9% de semente de mamão que apresentaram em média 73 cm de altura.

Com exceção da dose de 1% de semente de mamão incorporada ao solo, todas as demais doses resultaram em plantas com pesos de sistema radicular estatisticamente diferentes das plantas do tratamento testemunha (Figura 4). O aumento do peso das raízes das plantas cultivadas nos demais tratamentos foi em média 282% maior que o das plantas da testemunha.

Para a comparação de médias de tratamentos para as variáveis altura, peso da parte aérea e peso das raízes das plantas cultivadas em solo sem infestação com *M. javanica*, utilizou-se o teste de Dunnett a 5% de probabilidade (Tabela 1). Pode-se verificar que as plantas cultivadas em solo sem o nematóide não diferiram em nenhuma das variáveis analisadas em relação ao tratamento testemunha. Em relação ao peso da parte aérea das plantas todos os demais tratamentos foram significativamente maiores que os valores obtidos em plantas cultivadas sem nematóide. No parâmetro altura das plantas, as plantas cultivadas em solo sem a infestação do nematóide não diferiram das cultivadas em solo incorporado com 1% e 2% de semente de mamão. Por outro lado, as plantas cultivadas em solo com todas as demais doses de semente incorporada, tiveram valores de altura maiores que os das plantas cultivadas em solo sem o nematóide. Esse fato indica um efeito da semente de mamão em promover um melhor desenvolvimento, o que pode refletir em produtividade final das plantas maior do que plantas cultivadas em solo sem a incorporação da semente de mamão, independente da presença ou não do nematóide.

Segundo Stirling (1991) os mecanismos de ação contra os nematóides associados à incorporação de material orgânico ao solo, são atribuídos, em alguns casos, à melhoria das características físicas e químicas do solo, o que resulta em melhor desenvolvimento das plantas que se tornam mais tolerantes ao parasitismo. Esse efeito pode compensar os principais sintomas das nematoses que são a redução do crescimento das plantas e a baixa produtividade da cultura (Gonçalves *et al.*, 1995). Com a incorporação de cama aviária e casca de pinus ao solo Blum *et al.* (2003) observaram uma melhoria nas propriedades físicas e químicas do solo, o que favoreceu a emergência e o desenvolvimento inicial de plantas de moranga e pepino. Além disso, a incorporação de material orgânico no solo resulta no aumento da população de microrganismos antagonistas aos nematóides (Linford *et al.*, 1938; Sitaramaih & Singh, 1978).

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem chegar à conclusão que:

1. A incorporação da semente de mamão ao solo é eficiente em controlar o nematóide *M. javanica*, mesmo em pequenas doses;
2. A incorporação da semente ao solo promove também o crescimento das plantas proporcionando aumento do peso das raízes, peso da parte aérea e altura das plantas.

Referências Bibliográficas

- BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6 (suplemento), p.553. 1981.
- BLUM, L.E.B.; AMARANTE, C.V.T.; GÜTTLER, G.; MACEDO, A. F.; KOTHE, D.; SIMMLER, A.; PRADO, G. & GUIMARÃES, L. Produção de moranga e pepino em solo com incorporação de cama aviária e casca de pinus. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.4, p.627-631. 2003.
- COIMBRA, J.L.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M.S.; SOUSA, C.S. & RIBEIRO, F.L.B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.7, p.1209-1211. 2006.
- DAR, R.N.; GARG, L.C.; PATHAK, R.D. Anthelmintic activity of *Caryca papaya* seeds. **Indian Journal of Pharmacy**, v.27, p.335-336. 1965.
- DEMÉTRIO, R.; GUERRA, J.G.M.; SANTOS, G. de A.; DEJAIR LOPES de ALMEIDA, D.L.; POLLI, H. & CAMARGO, F.A.O. Absorção de nitrogênio do solo pelo milho influenciada pela adição de diferentes resíduos de culturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.2, p.221-227. 1997.
- GONÇALVES, W.; MAZZAFERA P.; FERRAZ, L.C.C.B.; SILVAROLLA, M.B. & LIMA, M.M.A. Biochemical basis of coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita*. **Plantation Recherche Development**, v2, p.54-60. 1995.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.692. 1964.
- KERMANSHAI, R.; MCCARRY, B.E.; ROSENFELD, J.; SUMMERS, P.S.; WERETILNYK, E.A. & SORGER, G.J. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. **Phytochemistry**, v.57, p.427-435. 2001.

- KRISHNAKUMARI, M.K. & MAJUMDER, S.K. Studies on anthelmintic activities of seeds of *Carica papaya* Linn. **Annals of Biochemistry and Experimental Medicine**, v.20, p.551-556. 1960.
- LAL, J.; CHANDRA, S.; RAVIPRKASH, V. & SABIR, M. *In vitro* anthelmintic action of some indigenous medicinal plants on *Ascaridia gali* worms. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.20, p.64-68. 1976.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. **Journal Agric. Food Chemical**, v.41, p.825-829. 1993.
- LINFORD, M.B.; FRANCIS, Y. & OLIVEIRA, J.M. Reduction of soil populations of the root-knot nematode during decomposition of organic matter. **Soil Science**, v.45, n.2, p.127-141. 1938.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. **Phytopathology**, v.86, p.267-271. 1996
- MITHEN, R.F. Glucosinolates and their degradation products. **Advances in Botanical Research**, v.35, p.213-262. 2001.
- NEVES, W.S.; COUTINHO, M.M.; ZOOCA, R.J.F.; DALLEMOLE-GIARETTA, R. & FREITAS, L.G. Inibição da eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita* por extrato aquoso de sementes de mamão. **Fitopatologia Brasileira**, v.32 (Suplemento). 2005a.
- NEVES, W.S.; COUTINHO, M.M.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R.J.F.; FREITAS, L.G. & FABRY, C.F.S. Atividade nematicida de extratos de semente de mamão sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32 (Suplemento). 2005b.
- PAPAVIZAS, G.C.. Suppression of *Aphanomyces* root rot of peas by cruciferous soil amendments. **Phytopathology**, v.56, p.1071-1075. 1968
- PAPAVIZAS, G.C. Comparison of treatments suggested for control of *Aphanomyces* root rot of peas. **Plant Disease**, v.51, p.125-129. 1967.
- SITARAMAIAH, K. & SINGH, R.S. Effect of organic amendment on phenolic content of soil and plant response of *Meloidogyne javanica* and its host to related compounds. **Plant and Soil**, v.50, p.671-679. 1978.
- STAPLETON, J.J. Soil solarizations in various agricultural production systems. **Crop Protection**, v.19, p.837-841. 2000.
- STATSOFT, Inc. STATISTICA for Windows (computer program manual). Tulsa, OK: Statsoft Inc. <http://www.statsoft.com>. 1998
- STIRLING, G.R. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects. **CAB International**, Wallingford. 1991. 282p.

WITTSTOCK, U.& HALKIER, B.A. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era.
Trends in Plant Science, v.7, p.263–270. 2002.

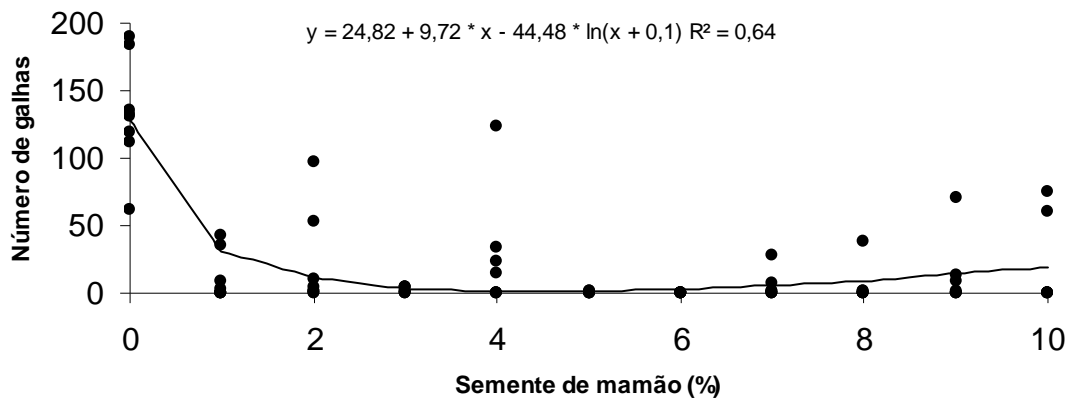


Figura 1. Número de galhas por sistema radicular de plantas de tomate cultivadas por 60 dias em solo infestado com o nematóide *M. javanica*, após a incorporação de diferentes doses de semente de mamão seca e moída (0 a 10%).

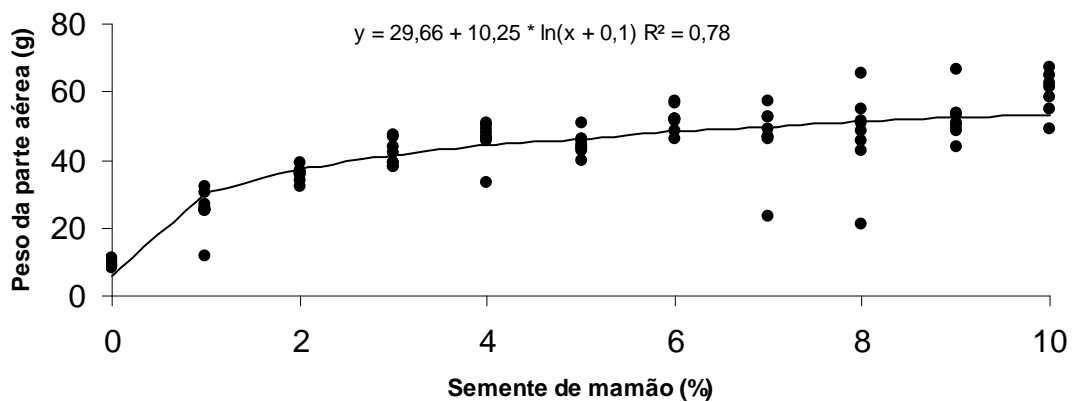


Figura 2. Peso da parte aérea (g) de plantas de tomate cultivadas por 60 dias em solo infestado com o nematóide *M. javanica*, após a incorporação de diferentes doses de semente de mamão seca e moída (0 a 10%).

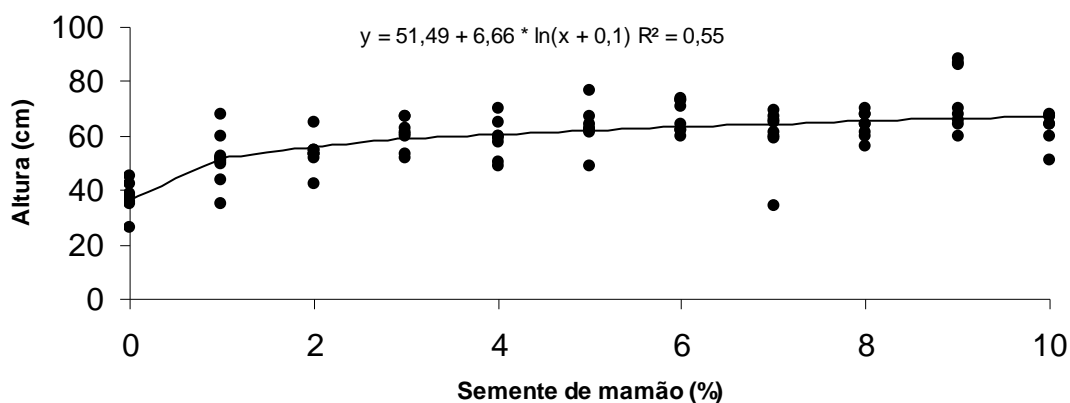


Figura 3. Altura (cm) de plantas de tomate cultivadas por 60 dias em solo infestado com o nematóide *M. javanica*, após a incorporação de diferentes doses de semente de mamão seca e moída (0 a 10%).

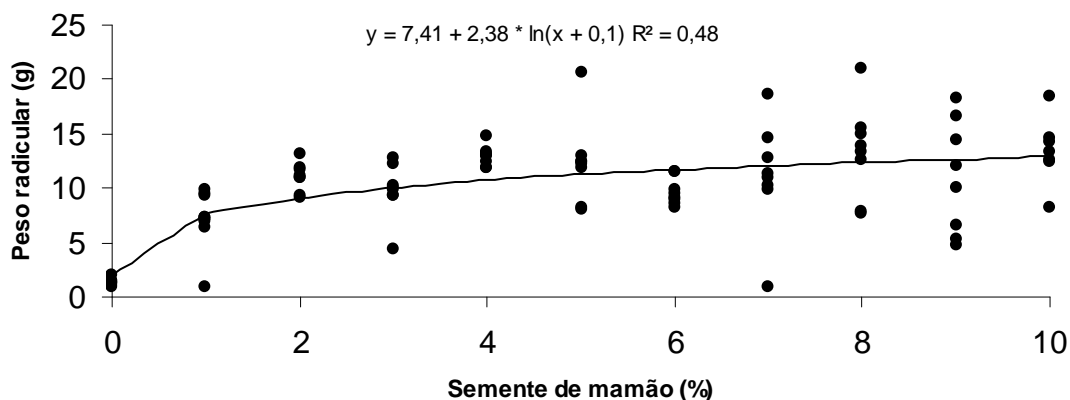


Figura 4. Peso do sistema radicular (g) de plantas de tomate cultivadas por 60 dias em solo infestado com o nematóide *M. javanica*, após a incorporação de diferentes doses de semente de mamão seca e moída (0 a 10%).

Tabela 1. Valores médios do peso da parte aérea (g), altura (cm) e peso radicular (g) de plantas de tomates cultivadas em solo infestado por *Meloidogyne javanica* com incorporação de diferentes doses de semente de mamão seca e moída comparados com as plantas cultivadas em solo sem o nematóide pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Tratamentos	Peso da Parte Aérea (g)	Altura (cm)	Peso Radicular (g)
Tratamento sem nematóide	12,373	43,750	3,033
Testemunha (pousio)	14,202 ^{ns}	43,125 ^{ns}	3,038 ^{ns}
1% (10g semente/litro de solo)	25,266 *	51,492 ^{ns}	7,184 ^{ns}
2% (20g semente/litro de solo)	35,808 *	53,488 ^{ns}	11,028 *
3% (30g semente/litro de solo)	42,042 *	60,438 *	9,774 *
4% (40g semente/litro de solo)	46,321 *	58,938 *	12,899 *
5% (50g semente/litro de solo)	44,584 *	63,125 *	12,361 *
6% (60g semente/litro de solo)	51,905 *	67,375 *	9,653 *
7% (70g semente/litro de solo)	46,839 *	60,125 *	11,164 *
8% (80g semente/litro de solo)	51,290 *	63,863 *	13,351 *
9% (90g semente/litro de solo)	52,007 *	73,625 *	10,954 *
10% (100g semente/litro de solo)	60,313 *	64,000 *	12,979 *

* Significativo e superior ao tratamento sem nematóides, pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade;

ns Não significativo, pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES GERAIS:

- A biofumigação do solo com brócolis, couve-flor ou mostarda é eficiente para o controle do nematóide *M. javanica* em casa de vegetação, visto que diminui tanto o número de galhas como o número de ovos presentes nas raízes das plantas.
- A incorporação de resíduos de brássicas ao solo proporcionou melhor desenvolvimento das plantas quando comparado tanto com a testemunha com nematóide como com a testemunha sem nematóide.
- O extrato de semente de mamão foi eficiente em inibir a eclosão e em causar a morte de juvenis de *M. javanica* e *M. incognita in vitro*, sendo o seu uso promissor no controle do nematóide das galhas.
- A incorporação de sementes secas e moídas de mamão ao solo na dose de 10g/L de solo controlou *M. javanica* em 100%.
- A incorporação de semente de mamão ao solo promoveu o crescimento das plantas proporcionando aumento do peso radicular, peso da parte aérea e altura das plantas.
- Bactérias isoladas de solo biofumigado com diferentes espécies de brássicas não se comportaram como bons agentes de controle de nematóides com aplicação na forma de rega no solo e microbiolização das sementes em casa de vegetação.