



Efeito de manipueira sobre *Meloidogyne incognita* em ensaios *in vitro* e em tomateiros em casa de vegetação

Érica G.C. Nasu¹, Ely Pires², Heloísa M. Formentini¹ & Cleber Furlanetto³

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Laboratório de Nematologia, 85.960-000, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil; ²Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola, 85.813-450, Cascavel, PR, Brasil; ³Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fitopatologia, 70.910-900, Brasília, DF, Brasil

Autor para correspondência: Cleber Furlanetto, e-mail: cfurla@hotmail.com

RESUMO

Objetivou-se estudar o efeito nematicida de manipueira no controle de *Meloidogyne incognita*. Testes *in vitro* foram divididos em dois ensaios inteiramente casualizados: 1. manipueira a 100%, 75%, 50% e 25% em 12 repetições; 2. manipueira a 15%, 10%, 8%, 6%, 4% e 2% em 5 repetições. O ensaio em vasos seguiu o delineamento inteiramente casualizado com manipueira a 10%, 25% e 50% em 5 repetições. Para ambos os ensaios utilizou-se o tratamento somente água como testemunha positiva e Carbofuran (50 mg.L⁻¹ de ingrediente ativo (i.a.) ou 2 g de produto comercial/vaso) como negativa. Para os ensaios *in vitro* foram avaliados nematóides vivos e mortos e número de galhas em plantas inoculadas. Para os ensaios em vaso foram avaliadas as variáveis altura de plantas, comprimento de raízes, número de galhas, número de ovos e fator de reprodução (FR). Os resultados *in vitro* demonstraram que os tratamentos com manipueira até 10% de diluição apresentaram 100% de controle. O ensaio com tomateiros previamente inoculados demonstrou que o tratamento manipueira 50% causou um melhor desenvolvimento da parte aérea das plantas de tomate. Os tratamentos manipueira a 10% e 25% foram mais efetivos no controle de *M. incognita* em vasos.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*, resíduo líquido, fecularia, nematóide de galha.

ABSTRACT

Effect of manipueira on *Meloidogyne incognita* through *in vitro* and *in vivo* essays on tomatoes in greenhouse

The aim of this work was to study the nematicidal effect of manipueira on the control of *Meloidogyne incognita*. *In vitro* tests were split into two completely randomized assays: 1. manipueira 100%, 75%, 50% and 25% in 12 replications; 2. manipueira 15%, 10%, 8%, 6%, 4% and 2% in 5 replications. The pot assay followed a completely randomized design with the treatments manipueira 10%, 25% and 50% in 5 replications. For both assays the positive control was water and the negative control was the nematicide Carbofuran (50 mg.L⁻¹ of active ingredient (a.i.) or 2 g of commercial product/pot). For *in vitro* assays the variables assessed were live or dead nematodes and number of galls on inoculated plants. For the pot assay the variables evaluated were plant height, root length, number of galls, number of eggs and reproduction factor (RF). The *in vitro* results indicated that only the manipueira treatments from 100% to 10% dilution showed maximum control. The pot assay demonstrated that the treatment manipueira 50% caused better development of tomato shoots than the others. However, manipueira 10% and 25% were more effective against of *M. incognita* in pots.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, wastewater extract, cassava industry, root-knot nematode.

INTRODUÇÃO

Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood, 1949, é um dos principais nematóides causadores de dano econômico à cultura do tomateiro (Lopes & Santos, 1994). O difícil controle de nematóides em campo, mesmo com a aplicação de moléculas químicas, as quais são danosas ao meio ambiente, enfatiza a necessidade do estudo de métodos alternativos de controle, os quais contribuam para a preservação do meio ambiente (Halbrendt & LaMondia, 2004). Manipueira é um resíduo líquido de aspecto leitoso e cor amarelo-claro, obtido da prensagem de raízes de mandioca para a produção de fécula ou farinha (Ponte, 2001). A quantidade de manipueira gerada pelas indústrias

da mandioca equivale a um volume mínimo de 250 L por tonelada de raiz processada (Ferreira et al., 2001).

As características químicas e orgânicas da manipueira possibilitam sua utilização na agricultura para diferentes fins (Ponte & Franco, 1981; Ponte et al., 1987; Vieites & Brinholi, 1995). Em sua composição são encontrados macro e micronutrientes, além de glicosídeos cianogênicos, principalmente linamarina, que quando hidrolisada libera o gás cianeto, tóxico às mais variadas formas de vida, incluindo os nematóides (Fioretto, 1994; Magalhães et al., 2000; Ponte, 2001). Testes com aplicação de manipueira no controle de nematóides formadores de galha, particularmente *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, têm sido realizados com

sucesso no Brasil (Ponte & Franco, 1981; Ponte et al., 1996; Sena & Ponte, 1992).

A busca de novas alternativas no controle de fitonematóides em substituição aos nematicidas convencionais constitui-se numa preocupação mundial (Ferraz & Freitas, 2004). Diversas substâncias naturais, obtidas de diferentes espécies vegetais e apresentando propriedades nematicidas ou nematostáticas, têm sido isoladas e caracterizadas quimicamente, sendo que algumas têm se mostrado promissoras para aplicação em campo (Gommers, 1981). Considerando que a manipueira é um resíduo abundante no oeste do Paraná, com mais de quinze feculárias distribuídas em diferentes municípios, objetivou-se estudar o efeito nematicida desse resíduo no controle de *M. incognita*, mediante ensaios *in vitro* e em vasos em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

A manipueira utilizada nesse estudo foi coletada na Fecularia Horizonte, localizada no distrito de Novo Três Passos, município de Marechal Cândido Rondon/PR, e depositada em recipientes plásticos hermeticamente fechados com 2 L de capacidade, sendo prontamente utilizada ou mantida a 4°C por 24 h. O teor de cianeto (CN⁻) das amostras foi estimado antes do início de cada experimento através do teste colorimétrico Microquant (Merck), resultando em 40 mg.L⁻¹ em manipueira pura. Para os ensaios *in vitro* e em tomateiros em casa de vegetação foram utilizadas misturas de populações monoespecíficas de *M. incognita* raça 3, previamente estabelecidas por Pires et al. (2008) e coletadas em lavouras de algodão da região noroeste do Paraná.

Os ensaios *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Nematologia da Unioeste, seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram realizados em microtubos de 1,5 ml contendo 1 mL de solução e 500 J2 de *M. incognita* por repetição. Os microtubos contendo os tratamentos foram deixados à temperatura ambiente por 24 h com posterior quantificação dos nematóides vivos e mortos em lâmina de Peters. Foram considerados vivos, aqueles nematóides que apresentaram mobilidade natural e mantiveram a sua forma original e, mortos aqueles imóveis, deformados ou que apresentaram aspecto incomum.

Os testes *in vitro* foram divididos em dois ensaios. No primeiro ensaio, testou-se os tratamentos manipueira pura e diluições em água a 25%, 50% e 75%, além de água destilada (testemunha positiva) e o nematicida Carbofuran a 50 mg i.a. L⁻¹ (testemunha negativa). Com o objetivo de avaliar a capacidade infectiva dos J2 previamente tratados *in vitro*, procedeu-se a inoculação do conteúdo de cada conjunto de três tubos (1.500 J2) em vasos com capacidade para 2 L de substrato, contendo uma planta de tomate cv. Santa Cruz Kada com quatro folhas definitivas em quatro repetições. Ao final de 45 dias da inoculação, avaliou-se

o número total de galhas por sistema radicular de planta inoculada. Os dados obtidos para número de galhas foram transformados para $\sqrt{(X+1)}$.

Em um segundo ensaio foi testado manipueira a 2%, 4%, 6%, 8%, 10% e 15%, além das testemunhas positiva e negativa citadas anteriormente, em 5 repetições. Nessa etapa, não foi realizada inoculação em vasos. O ensaio envolvendo tomateiros previamente inoculados foi conduzido em casa de vegetação com temperatura constante variando entre 25 e 28°C e seguindo-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. Vasos contendo uma planta de tomate 'Santa Cruz Kada' com duas folhas definitivas foram inoculados com 5.000 ovos e/ou juvenis de *M. incognita* raça 3 e mantidos em casa-de-vegetação por sessenta dias. Após esse período, a parte aérea das plantas de tomate foi cortada, deixando-se apenas as raízes infectadas no solo, segundo metodologia adotada por Ponte & Franco (1981).

Os melhores tratamentos *in vitro* com potencial para aplicação em campo foram utilizados para o ensaio em casa de vegetação, ou seja, manipueira diluída em água a 10%, 25% e 50%, além de água destilada (testemunha positiva) e o nematicida Carbofuran 2g do produto comercial por vaso (testemunha negativa). Para os tratamentos com manipueira e água, incorporou-se um total de 200 mL de líquido por vaso de plástico com capacidade para 2 L de substrato (solo e areia 1:1).

Após o corte da parte aérea e aplicação dos tratamentos, os vasos permaneceram em repouso por quatro dias com posterior transplantio de uma planta de tomate 'Santa Cruz Kada' com quatro folhas definitivas para cada vaso. Nesta etapa, não houve quantificação de nematóides/vaso. Sessenta dias após o transplantio, os tomateiros foram extraídos e analisados quanto às variáveis altura da parte aérea, comprimento de raiz, número total de galhas e fator de reprodução (FR) do nematóide, calculado pela equação $FR = Pf/Pi$, onde Pf = população final e Pi = população inicial. Para o cálculo dos FRs, considerou-se Pi = 5.000. O programa SISVAR (Ferreira, 2000) foi utilizado para as análises estatísticas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados referentes ao número de galhas e de ovos foram transformados para $\sqrt{(X+1)}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes *in vitro* evidenciaram que os tratamentos com manipueira até 10% de diluição, partindo-se de 40 mg L⁻¹ de CN⁻ em manipueira pura, foram efetivos no controle de *M. incognita* raça 3, causando a morte de 100% dos J2 tratados, mas não diferindo estatisticamente entre si e sendo superiores às testemunhas, somente água e nematicida. Porém, em diluições maiores como a 8%, houve a morte de apenas 41,5% dos J2, sendo que em dosagens ainda mais baixas como a 6%, 4% e 2%, a percentagem de nematóides vivos e mortos não diferiu da testemunha somente água, sendo inferiores ao nematicida (Tabela 1).

TABELA 1 - Efeito *in vitro* de manipueira em diferentes concentrações (25 a 100% e 2 a 15%) sobre 500 J2 de *Meloidogyne incognita* raça 3 por tratamento, analisando-se as variáveis número de nematóides vivos (NV) e número de nematóides mortos (NM), 24 horas após a imersão dos nematóides nas soluções, e a variável número de galhas (NG), 60 dias após a inoculação de 1.500 J2 por tomateiro cv. Santa Cruz Kada, previamente tratados *in vitro*

Tratamento	NV	NM	NG
Testemunha (Água) **	452,5 c *	47,5 a	142 a
Nematicida (Carbofuran)	96,2 b	403,7 b	24 b
Manipueira 100%	0 a	500 c	0 c
Manipueira 75%	0 a	500 c	0 c
Manipueira 50%	0 a	500 c	0 c
Manipueira 25%	0 a	500 c	0 c
Testemunha (Água) ***	495,5 a	4,5 c	-
Nematicida (Carbofuran)	16,3 c	484,7 a	-
Manipueira 15%	0 c	500 a	-
Manipueira 10%	0 c	500 a	-
Manipueira 8%	292,5 b	207,5 b	-
Manipueira 6%	486 a	14 c	-
Manipueira 4%	491,2 a	8,8 c	-
Manipueira 2%	495 a	5 c	-

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Ensaio 1: Tratamentos com 12 repetições; *Ensaio 2: Tratamentos com 5 repetições.

Alves et al. (2006), utilizando manipueira nas concentrações de 100, 80, 60, 40 e 20%, em ensaios *in vitro* no controle do nematóide *Scutellonema bradys* (Steiner & Le Hew) Andrassy, constataram que após 48 horas os tratamentos com manipueira, em dosagem igual ou superior a 40%, proporcionaram 100% de mortalidade, sendo que manipueira a 20% teve um desempenho superior ao tratamento nematicida (Carbofuran a 1% de concentração, não tendo sido relatado se a concentração era relativa ao i.a. ou ao produto comercial). No entanto, os autores não revelaram a concentração de cianeto na manipueira utilizada. A inoculação de J2 previamente tratados *in vitro* revelou ausência de galhas para os tratamentos com manipueira, a presença de poucas galhas para o tratamento nematicida (24) e um elevado número de galhas (142) para a testemunha somente água (Tabela 1), de acordo com a avaliação *in vitro*.

Os resultados obtidos para *M. incognita* raça 3 nos ensaios *in vitro* estão de acordo com os encontrados por Grabowski et al. (2006) para o controle *in vitro* de *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello, 1980, com 100% de mortalidade nas dosagens de 100, 75, 50, 25, 10 e 8%, partindo-se de 40 mg.L⁻¹ de cianeto em manipueira pura, mas sem posterior inoculação em planta suscetível cultivada em vasos. No ensaio em casa de vegetação com tomateiros previamente inoculados, os tratamentos manipueira 10%, manipueira 25% e o nematicida Carbofuran levaram a um menor número de galhas, não diferindo estatisticamente entre si, mas sim em relação à testemunha somente água e ao tratamento manipueira 50% (Tabela 2). Apesar do

tratamento manipueira 50% ter apresentado um elevado número de galhas, não diferindo estatisticamente da testemunha somente água, as galhas formadas foram inferiores em tamanho (Figura 1), refletindo em uma menor quantidade de ovos por sistema radicular analisado (Tabela 2). Por outro lado, o aumento da massa radicular dos tomateiros tratados com manipueira 50%, pode ter contribuído para uma maior taxa de infecção de J2 presentes no solo e, em consequência, para o aumento do número de galhas por sistema radicular.

Ponte & Franco (1981) aplicaram diferentes volumes de manipueira a 50% de concentração, em vasos previamente infestados com *M. javanica* e *M. incognita*. Os resultados demonstraram que a aplicação de 1 L ou 1,5 L de manipueira proporcionou o desenvolvimento de plantas de tomate sem galhas, enquanto que plantas não tratadas mostraram-se com 13 a 20 galhas. Porém, a aplicação de apenas 0,5 L de manipueira proporcionou o desenvolvimento de plantas com um máximo de três galhas.

Quanto ao número de ovos de *M. incognita* e ao fator de reprodução (FR), todos os tratamentos diferiram estatisticamente do controle somente água, o qual apresentou o maior número de ovos e FR por sistema radicular. Um menor número de ovos e FR foi encontrado em dosagens de manipueira inferiores a 50%, sendo que o tratamento manipueira 25% produziu 85% menos ovos que a testemunha somente água e um FR = 4,8 não diferindo estatisticamente do tratamento manipueira 10% com FR = 8. Manipueira a 50% (FR = 13) não diferiu estatisticamente

TABELA 2 - Média do número de galhas (NG), do número total de ovos (NO), do fator de reprodução (FR), da altura da parte aérea (AP) e do comprimento de raízes (CR) de plantas de tomateiro inoculadas com população mista de *Meloidogyne incognita* raça 3 sob diferentes tratamentos

Tratamento	NG	NO	FR	AP	CR
Água	231,2 b	156.000 c	31,2	9,3 a	7,7 a
Carbofuran	83,8 a	54.000 b	10,8	16,5 b	14,3 bc
Manipueira 10%	54,2 a	40.000 ab	8,0	12 a b	13,3 bc
Manipueira 25%	69,6 a	24.000 a	4,8	14,7 a b	10,4 abc
Manipueira 50%	219,4 b	65.000 b	13,0	31,6 c	18,0 c

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$).



FIGURA 1 – A. Massa radicular e galhas (setas) formadas em raízes de tomateiro cv. Santa Cruz Kada inoculados com *Meloidogyne incognita*: A. tratamento somente água; B. tratamento manipueira 50%.

do tratamento nematicida ($FR = 10,8$), sendo que ambos diferiram da testemunha somente água ($FR = 31,2$) (Tabela 2). Esse resultado indica que manipueira em concentrações inferiores a 50% pode auxiliar no controle de *M. incognita* quando aplicada via solo, devido provavelmente à menor viscosidade e maior facilidade de penetração no solo, apresentando uma ação mais rápida e efetiva. Uma prova disso é a não diferenciação entre os tratamentos manipueira a 50%, 25% e 10% de concentração, quando aplicados diretamente sobre *M. incognita in vitro* (Tabela 1).

Com relação à altura da parte aérea, o tratamento manipueira a 50% foi o que apresentou resultados mais representativos com altura média de plantas de 31,6 cm, 70,5% superior à média obtida para a testemunha somente

água. Os tratamentos manipueira a 25% e 10% e o controle somente água não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. Já o tratamento nematicida foi superior apenas à testemunha somente água e inferior somente ao tratamento manipueira a 50% (Tabela 2). O tratamento manipueira 50% obteve também o maior comprimento de raiz provavelmente devido à maior concentração de nutrientes em manipueira mais concentrada (50%) como demonstrado anteriormente por Aragão & Ponte (1995), aliado ao controle do nematóide. Por outro lado, tratamentos com manipueira a 10 e 25%, não diferiram estatisticamente da testemunha somente água com relação ao comprimento de raiz, apesar da baixa taxa de infecção apresentada em comparação com a testemunha (Tabela 2).

Franco et al. (1990), verificaram incremento da parte aérea e de raízes de tomateiro em solo tratado com manipueira a 50%, extraída de cultivares de mandioca brava como Bajá, Mato-Gato e Cruvela. De acordo com os resultados obtidos, manipueira a 50%, além do efeito sobre *M. incognita*, pode ser recomendada também como adubo orgânico em tomateiro. Por outro lado, dosagens inferiores de manipueira (10% e 25%) foram mais efetivas no controle de *M. incognita* e podem ser uma alternativa para aplicação em larga escala visando o controle desse nematóide. Estudos futuros serão realizados no sentido de se comprovar a ação de diferentes doses de manipueira no controle de *M. incognita* em tomateiro a campo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fecularia Horizonte, empresa do Grupo Horizonte, por permitir a coleta de manipueira em suas instalações e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo apoio financeiro concedido a Cleber Furlanetto, processo 485699/2007-9, Edital MCT/CNPq - Universal 15/2007.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves EC, Santiago AD, Eloy AP, Amorim EPR (2006) Efeito tóxico da manipueira sobre *Scutellonema bradys*, causador da “casca-preta” no inhame (*Dioscorea cayennensis*). *Fitopatologia Brasileira* 31 (Supl.):74.
- Aragão ML, Ponte JJ (1995) O uso da manipueira extrato líquido das raízes da mandioca como adubo foliar. *Ciência Agrônômica* 26:45-48.
- Ferraz S, Freitas LG (2004) Use of antagonistic plants and natural products. In: Chen ZX, Chen SY & Dickson DW (Eds.) *Nematology – Advances and perspectives*. Wallingford UK. CABI. pp. 931-960.
- Ferreira DF (2000) Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. São Carlos SP. Universidade Federal de São Carlos. pp. 255-258.
- Ferreira WA, Botelho SM, Cardoso EMR, Poltronieri MC (2001) Manipueira: um adubo orgânico em potencial. Belém PA Embrapa Amazônia Oriental. Documento, 107.
- Fiorotto RA (1994) Uso direto da manipueira em fertirrigação. In: Cereda MP (Ed.) *Industrialização da mandioca no Brasil*. São Paulo SP. Editora Pulicéia. pp. 51-80.
- Franco A, Ponte JJ, Silva RS, Santos FAM (1990) Dosagem de manipueira para tratamento de solo infestado por *Meloidogyne*: Segundo experimento. *Nematologia Brasileira* 15:25-32.
- Gommers FJ (1981) Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthological Abstracts, Series B, Plant Nematology* 50:9-24.
- Grabowski MMS, Davi JJS, Nasu EGC, Layter NA, Seifert KE, Furlanetto C (2006) Efeito da manipueira, produzida na região Oeste do Paraná, no controle do nematóide *Tubixaba tuxaua*. *Fitopatologia Brasileira* 31 (Supl.):74.
- Halbrendt JM, LaMonda JA (2004) Crop rotation and other cultural practices. In: Chen ZX, Chen SY & Dickson DW (Ed.) *Nematology – Advances and perspectives*. Wallingford, UK. CABI. pp. 908-930.
- Lopes CA, Santos JRM (1994) Doenças do tomateiro. Brasília DF. Embrapa– SPI.
- Magalhães CP, Xavier-Filho J, Campos FAP (2000) Biochemical basis of the toxicity of manipueira (liquid extract of cassava roots) to nematodes and insects. *Phytochemical Analysis* 11:57-60.
- Pires E, Santana H, Nasu EGC, Furlanetto C (2008) Ocorrência de *Meloidogyne incognita* raça 3 em lavouras de algodão na região noroeste do Paraná. *Nematologia Brasileira* 32:81-83.
- Ponte JJ (2001) Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante. In: Cereda MP (Ed.) *Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca*. Fundação Cargill. São Paulo SP. pp. 80-95.
- Ponte JJ, Cavada BS, Silveira-Filho J (1996) Teste com lectina no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 21:489-491.
- Ponte JJ, Franco A (1981) Manipueira, um nematicida não convencional de comprovada potencialidade. *Publicação da Sociedade Brasileira de Nematologia* 5:25-33.
- Ponte JJ, Franco A, Pontes AEL (1987) Estudo sobre a utilização da manipueira, como nematicida, em condições de campo. *Nematologia Brasileira* 11:42-47.
- Sena ES, Ponte JJ (1992) A manipueira no controle da meloidoginose da cenoura. *Nematologia Brasileira* 6:95-98.
- Silva GSS, Souza IMR, Cutrim FA (2002) Efeito da incorporação de sementes trituradas de feijão de porco ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogine incognita* em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 27:13-14.
- Vieites RL, Brinholi O (1995) Efeitos da aplicação da manipueira na conservação pós-colheita da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Energia na Agricultura* 10:20-21.

TPP 8123 - Recebido 16 Outubro 2008 - Aceito 11 Dezembro 2009
 Editor de Seção: Regina Maria D.G. Carneiro