

EFEITO DE RESÍDUOS VEGETAIS SOBRE *Scutellonema bradys*, AGENTE CAUSAL DA
CASCA PRETA DO INHAME (*Dioscorea* sp)

Effect on plant residue waste *Scutellonema bradys*, causal agent of black bark yam (*Dioscorea* sp)
in Alagoas

Leonardo da Fonseca BARBOSA¹

Edna Peixoto da Rocha AMORIM²

Vanessa Karine Souza COSTA³

Roseane Cristina Prédes TRINDADE³

Georgia de Souza PEIXINHO³

Sihélio Júlio Silva CRUZ⁴

RESUMO

O inhame (*Dioscorea* spp.) é uma planta que se adapta bem às condições edafoclimáticas das regiões tropicais e subtropicais, desenvolvendo-se satisfatoriamente na região Nordeste. Alguns fatores influenciam na produtividade do inhame, dentre os quais destaca-se a “casca preta”. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da manipueira, do extrato de nim, do Ecolife® e do nematicida (Furadan) no controle da casca preta do inhame *in vitro*, utilizando-se diferentes dosagens. Foram utilizadas as seguintes concentrações de produtos alternativos: manipueira (60, 40 e 20%), extrato de nim (1, 2 e 5%) e ecolife® (2, 4 e 6 i.a./L) mais testemunha com água destilada. O delineamento foi inteiramente casualizado, com dez tratamentos, em esquema fatorial 3 x 3 mais testemunha e quatro repetições. Túberas de inhame com sintomas da doença e amostras de solo, obtidas de várias regiões produtoras do estado de Alagoas, foram encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia da UFAL, onde foram processadas pelo método de flotação centrífuga de Jenkis modificado. As densidades populacionais de nematóides foram feitas com auxílio da câmara de Peters em microscópio óptico. Resultados iniciais obtidos do levantamento populacional revelaram a presença de *Scutellonema bradys* em todas as amostras de túberas. Nas amostras de solo analisadas verificou-se a presença de *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus brachyurus*, *Helicotylenchus* sp, dentre outros. As avaliações da eclosão, mobilidade e mortalidade de *S. bradys in vitro* foram efetuadas aos 15 dias após os tratamentos, 12 horas após a primeira avaliação e em intervalos de 30 dias, durante dois meses, respectivamente. Os resultados obtidos permitiram concluir que o extrato de nim (2% e 5%), Ecolife (6 i.a/L) e

¹Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal e Proteção de Plantas. Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Br 104-9, Km 85, 57100-000 - Rio Largo, AL . E-mail: agro.leofonseca@gmail.com

² Professor associado . Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Br 104-9, Km 85, 57100-000 - Rio Largo, AL .

³ Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Br 104-9, Km 85, 57100-000 - Rio Largo, AL .

⁴ Programa de Pós-Graduação em Agricultura, Departamento de Agricultura e Melhoramento Vegetal, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil, Caixa Postal 237, CEP 18603-970 – Botucatu-SP

Manipueira (60%) inibiram a eclosão de J2, a mobilidade e reduziram a população de *S. bradys in vitro*, com maior intensidade quando a exposição foi de 24 horas.

Palavras-chave: Produtos alternativos; Controle; *In vitro*

SUMMARY

The yam (*Dioscorea* spp.) is a plant that adapts well to the ecological conditions of tropical and subtropical developing satisfactorily in the Northeast. Some factors influencing the yield of yam, among which stands out the "black shell." The objective of this study was to evaluate the use of cassava, the neem extract of Ecolife® and nematicide (Furadan) in controlling the black shell of the yam *in vitro*, using different dosages. We used the following concentrations of natural products: cassava (60, 40 and 20%), neem extract (1, 2 and 5%) and Ecolife® (2, 4 and 6 ai / L) more control with distilled water. The design was completely randomized design with ten treatments in a factorial 3 x 3 and control and four replications. Yam tubers with symptoms of the disease and soil samples obtained from several producing regions of the state of Alagoas were sent to the Laboratory of Plant Pathology UFAL, where they were processed by centrifugal flotation method modified from Jenkins. Population densities of nematodes were performed using chamber Peters optical microscope. Initial results obtained from the population survey revealed the presence of *Scutellonema bradys* in all samples of truffle. Soil samples analyzed found the presence of *Meloidogyne* sp. *Pratylenchus brachyurus*, *Helicotylenchus* sp, among others. Assessments of the outbreak, mobility and mortality of *S. bradys in vitro* were performed at 15 days after treatment, 12 hours after the first evaluation and at intervals of 30 days during two months, respectively. The results showed that the neem extract (2% and 5%), Ecolife (6 ai / L) and cassava (60%) inhibited the hatching of J2, mobility and reduced the population of *S. bradys in vitro*, with greater intensity when the exposure was 24 hours.

Keywords: Alternative Products; Control; *In vitro*

INTRODUÇÃO

A cultura do inhame (*Dioscorea* spp) apresenta grande importância socioeconômica para a região Nordeste do Brasil, sobretudo para os Estados da Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia e Maranhão, por constituir um negócio agrícola muito promissor, dada a excelente qualidade nutritiva e energética de suas túberas e a grande utilidade para a alimentação humana, já sendo utilizadas na dieta de todas as

classes da sociedade brasileira (Santos, 1996).

O cultivo constitui uma alternativa viável para a agricultura nordestina, pois as zonas de produção dessa região possuem condições ambientais favoráveis para seu desenvolvimento e produção em escala econômica. Soma-se a isso o grande potencial que apresenta para expansão de sua área de cultivo, possibilitando maior produção e exportação para os grandes centros consumidores brasileiros, além do

mercado externo. Mesmo assim, a expansão do seu cultivo é ainda limitada, principalmente em função da escassez e disponibilidade de informações técnico-científicas que venham propiciar a sustentabilidade e a eficiência competitiva dessa cultura (Oliveira, 2006).

O inhame é o alimento básico das populações de muitos países tropicais da África, que produzem 2/3 das 20 milhões de toneladas anuais que totalizam a produção mundial. O Brasil é o décimo segundo maior produtor mundial dessa hortaliça e o segundo da América Latina, com produção de 230 mil toneladas (FAO, 2005).

Os problemas fitosanitários do inhame são importantes por diminuírem a produtividade, ocasionarem perdas durante o transporte e armazenamento e por reduzirem o valor unitário dos tubérculos no comércio interno e nas exportações (Kimati *et al.*, 1997). Entre esses problemas, com alto destaque por sua incidência, disseminação e severidade, situa-se a casca preta. A doença pode ser causada principalmente por *Scutellonema bradys* (Stainer & LeHew, 1933), um nematóide com comportamento endoparasito migrador nas raízes de alimentação. Entretanto, no Nordeste do Brasil foram assinalados os nematóides *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Stekhoven e *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Stekhoven em *D. cayennensis*, causando os mesmos sintomas da casca preta (Moura, 1997).

Considerando a importância dos fitonematóides e a restrição ao uso de nematicidas, devido à fitotoxicidade, efeitos

residuais, espectro de ação e resistência pelo patógeno, vários métodos alternativos de controle têm sido pesquisados e desenvolvidos, tais como, bionematicidas, extratos vegetais, tortas e óleos essenciais. Os resultados alcançados nessa linha de pesquisa têm-se mostrado promissores para uma utilização prática no controle de fitopatógenos em diversas culturas (Franco & Bettiol, 2000; Benato *et al.*, 2002; Carré *et al.*, 2002; Moreira *et al.*, 2002). A potencialidade do uso da manipueira (extrato líquido das raízes de mandioca, *Manihot esculenta* Crantz), como pesticida agrícola natural tem sido comprovada em muitos estudos como nematicida (Franco, 1986; Sena *et al.*, 1982) e como fungicida (Morais, 2003).

Assim, o presente trabalho teve por objetivos identificar o nematóide associado à casca preta do inhame e avaliar o efeito de diversas dosagens *in vitro* de produtos alternativos no controle da casca preta do inhame.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) em Rio Largo – AL, durante o período de agosto de 2007 a julho de 2008.

A população de nematóides do inhame foi obtida a partir da coleta de solo e túberas comerciais contaminadas pelo patógeno em propriedades de produtores de inhame do estado de Alagoas.

Túberas de inhame com sintoma de casca preta e amostras de solo foram levadas para o Laboratório de Fitopatologia, onde foram efetuadas a extração, identificação e quantificação dos nematóides presentes. Para extração, amostras de solo foram peneiradas e pesadas em balança de laboratório (10g de cada vaso) e pedaços de um centímetro de túberas de inhame infetadas por *S. bradys* foram lavados e triturados em liquidificador por 2 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, seguindo-se a técnica de Hussey & Baker (1973), modificada por Boneti & Ferraz (1981). Em seguida, colocaram-se aproximadamente 3g de caulim por tubo, realizando-se a limpeza dos ovos pela técnica de Coolen & D'Herde (1972). Os nematóides foram recolhidos em um Becker de 200mL, utilizando-se pisseta contendo água destilada. A suspensão de nematóides obtida foi quantificada. Para a identificação, foram utilizados câmaras de Peters em microscópios ópticos.

Os produtos alternativos testados na redução populacional de *Scutellonema bradys*, *in vitro*, foram o ecolife® (2, 4 e 6 i.a./L), produto comercial originado de biomassa cítrica, extrato de nim (1, 2 e 5%) e a manipueira (60, 40 e 20%). Foram colocados 20 mL das concentrações de manipueira fermentada (60, 40 e 20%), 20 mL das concentrações de extrato de nim (1 e 5%) e 20 mL das concentrações de ecolife® (2, 4 e 6 i.a./L), 20 mL de do nematicida Furadan (0,3 mL/ l) e 20 mL de água destilada (Testemunha) em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro.

Para o teste de eclosão, foi pipetado 1 mL de suspensão previamente calibrada com 2000 ovos com juvenil de *S. bradys*, formado em seu interior. Em seguida a placa foi vedada com filme de PVC transparente e incubada em sala climatizada a 25° C por quinze dias. Os J2 eclodidos foram contados em microscópio óptico no aumento de 32 X.

Para a avaliação de mobilidade e mortalidade, foram pipetados 1 mL de suspensão com 200 J2 que foram colocados em placas de petri, conforme descrito anteriormente. Após doze horas, foram contados o número de J2 imóveis em microscópio. Em seguida, os J2 foram transferidos para tela de 0,025 mm de diâmetro, enxaguados com água destilada, substituindo assim os tratamentos, e recolhidos com jatos de água com pipeta automática de 10 mL para placa de Petri, sendo incubados a 25° C por 12 horas, quando foi avaliado o número de J2 aparentemente inativos. Foram classificados como mortos, os espécimes que permaneceram inativos após doze horas em água. Foram considerados inativos, os espécimes cujos corpos se apresentaram com aspectos retilíneos e imóveis.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (extratos e doses) mais testemunha, com 10 tratamentos e 4 repetições, sendo que, cada placa foi vedada com filme plástico e constituiu uma unidade experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises das amostras provenientes das túberas de inhame com sintomas de casca preta mostraram que as mesmas estavam infestadas pelo nematóide *Scutellonema bradys*, enquanto que as amostras provenientes de solos mostraram que os mesmos se encontravam infestados por nematóides de diversos gêneros, entre os quais merecem destaque, *Meloidogyne*

sp., *Pratylenchus brachyurus*, *Helicotylenchus sp.* (Tabela 1). *Meloidogyne sp.* ocorreu em 94% das amostras, com populações variando de 2 a 440 espécimens/200mL de solo. Enquanto *P. brachyurus* ocorreu em 100% das amostras, com populações variando de 10 a 400 espécimens/200 mL de solo. *Helicotylenchus sp.* ocorreu em menor frequência, sendo observado em apenas 10% das amostras.

Tabela 1- Incidência de nematóides identificados em amostras de solo de regiões produtoras de inhame (*Dioscorea sp.*) do estado de Alagoas.

Nematóides	População*	Porcentagem de amostras
<i>Meloidogyne sp</i>	2- 440	94%
<i>Pratylenchus brachyurus</i>	10-400	100%
<i>Helicotylenchus sp</i>	10-200	10%
<i>Trichodorus sp</i>	0-80	3%
<i>Longidorus sp</i>	2-35	2%
Não identificados	0-10	30%

* número de nematóides por 100 cm³ de solo.

De acordo com Moura (1997), a casca preta é causada principalmente pelo nematóide *S. bradys*, que se comporta como um endoparasita migrador nas raízes de alimentação, túberas comerciais e túberas-sementes. Entretanto, no Nordeste do Brasil foram assinalados os nematóides *P. brachyurus* em *Dioscorea cayennensis*, causando os mesmos sintomas da casca preta.

Todos os produtos alternativos testados reduziram a eclosão de J2 se comparados com a testemunha. Os extratos de nim (2 e 5%) e ecolife® (6%) provocaram uma inibição mais drástica, seguida do ecolife® (4 e 2%), manipueira (60%) e

extrato de nin (1%). A menor redução ocorreu com a manipueira (20 e 40%), porém não diferente significativamente do extrato de nin (1%).

Como os ovos, utilizados nesse ensaio, já continham o juvenil formado internamente, o efeito das substâncias contidas nos substratos pode ter afetado, segundo Nelmes (1970), a acetilcolinesterase levando o J2 a diminuir seus movimentos ou retardando o processo de degradação da camada lipídica e da plasticidade da casca do ovo, que são eventos necessários para a eclosão, conforme Doncaster & Shepherd (1967). Esses dois processos podem, talvez

embasar a hipótese de que as concentrações de manipueira e extrato de nim interferiram na toxicidade dessas substâncias, afetando o desempenho *in vitro*, ou que o local de atuação é diferente das substâncias contidas no ecolife®.

Todos os tratamentos reduziram a mobilidade dos J2 quando comparados com incubação em água em qualquer período de exposição. Entretanto, a exposição dos J2 por 24 horas revelou toxicidade diferente desses tratamentos, além de reduzir ainda mais a mobilidade em qualquer extrato estudado. A maior redução na mobilidade dos J2 ocorreu em extrato de nim 2 e 5% e ecolife 6%, seguidos de ecolife 4% e manipueira a 60%

Rocha & Campos (2004) estudando o efeito de exsudados de cultura de células de plantas em Juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* verificaram que os exsudatos de café, tomate, alfafa, mostarda,

orquídea, batata doce, fumo e *Crotalaria juncea* reduziram a mobilidade e aumentaram a mortalidade, com maior intensidade em 24 horas de exposição. Zhao *et al.* (2000) verificaram que os J2 de *M. incognita*, quando incubados por 30 minutos em exsudado de alfafa, ervilha, feijão e milho perderam a motilidade e ficaram inativos.

Todos os tratamentos causaram mortalidade dos fitonematóides quando comparados com a incubação em água (testemunha), com maior intensidade quando a exposição foi de 24 horas. No entanto, a maior mortalidade ocorreu utilizando o extrato de nim (2 e 5%) e o ecolife® (6 i.a/L), proporcionando um controle de 87%, seguidos por ecolife® 4 i. a./L (70% de mortalidade), ecolife® 2 i. a./L e manipueira 60% (58% de mortalidade). O extrato de nim 1% (48%) e manipueira 20 e 40% foram os extratos menos eficiente, porém diferiram da testemunha (Figura 1).

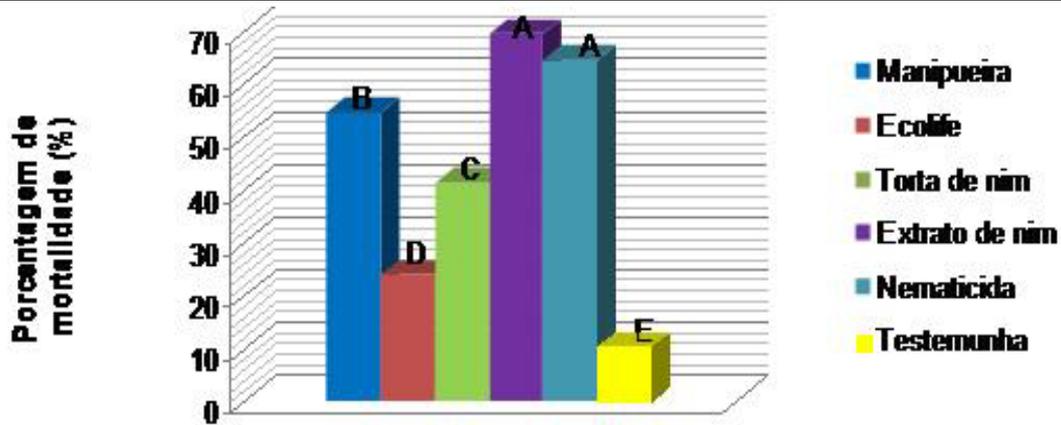


Figura 1- Efeito de resíduos vegetais e do nematicida Furadan sobre a mortalidade de *Scutellonema bradys*. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste detukey ao nível (5%).

Com relação às concentrações, observa-se que houve uma alteração considerável na mortalidade de fitonematóide à proporção que se aumenta a dose de cada produto. No caso do extrato de nim, pode-se afirmar que a concentração de 2% é a melhor e mais vantajosa economicamente, uma vez que apresenta resultados semelhantes a concentração de 5%.

Coimbra *et al.* (2006) reportam o efeito *in vitro* de extratos vegetais na redução de *S. bradys*, cujo trabalho mostra que todos os extratos usados foram capazes de causar mortalidade a *S. bradys*. Segundo os autores, extratos botânicos apresentam algumas vantagens sobre pesticidas sintéticos para controle de nematóides: são potencialmente menos tóxicos do que os compostos sintéticos, por serem menos concentrados. Além disso, sofrem biodegradação rápida e podem possuir múltiplos modos de ação, com amplo espectro de uso e ação seletiva dentro de cada classe de praga, o que resulta em

menor probabilidade de desenvolvimento de resistência pelo nematóide.

Amorim *et al.* (2006) observaram o efeito tóxico *in vitro* da manipueira sobre *S. bradys* e constaram que, a partir da concentração de 40% de manipueira, houve 100% de mortalidade do nematóide. Os resultados observados por estes autores diferem dos resultados encontrados neste experimento.

CONCLUSÕES

No estado de Alagoas, os sintomas da casca preta do inhame é causada pelo nematóide *Scutellonema bradys*.

O extrato de nim, ecolife® e manipueira, independente da concentração testada, reduziram *in vitro* a população de *Scutellonema bradys* e se mostraram promissores quanto ao controle alternativo da doença.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, E. P. R.; ALVES, E. C.; SANTIAGO, A. D.; ELOY, A. P. Efeito tóxico da manipueira sobre *Scutellonema bradys*, causador da casca preta no inhame (*Dioscorea cayennensis*). In: XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2006, Salvador. **Fitopatologia Brasileira**, 2006. v. 31. p. 349-349.
- BENATO, E. A.; SIGRIS, J. M. M.; HANASHIRO, M. M.; MAGALHÃES, M. J. M.; BINOTTI, C. S. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n.4, p. 299 - 304, 2002.
- BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.3, p.553,1981.
- CARRÉ, V.; ZANELLA, A. L.; BECKER, A.; STANGARLIN, J.; PAGLIOSA, L. A.; SCHWAN-ESTRADAK, K. R. F.; GONÇALVES JR, A. C. Fungitoxicidade de quitosana e extrato de *Artemisia camphorata* a *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, supl., p. 291-291, 2002.
- COIMBRA, J.L.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M. da S.; SOUZA, C. da S.; RIBEIRO, F.L.B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 41, n 7, 2006.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extration of nematodes from plant tissue**. Ghent: Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77p.
- DONCASTER, C. C., SHEPHERD, A. M. The behavior of second-stage Heterodera rostochiensis larvae leading to their emergence from the egg. **Nemathologica**, v. 13, p. 476-478, 1967.
- FAO. FAOSTAT - Agricultural statistics database. Rome: World Agricultural Information Centre, 2005. (<http://faostat.fao.org/> - versão 09/05/2005).
- FRANCO, A. **Subsídios à utilização da manipueira com nematicida**. (tese de Mestrado) Fortaleza, Brasil, Universidade Federal do Ceará. 53 pp. 1986.
- FRANCO, D. A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citrus com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n.4, p. 602 – 606, 2000.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v.57, p.1025-1028, 1973.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. et al. **Manual de Fitopatologia**: Revista Raízes e Amidos Tropicais, volume 6, p. 271-279, 2010.

doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1997.

MOURA, R. M. **Doenças do inhame**. In: KIMATI, et al (Eds.) Manual de Fitopatologia. Vol. 2: **Doenças de plantas cultivadas**. 3 ed. São Paulo, 1997. p.463-471.

MORAIS, R. A salvação da lavoura do imperialismo. **A nova democracia**, ano 1, n. 10, 2003. Disponível em: <http://www.anovademocracia.com.br/10/06.htm>. Acesso em: 03/01/2008.

NELMES, A. J. Behavioral responses of *Heterodera rostochiensis* larvae to aldicarb and its sulfoxide and sulfone. *Journal of Nematology*, v. 2, p. 223-227, 1970.

OLIVEIRA, A. P. de. Inhame, alimento indispensável à mesa nordestina. 2006. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/News/Default.asp?id=4966>. Acesso em: 21/11/2007.

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

SANTOS, E.S. **Inhame (*Dioscorea* spp.): aspectos básicos da cultura**. João Pessoa: EMEPA-PB/SEBRAE, 1996. 158p.1996.

SENA, E. S.; PONTE, J.J. da. A manipueira no controle da Meloidoginose da cenoura.

Public. Soc. Bras. Nemat., v. 6, p. 95 -98, 1982.

STAINER, G.; LEHEW, R.R. *Hoplolaimus bradys* n.sp. (Tylenchidae, Nematodes), the cause of disease of yam (*Dioscorea* sp.). **Zoologischer Anzeiger** , v.101, n.9-10, p.260-264, 1993.

ZHAO, X., SCHMITT, M., HAWES, C. M. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematodes behavior. **Phytopathology**, v. 90, p. 1239-1245, 2000.