



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

ERASMO RIBEIRO DA PAZ FILHO

***Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®]) e extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Annona* spp. no tratamento de mudas de bananeira infectadas por nematoides**

RIO LARGO – AL

2019

ERASMO RIBEIRO DA PAZ FILHO

***Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®]) e extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Annona* spp. no tratamento de mudas de bananeira infectadas por nematoides**

Dissertação de Mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Fátima
Silva Muniz

RIO LARGO – AL

2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecário: Erisson Rodrigues de Santana

P348p Paz Filho, Erasmo Ribeiro da

Purpureocillium lilacinum (Lilacel®) e extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Annona* spp. no tratamento de mudas de bananeira infectadas por nematoides. Rio Largo-AL – 2019.

58 f.; il; 33 cm

Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2019.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Silva Muniz.

1. *Musa* spp. 2. Bionemática. 3. *Pratylenchus* spp. I. Título.

CDU: 631.523: 634.773

FOLHA DE APROVAÇÃO
ERASMO RIBEIRO DA PAZ FILHO

Purpureocillium lilacinum (Lilacel®) e extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Annona* spp. no tratamento de mudas de bananeira infectadas por nematoides

Dissertação de Mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas e aprovado em 19/02/2019.



Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz – Universidade Federal de Alagoas (Orientadora)

BANCA EXAMINADORA



Dra. Marylia Gabriella Silva Costa – Universidade Federal de Alagoas (Examinador Externo)



Profa. Dra. Iraildes Pereira Assunção – Universidade Federal de Alagoas (Examinador Interno)

RIO LARGO – AL

2019

Dedico:

Aos meus pais, Erasmo Ribeiro da Paz Neto e Maria de Livramento da Rocha Silva pelo amor dedicado a mim e pelo apoio durante esta caminhada para a realização deste sonho.

AGRADECIMENTO

Nesta jornada que se finaliza hoje, o sentimento é gratidão e solidariedade, e só me resta agradecer por todas as vitórias e derrotas, pelos amigos que conquistei, pela minha família.

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, por me fortalecer nos momentos difíceis.

Aos meus pais Erasmo Ribeiro da Paz Neto e Maria do Livramento da Rocha Silva pelo carinho, amor, incentivo. Todo amor do mundo para eles.

Aos meus irmãos, Carlos Augusto da Rocha Silva, Erimar Ribeiro da Rocha e João Neto Ribeiro da Rocha, pelo carinho, amor, incentivo e compreensão.

Aos meus primos, cunhadas, tios e tias, avós, amigos do Ensino Médio, da graduação em especial, a Maria dos Remédios Oliveira, Antônio Francisco Carvalho, Paulo Gomes da Silva, Aline Lira, Aline Gomes, Larisse Raquel Carvalho, pelo incentivo, companheirismo e afeto.

Agradeço em especial, à minha orientadora Profa Dra. Maria de Fatima Silva Muniz por ter me acolhido no Laboratório de Nematologia, por toda a dedicação, todos os ensinamentos diários, paciência e pela disponibilidade em me ajudar na elaboração e execução desse projeto. Agradeço imensamente por ter me mostrado como ser um bom pesquisador, como conduzir um trabalho científico com organização, principalmente pelos ensinamentos de bancada e na escrita. Meu muito obrigado.

Ao Professor Dr. Gilson Moura Filho, pelo auxílio nas análises estatísticas do trabalho.

Aos amigos que conquistei durante essa caminhada acadêmica: Karen Oliveira de Menezes, Leonara Evangelista Figueiroa, Elmadã Pereira, Valdeir Nunes, David Jossue Espinosa, Emanuel Junior Pereira, Renato de Almeida, Glauber Santos, Vanessa Soares por estarem sempre presentes na minha vida nesta caminhada. Feliz por ter encontrado pessoas como vocês em minha vida.

Aos colegas do dia-a-dia do Laboratório de Fitopatologia e Nematologia, Alison, Sara, Luiz, Isabelle, Natalia, Samario, Marylia e Valdeir, por fazer os meus dias no laboratório não tão solitários.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas pelos conhecimentos compartilhados, amizade e incentivo em fazer o melhor trabalho possível.

À aluna de graduação Natalia Malta, por toda ajuda prestada, pelo auxílio nos experimentos, pelas conversas. Espero ter contribuído para sua formação profissional.

Agradeço a minha banca examinadora composta pela Profa. Dra. Iraildes Pereira e Dra Marylia Costa, pela leitura atenciosa e pelas grandiosas contribuições para a melhoria do meu trabalho.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Centro de Ciências Agrarias-CECA, pela infraestrutura oferecida, pelos serviços prestados, meus agradecimentos.

À CAPES, pela bolsa de estudo oferecida durante o curso.

Aos professores Beatriz Meireles, Cicero Nicolini e Dr. Candido Athayde pelos ensinamentos transmitidos.

RESUMO

Entre os problemas fitossanitários que afetam a cultura da bananeira resultando em perda de produção, destaca-se a presença de nematoides, tais como, *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multincinctus*, *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne* spp. A dispersão desses patógenos se processa principalmente por meio do material propagativo. Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram avaliar o efeito do produto biológico Lilacel® (*Purpureocillium lilacinum*) e extratos aquosos de folhas de nim (*Azadirachta indica*), de pinheira (*Annona squamosa*) e de gravioleira (*A. muricata*) no tratamento de mudas convencionais de bananeira naturalmente infectadas por nematoides. Foram instalados dois experimentos, em casa de vegetação do CECA/UFAL, com mudas de bananeira do tipo chifre cv. Comprida. No primeiro experimento foram testadas cinco dosagens do bionemática (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0%), além das testemunhas (Carbofurano e água). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições. Decorridos quatro meses de cultivo, realizaram-se as avaliações das populações dos nematoides no solo, nas raízes e rizomas e o fator de reprodução. No segundo experimento foram testadas quatro dosagens (0,5; 1,0; 1,5 e 2%) dos três extratos (nim, pinheira e gravioleira), além das testemunhas (Carbofurano e água) e um período de imersão das mudas de 60 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (3x4) com oito repetições. A avaliação do experimento foi realizada três meses após a aplicação dos tratamentos, observando-se o percentual de brotação das mudas, a população de nematoides no solo, rizoma e raízes, e o fator de reprodução. No final do período experimental observou-se 100% de brotação das mudas, nos dois experimentos. Em todos os tratamentos com o bionemática ou com os extratos vegetais houve redução das populações finais de nematoides quando comparadas à testemunha negativa (água).

Palavras-chaves: Bionemática. *Musa* spp. *Pratylenchus* spp.

ABSTRACT

Among the phytosanitary problems that affect the banana crop, resulting in loss of production, are the presence of nematodes such as *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne* spp. The dispersion of these pathogens is mainly through the propagation material. The objective of the present study was to evaluate the effect of the biological product Lilacel[®] (*Purpureocillium lilacinum*) and aqueous extracts of neem (*Azadirachta indica*), sugar apple (*Annona squamosa*) and soursop (*A. muricata*) in the treatment of conventional banana plantlets naturally infected with nematodes. Two experiments were installed in a greenhouse of the CECA / UFAL with banana plantlets cv. Comprida. In the first experiment, five doses of bio-nematicide (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%) were tested in addition to the controls (Carbofuran and water). The experimental design was completely randomized with eight replicates. After four months of cultivation, nematode populations were evaluated in the soil, roots and rhizomes, and the reproduction factor. In the second experiment, four dosages (0.5, 1.0, 1.5 and 2%) of the three extracts were tested in addition to the controls (Carbofuran and water) and a 60-minute immersion period. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (3x4) with eight replications. The evaluation of the experiment was carried out three months after the application of the treatments, observing the sprouting percentage of the seedlings, the nematode population in the soil, rhizome and roots, and the reproduction factor. The sprouting percentage of the seedlings was 100% in the two experiments installed. In all treatments with bio-nematicide or plant extracts there was a reduction of nematode final populations when compared to the negative control (water).

Key-words: Bio-nematicide. *Musa* spp. *Pratylenchus* spp.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	A cultura da banana: Aspectos gerais.....	13
2.2	Principais espécies de fitonematoides que infectam a bananeira.....	13
2.2.1	O nematoide cavernícola (<i>Radopholus similis</i>).....	14
2.2.2	O nematoide das lesões radiculares (<i>Pratylenchus</i> spp.).....	14
2.2.3	O nematoide das galhas (<i>Meloidogyne</i> spp.).....	15
2.2.4	O nematoide espiralado (<i>Helicotylenchus multicinctus</i>).....	16
2.3	Manejo de fitonematoides na cultura da bananeira.....	17
2.3.1	Uso de extratos vegetais no manejo de fitonematoides.....	17
2.3.1.1	<i>Azadirachta indica</i>	18
2.3.1.2	<i>Annona</i> spp.....	18
2.3.2	<i>Purpureocillium lilacinum</i> no manejo de fitonematoides.....	19
2.4	REFERÊNCIAS	21
3	CAPÍTULO 1- <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Lilacel®) in the treatment of banana plantlets infected by plant-parasitic nematodes	31
3.1	REFERÊNCIAS	36
4	CAPÍTULO 2- Extratos aquosos de <i>Azadirachta indica</i> e de <i>Annona</i> spp. no tratamento de mudas de bananeira infectadas por nematoides	43
4.1	INTRODUÇÃO	45
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.4	CONCLUSÕES	54
4.5	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO GERAL

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo produzida na maioria dos países tropicais (GUIMARÃES, 2011). A cultura é a segunda fruta mais produzida no Brasil, perdendo apenas para a laranja. Consumida pelas mais diversas camadas da população, essa fruta tem um consumo per capita em torno de 25 kg/ano (FRANCELLI, 2003). De acordo com Barbosa (2017) a banana, juntamente com o arroz, trigo e o milho são considerados as principais fontes de alimento no mundo. No entanto, a cultura tem sua produtividade considerada baixa nos países tropicais afetada por fatores abióticos e bióticos.

A baixa produtividade da bananeira está relacionada a fatores como o sistema de cultivo utilizado e o ataque de fitopatógenos, dentre os quais, os nematoides, destacando-se *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, *Pratylenchus coffeae* (Zimmerman) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) Golden e *Meloidogyne* spp. Goeldi (BRIDGE; STARR, 2007; SIKORA; COYNE; QUÉNÉHERVE, 2018).

No Estado de Alagoas, existem informações sobre as espécies de nematoides que ocorrem na bananeira. No levantamento das doenças da cultura realizado por Andrade et al. (2009) as fitonematoses causadas por *R. similis*, *H. multicinctus* e *Pratylenchus* sp. foram detectadas em baixos índices de frequência. Entretanto, em estudo posterior, envolvendo 42 amostras de raízes e de solo, foram encontrados *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp. e *R. similis*, com frequências que variam de 36 a 95% e 21 a 98% para as amostras de raízes e solo respectivamente, além da elevada densidade populacional desses patógenos (LIMA et al., 2013).

Dependendo das espécies de fitonematoides no bananal, sintomas podem variar como mais severos, que podem causar o tombamento da planta, como os menos severos, que causam o prolongamento do ciclo vegetativo da cultura. Em condição de tombamento de plantas é comum a perda da colheita, porque a fruta imatura em uma planta tombada geralmente não tem valor comercial, causando perdas qualitativa e quantitativa dos frutos produzidos (SIKORA; COYNE; QUÉNÉHERVE, 2018). Algumas espécies de fitonematoides chegam a causar 100% de perdas, dependendo das condições ambientais, da densidade populacional e da cultivar de banana utilizada (RITZINGER et al., 2007).

No Brasil, os métodos recomendados para o manejo dos nematoides da bananeira são baseados no uso de plantas micro-propagadas, rotação de culturas e nematicidas (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015; CORDEIRO et al., 2016). Porém, existem apenas três nematicidas registrados para a cultura da bananeira contra *R. similis* (AGROFIT, 2019). Métodos alternativos tais como, o uso de agentes de biocontrole com o fungo *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Samson, (sin. *Paecilomyces lilacinus*) aplicado ao solo tem sido relatado (MENDOZA; SIKORA; KIEWNICK, 2007; SILVA et al., 2017), assim como, a utilização de extratos vegetais, incluindo nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e *Annona* spp., vem apresentando resultados promissores (GARDIANO et al., 2011; CAMPOS et al., 2012; DOURADO; LIMA; MURAISHI, 2013; MATEUS et al., 2014).

Entretanto, ainda são escassas as publicações sobre o potencial de extratos de plantas e de agentes de biocontrole no tratamento de material propagativo. Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram avaliar o efeito do produto biológico Lilacel[®] (*P. lilacinum*) e extratos aquosos de folhas de nim, de pinheira (*A. squamosa* L.) e de gravioleira (*A. muricata* L.) no tratamento de mudas convencionais de bananeira naturalmente infectadas por nematoides.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da banana: aspectos gerais

As bananeiras pertencem botanicamente à classe das monocotiledôneas, ordem Scitaminales, família Musaceae, subfamília Musoidea e gênero *Musa* (GASPORATTO et al., 2006). A cultura da bananeira é responsável pela geração de grande número de empregos diretos no Brasil. Isso se deve ao fato de que muitas operações de manejo da cultura, como desfolha, desbrota, despitilagem, retirada do coração, desbaste de pencas, ensacamento de cachos, colheita e manejo pós-colheita da fruta, não podem ser mecanizadas, envolvendo trabalho manual (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015).

É a fruta de maior consumo *per capita in natura* no Brasil, sendo consumida por pessoas de todas as classes sociais. Do ponto de vista nutricional, a banana destaca-se pelo elevado teor de carboidratos, que varia, na polpa, de 20 a 25%. Em relação às vitaminas, 100 g de polpa de banana fornecem 29% das necessidades diárias de vitaminas B6 e 15% de vitamina C. O fruto é matéria-prima para a fabricação de sorvetes, alimentos infantis, sucos, iogurtes, doces em massa, geleias, passas, bolos, aguardentes, chips, além de poder ser fritos, cozido e assado, entre outros. As partes vegetativas das plantas podem ser utilizadas como silagem para alimentação animal, em artesanato, na fabricação de tecidos, como substrato para o cultivo de cogumelos, na fabricação de tijolos, dentre outros (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015).

De acordo com dados da FAO (2017) o país que se destaca no cenário mundial na produção de bananas é a Indonésia com uma produtividade média em torno de 60,2 t/ha. No Brasil é a segunda frutífera mais cultivada, com aproximadamente 7,2 milhões de toneladas, entretanto, a produtividade média brasileira ainda é baixa, apenas 14,3 t/ha. No País, a região Nordeste é a principal produtora, encarregada de aproximadamente 36% da produção nacional. Em Alagoas, a bananicultura constitui-se em uma importante atividade agrícola, pelo papel social que exerce na fixação do homem no campo e na geração de emprego. Em 2016, foram colhidas no estado cerca de 47,448 toneladas de banana, em uma área de 3,821 ha, com produtividade média de 12,42 t/ha, bem inferior à média nacional (AGRIANUAL, 2017; IBGE, 2016).

2.2 Principais espécies de fitonematoides que infectam a bananeira

De acordo com Cordeiro; Matos; Kimati (2016) são várias as espécies de fitonematoides associadas à bananeira. Entretanto, apenas *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne* spp. são tidas como de importância para a cultura.

2.2.1 O nematoide cavernícola (*Radopholus similis*)

Radopholus similis pertence à família Pratylenchidae, representa a espécie mais importante e encontra-se amplamente distribuído na maioria dos países tropicais e subtropicais produtores de banana (SANTOS; CARES, 2016). A maioria das espécies de *Radopholus* é nativa da região que congrega a Austrália e países vizinhos; umas poucas foram descritas de países africanos.

A designação de nematoide cavernícola é devida ao sintoma causado no córtex das raízes e rizomas de bananeiras provocadas pela ação do endoparasitismo migratório, o que ocasiona a desintegração dos tecidos e a formação de cavidades. Em consequência do ataque do nematoide, as raízes se tornam necrosadas, reduzindo a sua capacidade de absorção de água e nutrientes, o que leva ao enfraquecimento do sistema de sustentação da planta, ocasionando o tombamento das mesmas pela ação de vento ou pelo peso do cacho (COSTA, 2000; GASPORATTO; PEREIRA, 2016). Os danos causados nas raízes e no rizoma são atribuídos aos juvenis e fêmeas que se alimentam do citoplasma e, às vezes, do núcleo das células corticais (FERRAZ; BROWN, 2016).

Radopholus similis causa severos danos à bananeira, especialmente em solos arenosos. Nesses solos, e quando associado a altas temperaturas, é provável que seja favorecida a rápida multiplicação do nematoide (FERRAZ; BROWN, 2016), intensificando os danos causados. Entre as bananeiras do subgrupo Cavendish, as perdas causadas por esse nematoide podem chegar a 100% (COSTA et al., 1998).

A dispersão do nematoide cavernícola ocorre principalmente por meio de material propagativo infectado. Entretanto, o uso de implementos agrícolas contaminados, o tráfego de trabalhadores e animais, o escoamento de águas de chuva em áreas de declives e a movimentação de solo infestado com a água de irrigação também favorecem a disseminação do nematoide (SANTOS; CARES, 2016).

2.2.2 O nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.)

Também pertencente à família Pratylenchidae, o gênero *Pratylenchus* é considerado o segundo grupo de fitonematoides mais importante para a agricultura mundial. Possui diversas espécies, de ampla distribuição geográfica, capazes de causarem perdas de importância econômica em várias culturas, tanto em condições de clima tropical como temperado (CASTILLO; VOVLAS, 2007).

Associadas a *Musa* spp., cerca de oito espécies de *Pratylenchus* já foram descritas. Dentre elas, *P. coffeae* e *P. goodeyi* Sher & Allen são as mais disseminadas e reconhecidas como prejudiciais à bananeira (BRIDGE; STARR, 2007). Segundo Gasparotto; Pereira (2016), *P. coffeae* é a única espécie do gênero considerada problema para a cultura no Brasil.

Pratylenchus coffeae é um endoparasito migrador que se alimenta e se multiplica do córtex das raízes e rizomas da bananeira. Todos os estádios de vida e ambos os sexos de *P. coffeae* e *P. goodeyi* invadem e se alimentam do citoplasma das células dos tecidos de raízes e rizomas onde os ovos são depositados (PEREIRA, 2006).

Esse nematoide provoca sintomas similares aos ocasionados por *R. similis*. Assim, em plantas atacadas, lesões necróticas negras ou púrpuras no córtex das raízes e no rizoma e menor número de raízes são os sintomas comumente observados. Consequentemente, pode ocorrer o tombamento do pseudocaule, aumento do ciclo vegetativo, redução da produtividade do bananal, enfezamento da planta e diminuição do tamanho das folhas e do cacho, resultando em expressiva perda de produção (SANTOS; CARES, 2016).

2.2.3 O nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.)

O gênero *Meloidogyne* pertence à família Meloidogynidae foi criado por Göeldi (1887) para designar espécimes de nematoides encontrados em raízes de cafeeiros infestados no Brasil, na Província do Rio de Janeiro. *Meloidogyne* spp. possui uma enorme gama de hospedeiros e causa grandes prejuízos à cultura da bananeira (FREITAS et al., 2001). Segundo Costa (2000), as espécies mais importantes em todas as regiões do País onde se cultiva bananeiras são *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. hapla* Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood. Dentre essas espécies de *Meloidogyne*, relatadas em associação às raízes de bananeiras, em diferentes partes do mundo, apenas *M. incognita* e *M. javanica* são as de maior ocorrência e estão mais amplamente distribuídas, podendo ocorrer infestações pelas duas espécies

concomitantemente (DIAS-ARIEIRA et al., 2008). Conforme Cofcewicz et al. (2004), nas principais regiões produtoras de banana no Brasil, *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* já foram detectadas em 61,7%, 32,2% e 4,3%, das amostras analisadas, respectivamente.

O sintoma característico do ataque por *Meloidogyne* spp. é o engrossamento localizado nas radículas e raízes, formando galhas. O desenvolvimento das galhas radiculares se dá pela hipertrofia e hiperplasia de células do parênquima vascular da raiz. As células hipertrofiadas multinucleadas funcionam como verdadeiros armazéns no suprimento alimentar dos nematoides sedentários (CARNEIRO; MONTEIRO; SANTOS, 2016).

Em consequência do ataque de *Meloidogyne* spp., quando a infestação é severa, o sistema radicular apodrece facilmente e as plantas não absorvem água e nutrientes do solo de forma adequada, reduzindo o seu tempo de vida; crescem menos, mostrando-se amareladas, com menor produção e frutos pequenos (CARNEIRO; MONTEIRO; SANTOS, 2016).

2.2.4 O nematoide espiralado (*Helicotylenchus multicinctus*)

O gênero *Helicotylenchus*, pertence ao grupo dos nematoides espiralados, família Hoplolaimidae. *Helicotylenchus multicinctus* encontra-se amplamente distribuído em plantios de banana no mundo e é considerado o nematoide mais abundante em número, depois de *R. similis* (GASPOROTTO; PEREIRA, 2016).

Juvenis e adultos se alimentam de citoplasma no parênquima cortical das raízes de bananeira. Os sintomas do ataque por *H. multicinctus* consistem em pequenas lesões acastanhadas sob a forma de minipontuações superficiais, localizadas principalmente nas raízes mais grossas. Quando o ataque é muito severo as lesões podem coalescer, dando às raízes um aspecto necrosado, semelhante ao produzido pelo parasitismo por *R. similis* (COSTA, 2000).

Geralmente, *H. multicinctus*, ocorre associado ao *R. similis* em regiões nas quais as condições climáticas são consideradas ótimas para a produção da cultura. Em regiões onde *R. similis* é raro, *H. multicinctus* pode ocorrer em associação com *M. javanica* ou *M. incognita* (CARNEIRO et al., 2016).

2.3 Manejo de fitonematoides na cultura da bananeira

Quando os nematoides já se encontram estabelecidos nos cultivos, torna-se indispensável a adoção de medidas de controle visando a redução da densidade populacional desses organismos. O alqueive por um período mínimo de seis meses, por ocasião da renovação dos bananais e a rotação de culturas com plantas antagônicas como *Tagetes* spp. (cravo-de-defunto), são práticas que têm mostrado eficiência na redução de *R. similis*, *Pratylenchus* sp., *M. incognita* e *H. multicinctus* (COSTA; SANTOS, 2009). Esses autores citaram, ainda, que a destruição de restos culturais durante a renovação das plantações de bananeiras, o uso de matéria orgânica e aplicações de nematicidas são práticas que podem complementar o manejo das nematoses na cultura.

Em diversos sistemas de produção agrícola, espécies de *Crotalaria* e de guandu (*Cajanus cajan* (L) Millsp.) são recomendadas para o manejo de fitonematoides (WANG et al., 2002; FERRAZ et al., 2010). Naganathan et al. (1988) verificaram que populações de *R. similis* e *P. coffeae* foram reduzidas nas raízes de bananeira quando o cultivo foi consorciado, por quatro meses, com *Tagetes* sp., *C. juncea* L., alfafa (*Medicago sativa* L.) ou coentro (*Coriandrum sativum* L.). Em outro estudo, Chitamba et al., (2013) observaram redução na densidade populacional de *R. similis* com a utilização de *C. juncea* em consórcio com bananeira.

Estudos recentes vêm demonstrando que a solarização de mudas de bananeira é uma técnica eficiente na redução da população de fitonematoides evitando assim a disseminação desse nematoide parasita para área isenta (WANG; HOOKS, 2009, ARAUJO et al., 2018). Araújo et al. (2018) constataram que houve redução da população final de *P. coffeae* quando o material propagativo, envolto em plástico transparente foi exposto a luz solar por 6 a 8 h.

Com relação à resistência genética, Santos et al. (2013) avaliando em condição de casa de vegetação a reação de clones de bananeira em relação a uma população de *R. similis*, observaram que os genótipos 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06 comportaram-se como resistentes, demonstrando potencial para serem utilizados em programas de melhoramento. Em outro estudo, plantas transgênicas de bananeira aos fitonematoides *R. similis* e *H. multicinctus* foram testadas em condição de campo na África e apresentaram melhor rendimento, em relação com plantas às não-transgênicas (TRIPATHI et al., 2015).

2.3.1 Uso de extratos vegetais no manejo de fitonematoides

A possibilidade de controle de fitonematoides por meio da utilização de extratos vegetais tem estimulado vários pesquisadores no Brasil e no mundo, envolvendo diversos patossistemas (GARDIANO et al., 2011; VAN DESSEL et al., 2011; MATEUS et al., 2014; KUHN et al., 2015; MARTINS; SANTOS, 2016; FONSECA et al., 2017). Dentre as espécies de plantas que vêm sendo estudadas como matérias-primas para o preparo de extratos, estão incluídas *Azadirachta indica* e *Annona* spp.

2.3.1.1 *Azadirachta indica*

Azadirachta indica, planta conhecida como nim é uma espécie da família Meliaceae, de origem Indiana. Vários trabalhos envolvendo o tratamento de raízes por imersão em extratos foliares dessa planta já foram avaliados em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), berinjela (*Solanum melongena* L.), repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), pimenta (*Capsicum* spp.) e cenoura (*Daucus carota* L.) visando a redução de populações de *Meloidogyne* spp. e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, dentre outros fitonematoides (AKHTAR, 2000, JOHN; HEBSY, 2000; GARDIANO et al., 2006; BARBOSA et al., 2010; BALDIN et al., 2012; BORGES et al. 2013, ALMEIDA et al., 2016). Dentre os ingredientes ativos isolados do nim, foram identificados azadiractina, cuercetina, limonoides, nimbidina, ácido nimbídico e thionimone (SINGH; PRASAD, 2014).

Na cultura da bananeira são poucas as pesquisas envolvendo o uso de extratos vegetais no manejo de nematoides. A exemplo, pode-se citar os trabalhos de Kosma et al. (2011), que testaram formulações à base de sementes de nim; Bartholomew et al. (2014) que empregaram extratos de nim e de alho (*Allium sativum* L.) e Jesus et al. (2014) que avaliaram extrato de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm). Porém, todos esses trabalhos visaram o controle de *R. similis*, por meio da aplicação dos produtos via solo, sendo escassos os estudos relacionados à aplicação de extratos botânicos no tratamento de fitonematoses em material propagativo.

3.3.1.2 *Annona* spp.

As anonáceas têm sido amplamente pesquisadas devido à detecção de diversas classes de substâncias com atividades químicas, farmacológicas, medicinais, inseticidas e

acaricidas, principalmente no que diz respeito aos principais compostos bioativos que são as acetogeninas (LEBOEUF et al., 1982; LIMA; PIMENTA; BOAVENTURA., 2010; TRINDADE et al., 2011; MACIEL et al., 2015). Espécies de *Annona* também vêm sendo estudadas visando a redução de populações de fitonematoides.

Dang et al. (2011) testaram extrato metanólico de sementes de *A. squamosa* contra vários fitopatógenos, incluindo *M. incognita* com resultados positivos. Dentre as substâncias isoladas, a squamocina G, da classe das acetogeninas de anonáceas mostrou potente atividade nematicida contra a referida espécie de nematoide. Em um estudo realizado por Lima (2016) com o objetivo de avaliar a atividade nematicida *in vitro* de extratos aquosos, dentre os quais, soncoya (*Annona purpurea* Moc. & Sesse), araticum-do-brejo (*A. glabra* L.), pinha (*A. squamosa* L.) e de biribá (*A. mucosa* Jacq.) sobre *Scutellonema bradys*, constatou-se efeito nematostático e nematicida dos extratos testados sobre o nematoide, evidenciando o potencial das anonáceas no manejo de fitonematoides. Em outro estudo foi realizada uma investigação sobre a atividade nematicida *in vitro* do extrato hidroalcolico e de suas frações (diclorometano, acetato de etila, metanol e água) de *A. crassiflora* Mart. sobre o nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans* Maupas. Os resultados indicaram que o extrato e suas frações de *A. crassiflora* possuem uma potente atividade nematicida contra o nematoide (MACHADO et al., 2015).

As acetogeninas presentes exclusivamente na família Annonaceae são substâncias naturalmente bioativas, caracterizadas por apresentar ação citotóxica, antitumoral, inseticida, vermicida, antimicrobiana, imunossupressora e antimalárica (BERMEJO et al., 2005; LIMA et al., 2012). O modo de ação das acetogeninas com propriedades inseticidas é devido a esses compostos bioativos atuarem na inibição do complexo proteico nicotinamida adenina dinucleotídeo - NADH-ubiquinona oxido-redutase, impedindo o transporte de elétrons no complexo I mitocondrial, causando a morte do inseto (ALALI; LIU; McLAUGHLIN, 1999). Com relação a *C. elegans* foi testada a asimicina, acetogenina obtida da espécie *Asimina triloba* L. (Annonaceae) que demonstrou uma ação citotóxica contra o referido nematoide (VIEIRA; MAFEZOLI; BIAVATTI, 2007). No entanto, não foi encontrado na literatura científica o modo de ação das acetogeninas das anonáceas sobre fitonematoides.

2.3.2 *Purpureocillium lilacinum* no manejo de fitonematoides

Dentre os organismos com potencial para o controle biológico de nematoides parasitas de plantas, destaca-se o fungo nematófago *Purpureocillium lilacinum* (SILVA, 2015). *Purpureocillium* é um fungo antes pertencente ao gênero *Paecilomyces* (Thom.) Samson (1974) e constitui uma pequena parte do filo Ascomycota (SILVA, 2015). De acordo com Luangsa-ard et al., (2011) foi feita uma reclassificação da espécie *Paecilomyces lilacinum* que passou a ser *P. lilacinum*. O primeiro estudo de *P. lilacinum* associado a nematoides fitoparasitas foi realizado em 1979 quando foi isolado de ovos de *Meloidogyne incognita* no Peru (JATALA; KALTENBACH; BOCANGEL, 1979).

O fungo *P. lilacinum*, é altamente adaptável quanto a sua estratégia de sobrevivência, dependendo da disponibilidade de nutrientes, pode ter ação entomopatogênica, micoparásita, saprófita ou nematófaga (MEDEIROS et al., 2018; SILVA, 2015). *Purpureocillium lilacinum* é um parasita facultativo de ovos e fêmeas (SILVA, 2015).

Pesquisas vêm sendo executadas visando demonstrar o potencial e a eficiência de *P. lilacinum* no manejo de fitonematoides em diversas culturas de importância agrícola. Estudo realizado por Santiago et al. (2006) no qual avaliaram a atividade de *P. lilacinum* no manejo de *M. paranaensis* em tomateiro, constataram diferença variando entre 54,98 e 99,93% na redução do número de ovos em comparação com a testemunha. Estudo posterior realizado por Sabet et al. (2013) os autores avaliaram *P. lilacinum* sobre ovos de *M. javanica* e observaram um controle de até 65%.

Silva (2015) avaliando a ação de linhagens de *Pochonia chlamydosporia* e *P. lilacinum* no controle de *M. enterolobii* em bananeira cv. Terra e tomateiro cv. Santa Clara, concluiu que as linhagens utilizadas no estudo reduziram o número de ovos do nematoide testado. Na cultura do tabaco, pesquisa realizada por Redolfi (2014) avaliando a eficiência de nematicidas biológicos à base de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinum* sobre *M. javanica* e *M. incognita* constatou que os nematicidas biológicos reduziram a quantidade de massas e o número de ovos comparando com a testemunha.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL Online. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Informações em Agronegócios, 2017.

AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários, 2019. Disponível em: <<http://www.agrofit.com.br/novportal>>. Acesso em: 02 mar. 2019.

AKHTAR, M. Nematocidal potential of the neen tree *Azadirachta indica* (A. Juss.). **Integrated Pest Management Reviews**, v. 5, p.57-66, 2000.

ALMEIDA, F.A. et al. Toxicidade de extratos vegetais sobre *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate. **International Journal of Current Research**, v. 8, p.38476-38481, 2016.

ALALI, F.Q.; LIU, X.X.; McLAUGHLIN, J.L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v.62, n.3, p.504-40, 1999.

ANDRADE, F.W.R. et al. Ocorrência de doenças em bananeiras no Estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, v.35, p.305-309, 2009.

ARAUJO, J. J. S. et al. Management of *Pratylenchus coffeae* on banana plantlets by solarization. **Nematropica**, v. 48, p. 21-26, 2018.

BALDIN, E.L.L. et al. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide-das-galhas em cenoura. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.1, p.36-41, 2012.

BARBOSA, L.F. et al. Uso de produtos alternativos no controle de nematoides na cultura do inhame (*Dioscorea* sp). **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 6, p. 241-247, 2010.

BARBOSA, R.T. **Tratamento de mudas de bananeira Prata Anão com o fungo *Pochonia chlamydosporia* visando a proteção contra o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica***. 2017. 37 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

BARTHOLOMEW, E. S. et al. Control of root-burrowing nematode (*Radopholus similis*) in banana using extracts of *Azadirachata indica* and *Allium sativum*. **Journal of Organic Systems**, v. 9, n. 2, p. 49-55, 2014.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, v.22, n.2, p.269-303, 2005.

BRIDGE, J.; STARR, J. L. Tree, plantations, and cash crops. In: BRIDGE, J.; STARR, J. L. **Plant nematodes of agricultural importance**. Boston: Academic Press, 2007, p. 97-134.

BORGES, F.G. et al. Toxicidade de tratamentos alternativos e químicos *in vitro* sobre *Tubixaba tuxaua* e *Meloidogyne incognita*. **Scientia Agraria Paranaensis – SAP**, v.12, p. 440-449, 2013.

CAMPOS, V.A.C. et al. Screening de plantas da família annonaceae com atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita*. **Anais...Congresso Brasileiro de Química**. 2012.

CARNEIRO et al. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, C. M. G. de; SANTOS, M. A. dos; CASTRO, L. H. S. e (Org.). **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium, 2016. p. 47-70.

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. Leiden: Brill, 2007. 529p.

CHITAMBA, J. et al. Evaluation of legume intercrops on the population dynamics and damage level of burrowing nematode (*Radopholus similis*) in banana (*Musa* spp.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, p. 1-15, 2013.

COFCEWICZ, E. T. et al. Enzyme phenotype and genetic diversity of root-knot nematodes parasitizing *Musa* in Brazil. **Nematology**, v.6, p.85-95, 2004.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A.P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L.E.A. (Org). **Manual de**

Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 2016. p.109- 123. 2 v.: il.

COSTA, D.C. Doenças causadas por nematóides. In: CORDEIRO, Z.J.M. (Org.). **Banana – Fitossanidade.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 66-77. (Frutas do Brasil; 8).

COSTA, D.C.; SANTOS, J.R.P. Occurrence, damage and management of plant parasitic nematodes on bananas in Brazil. In: **II International Congress of Tropical Nematology.** 2009. Maceió: ONTA:SBN, 2009. 1 CD-ROM.

COSTA, D. C.; SILVA, S. O.; ALVES, F. R. Reações de genótipos de bananeira (*Musa* spp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 22, p. 49-57, 1998.

DANG, Q. L. et al. Nematicidal and antifungal activities of annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* against various plant pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 11160-11167, 2011.

DIAS-ARIEIRA, C. R. D.; MOLINA, R. O.; COSTA, A. T. Nematoides causadores de doenças em frutíferas. **Agro@ambiente**, v.2, p.46-56, 2008.

DOURADO, D.P.; LIMA, F.S.O.; MURAISHI, C.T. Atividade nematicida *in vitro* e *in vivo* do óleo essencial de nim sobre *Meloidogyne incognita*. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.6, n.1, p.63-68, 2013.

FAO, 2018. Produção por países. Disponível em:<<http://faostat.fao.org/site/567.DesktopDefault.aspx?PAGEID=567#ancor>> Acessado em 15 jan. 2019.

FRANCELLI, M. **Importância econômica da banana.** Embrapa Mandioca e Fruticultura. Sistema de produção 6. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>> Versão eletrônica jan/2003. Acesso em 04 de março de 2019.

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

FERRAZ, S. et al. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2010. 306p.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 90p.: il. (Cadernos didáticos, 58).

FONSECA, W. L. et al. Bioactivity of aqueous extracts of *Anadenanthera macrocarpa* to *Meloidogyne incognita* in cotton crops. **Australian Journal of Crop Science** , v. 11, p. 156-161, 2017.

GARDIANO, C.G.A. **A atividade nematocida de extratos aquosos e tinturas vegetais sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949**. 2006. 78 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras-UFLA, Minas Gerais.

GARDIANO, C. G. et al. Efeito de extratos aquosos de espécies vegetais sobre a multiplicação de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 78, n. 4, p. 553-556, 2011.

GASPORATTO, L.; PEREIRA, J.C.R. **Manual de identificação de doenças e pragas da cultura da bananeira**. – Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2016, 110 p.

GASPORATTO et al. **Sigatoka-negra da bananeira**. – Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2006, 117 p.

GUIMARÃES, C.P. **Controle biológico de fitonematóides na cultura da bananeira no Norte de Minas Gerais**. 2011. 90 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Montes Claros - Campus Janaúba.

IBGE–**Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pi&tema=lavourapermanente2017>.
Acessado em 15 abr. de 2018.

JATALA, P.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M. Biological control of *Meloidogyne incognita* and *Globodera pallida* on potatoes. Resumo. **Journal Nematology**. v.11, p.303, 1979.

JESUS, F. N. et al. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 2, p. 783-791.

JOHN, A.; HEBSY, B. Bare-root dip of brinjal seedlings in phytochemicals for the management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Journal of Tropical Agriculture**, v. 38, p. 69-72, 2000.

KOSMA, P. et al. Assessment of nematicidal properties and phytochemical screening of neem seed formulations using *Radopholus similis*, parasitic nematode of plantain in Cameroon. **Crop Protection**, v.30, p.733-738, 2011.

KUHN et al. Extratos aquosos de plantas daninhas, aromáticas e oleaginosas no controle de *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v. 45, p. 150, 2015.

LEBOEUF, M. et al. The phytochemistry of the annonaceae. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2783-2813, 1982.

LIMA, L.A.R.S.; PIMENTA, L.P.S.; BOAVENTURA, M.A.D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1129-1138, 2010.

LIMA, L.A.R.S. et al. Avaliação da atividade citotóxica das sementes de *Annona cornifolia* A. St.-Hil. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.4, p.629-634, 2012.

LIMA, R.S. et al. Frequencies and population densities of the major phytonematodes associated with banana in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, v.43, p.186-193, 2013.

LIMA, R.S. **Manejo da casca-preta-do-inhame com produtos vegetais e bionematicida**. 2016. 89 p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)- Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo.

LUANGSA-ARD, J. et al. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiol Lett**. v.321, p.141-149, 2011.

MACHADO, A.R.T. et al. Nematicidal activity of *Annona crassiflora* leaf extract on *Caenorhabditis elegans*. **Parasites & Vectors**, v.8, n.113, p. 1-5, 2015.

MACIEL, A.G.S. et al. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, p. 4370-4375, 2015.

MARTINS, M.C.B.; SANTOS, C.D.G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 135-142, 2016.

MATEUS, M. A. F. et al. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 730-736, 2014.

McSORLEY, R.; PARRADO, J. L. *Helicotylenchus multicinctus* on bananas: an international problem. **Nematropica**, v. 16, p. 73-91, 1986.

MEDEIROS, F. R. et al. Ocorrência de *Purpureocillium lilacinum* em ninfas de mosca-negra-dos-citros. **Revista Brasileira de Fruticultura** [online], v.40, n.2, p. 1-3, 2018.

MENDOZA, A. R.; SIKORA, R. A.; KIEWNICK. S. Influence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on the biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis* in banana. **Nematropica**, v.37, n.2, p.203-213, 2007.

MORILLO, S.R.M.; SILVA, G.S. Efeito antagônico de feijão-de-porco sobre *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.4, p.3015-310, 2015.

NAGANATHAN, T.G.; ARUMUGAN, M.; KULASEKARAN, S.V. Effect of antagonistic crops as intercrops on the control of banana nematodes. **South Indian Horticulture**, v.36, p. 268-269, 1988.

OLIVEIRA, C. M. G. de; SANTOS, M. A. dos; CASTRO, L. H. S. e (Org.). **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium, 2016. 367 p.

PEREIRA, A. M. **Identificação e manejo de nematoides da bananeira no Leste do Estado do Paraná**. 2006. 104p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Paraná. Paraná.

REDOLFI, A. **Avaliação da eficiência de nematicidas biológicos a base de *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia* no manejo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* na cultura do tabaco**. 2014. 45 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RITZINGER, C.H.S. et al. Fitonematóides associados a bananais ‘pacovan’ sob condição de cultivo irrigado: relação com a produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 677-680, 2007.

SABET, F. et al. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* by four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on tomato plants. **Iranian Journal of Plant Pathology**. v.49, n.2, p. 65-67, 2013.

SALOMÃO, L.C.C.; SIQUEIRA, D.L. **Cultivo de bananeira**. – Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015, 109 p.

SANTIAGO, D. C. et al. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. **Ciência Rural**. v. 36, n.4, p.1055-1064, 2006.

SANTOS, J.R.P.; CARES, J.E. Gênero *Radopholus*. In: OLIVEIRA, C. M. G. de; SANTOS, M. A. dos; CASTRO, L. H. S. (Org.). **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium, 2016. 367 p.

SANTOS, J. M. Doenças causadas por nematoides. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 311-317, 2000.

SANTOS, J. R. P. et al. Selection of *Musa* genotypes for resistance to *Radopholus similis* Cobb. **Nematropica**, v. 43, p. 1-8, 2013.

SILVA, G. S. Métodos alternativos de controle de fitonematoides. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 19, p. 81-152, 2011.

SILVA, G. A. et al. Efeito de extratos vegetais sobre o parasitismo do *Meloidogyne incognita* (Kofoide & White) Chitwood, 1949, no algodoeiro. **Natureza on line**, v. 9, n. 2, p. 82-86, 2011.

SILVA, S.D. **Avaliação da patogenicidade de isolados de *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinum* sobre ovos de *Meloidogyne enterolobii***. 2015. 108 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília, 2015.

SIKORA, R.; COYNE, D.; QUÉNÉHERVE, P. Nematodes Parasites of Banana and Plantains. In. SIKORA, R.A.; COYNE, D.; HALLMANN.; TIMPER, P. (Org). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 3. rev. Boston: CABI. 2018, p. 617-657.

SINGH, A. U.; PRASAD, D. Management of plant-parasitic nematodes by the use of botanicals. **Journal of Plant Physiology & Pathology**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2014.

TRINDADE, R. C. P. et al. Larvicidal Activity and Seasonal Variation of *Annona muricata* (L.) Extract on *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 37, p. 58-62, 2011.

TRIPATHI, L. et al. Field resistance of transgenic plantain to nematodes has potential for future African food security. **Scientific Reports**, v. 5, p.1-10, 2015.

VAN DESSEL, P. et al. In vitro nematicidal effect of endophytic *Fusarium oxysporum* against *Radopholus similis*, *Pratylenchus goodeyi* and *Helicotylenchus multicinctus*. **Nematropica**, v. 41, p. 154-160, 2011.

VIEIRA, P.C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M.W. Inseticidas de origem vegetal. In: CORREIA, C.G.; VIEIRA, P.C. **Produtos vegetais no controle de insetos**. 2. Ed. São Paulo; EdUFScar, 2007. p. 69-103.

WANG, K.H.; SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: a review. **Nematropica**, v.32, p.35-57, 2002.

WANG, K. H., HOOKS, C. R. R. **Survey of nematodes on banana in Hawai'i, and methods used for their control.** Honolulu: CTAHR, 2009, p. 1 – 7.

**3- Capítulo 1- *PURPUREOCILLIUM LILACINUM* (LILACEL[®]) IN THE
TREATMENT OF BANANA PLANTLETS INFECTED BY PLANT-PARASITIC
(Comunicação científica redigida conforme normas da Revista Nematropica)**

PURPUREOCILLIUM LILACINUM (LILACEL[®]) IN THE TREATMENT OF BANANA PLANTLETS INFECTED BY PLANT-PARASITIC NEMATODES

E. R. Paz Filho¹, M. F. S. Muniz^{1*}, A.V. D. L. Almeida¹, N. H. M. Soares¹, G.

Moura Filho,¹ and F. S. Rocha²

¹Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, CEP 57100-000 Rio Largo, AL, Brazil; ²Universidade Federal de Minas Gerais, CEP 39404-547 Montes Claros, MG, Brazil. *Corresponding author: mf.muniz@uol.com.br

Running Head: *Purpureocillium lilacinum* in the treatment of banana. Paz Filho *et al.*

ABSTRACT

Paz Filho, E. R., M. F. S. Muniz, A.V. D. L. Almeida, N. H. M. Soares, G. Moura Filho, and F. S. Rocha. 2019. *Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®]) in the treatment of banana plantlets infected by plant-parasitic nematodes. *Nematropica* 49:00-00.

Among pests and diseases affecting banana crops which ultimately lead to yield losses the presence of plant-parasitic nematodes, such as *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multincinctus*, *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne* spp., are to be considered. The dispersion of these pathogens in the field occurs mainly via propagative material. The objective of the present study was to evaluate banana suckers cv. Comprida, naturally infected by a mixed population of *R. similis* (3.21%), *Helicotylenchus* sp. (7.91%), *Meloidogyne* sp. (1.37%) and *Pratylenchus* sp. (87.51%), under greenhouse conditions, treated with *Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®] 1x10⁸ CFU/mL). Five doses of the bionematicide were tested (0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1.0%), plus the controls (Carbofuran

and water). Banana suckers were dipped in the treatment solutions for 60 minutes and planted in pots filled with sterilized soil. The experiment was performed in a completely randomized design with eight replicates. The percentage of emergence and the nematode population in the soil, rhizome and roots as well as the reproduction factor were evaluated after four months. The regression analyses between the variables were better represented by the linear, quadratic or square root models. Final nematode populations were reduced for all treatment, when compared to the negative control (water).

Key words: biological nematicide, *Musa* spp., nematophagous fungus, *Pratylenchus* spp.

RESUMO

Paz Filho, E. R., M. F. S. Muniz, A.V. D. L. Almeida, N. H. M. Soares, G. Moura Filho e F. S. Rocha. 2019. *Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®]) no tratamento de mudas de bananeira infectadas por fitonematoides. *Nematropica* 49:00-00.

Entre os problemas fitossanitários que afetam a cultura da bananeira resultando em perda de produção, destaca-se a presença de nematoides, tais como, *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne* spp. A dispersão desses patógenos se processa principalmente por meio do material propagativo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de *Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®] 1x10⁸ UFC/mL) no tratamento de mudas de bananeira cv. Comprida naturalmente infectadas por uma população mista constituída por *R. similis* (3,21%), *Helicotylenchus* sp. (7,91%), *Meloidogyne* sp. (1,37%) e *Pratylenchus* sp. (87,51%), em condição de casa de vegetação. Foram testadas cinco dosagens do bionematicida (0,2; 0,4;

0,6; 0,8; 1,0%), além das testemunhas (Carbofurano e água). As mudas foram imersas em cada um dos tratamentos por 60 minutos e plantadas em vasos contendo solo esterilizado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições. Decorridos quatro meses de cultivo realizaram-se as avaliações das populações dos nematoides no solo, nas raízes e rizomas e o fator de reprodução. As análises de regressão entre as variáveis foram melhores representadas pelos modelos linear, quadrático ou raiz-quadrático. Em todos os tratamentos com o bionematicida houve redução das populações finais de nematoides quando comparadas à testemunha negativa (água).

Palavras-chave: fungo nematófago, *Musa* spp., nematicida biológico, *Pratylenchus* spp.

Plant parasitic nematodes are amongst the constraints to banana (*Musa* spp.) production in Brazil. Many nematode species are associated to the crop, however, only *Radopholus similis*, (Cobb) Thorne, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) Golden, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filipjev and Schuurmans Stekhoven and *Meloidogyne* spp. are considered economically important pests (Cordeiro *et al.*, 2016). These phytonematodes are involved in the destruction of the primary roots, disrupting the anchorage system and resulting in toppling of the plants (Sikora *et al.*, 2018). According to Ritzinger *et al.* (2007) some species may cause crop yield losses up to 100%, depending on the environmental conditions, level of nematode inoculum, and the banana cultivar.

In Brazil, the methods recommended for the management of plant-parasitic nematodes on banana are based on the use of micro-propagation plants, crop rotation, and chemical nematicides (Salomão and Siqueira, 2015; Cordeiro *et al.*, 2016). Alternative management approaches, for instance the use of biological control agents such as the fungus *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Samson, (formerly *Paecilomyces lilacinus*)

applied to the soil, have been reported (Kiewnick *et al.*, 2004; Mendoza and Sikora, 2009; Silva *et al.*, 2017). However, information about the application of this fungus to treat planting material has not been recorded. In view of this, the objective of the present study was to evaluate doses of the biological product Lilacel[®] containing *P. lilacinum* in the treatment of banana suckers naturally infected by phytonematodes.

The experiment was performed at the Center for Agricultural Sciences/Federal University of Alagoas, Rio Largo, state of Alagoas, Brazil, from July to November 2017, with an average monthly temperature ranging from 20 to 31°C. Planting material consisted of suckers of banana cv. Comprida (cooking banana), obtained from a field with a history of infection by phytonematodes. Before the application of the treatments, the initial population (Pi) of nematodes was estimated in each individual sucker by extraction of nematodes from 10 g of rhizome tissues, by maceration and centrifugal-flotation method (Coolen and D'Herde, 1972).

The experiment was conducted in a completely randomized design, with seven treatments and eight replicates, where each experimental unit was considered one plant per pot. The treatments consisted of five doses of the biological product Lilacel[®] (1×10^8 colony forming units – CFU/mL): 0.2%; 0.4%; 0.6%; 0.8% and 1.0% plus water (negative control) and the chemical nematicide Carbofuran (Furadan[®] 350 SC; 400 mL of the commercial product per 100 L water) as positive control. After the immersion period of 60 minutes, the plantlets were transferred to 8 L plastic pots, containing sterilized soil and kept up under greenhouse conditions.

After 4 months the percentage of emergence of suckers and the nematode population in the soil, rhizome and roots were evaluated. The nematodes were extracted from 100 cm³ of soil and 10 g of plant tissue (roots and rhizome) according to Jenkins (1964) and Coolen and D'Herde (1972), respectively. After the extraction, nematodes were fixed in a 4%

formaldehyde heated solution. The identification and quantification of the nematodes were carried out based on the counting of 1 ml suspension in a Peters' slide, under an inverted light microscope, according to Mai and Mullin (1996) and Mekete *et al.* (2012). Nematode reproduction factor (Rf) [Rf = final population (root+rhizome+soil)/initial population from the rhizome] for each sample was calculated according to Oostenbrink (1966).

The Lilliefors-test of homogeneity of variances and normality on the data was applied and only $\log(x+1)$ achieved normal distributed data. Then, the results were subjected to analysis of variance (F-test) and the averages were grouped by Scott-Knott test at 5% significance. In addition, regression analyses between nematode population densities in soil, roots and rhizome, total nematode populations and Rf versus the doses of Lilacel[®] were done with $\log(x+1)$ transformed data. The statistical models were chosen based on the significance of the regression coefficient by F-test, considering the values of t-test and the mean square error of regression and also the analysis of variance of the data set. When more than one model was significant, the model with the highest determination coefficient (R^2 adjusted) was used. The statistical analyses were performed using the softwares SAEG 5.0 and Fcalc 1.2 (Moura Filho and Cruz, 2000).

The estimation of the initial population (P_i) of nematodes showed a mixed population formed by *R. similis* (3.21%), *Helicotylenchus* sp. (7.91%), *Meloidogyne* sp. (1.37%) and *Pratylenchus* sp. (87.51%). There was no significant difference ($P \leq 0.05$) by the Scott-Knott test to initial population (P_i), showing a uniform infection level of plant parasitic nematodes among treatments (Table 1). The percentage of suckers emergence in all treatments was 100%.

Nematode population densities and reproduction factor were reduced by the doses of Lilacel[®], and also by the use of the chemical nematicide, compared to the untreated control (Table 1, Fig. 1). Similar effect was reported by Mendoza and Sikora (2009) who

demonstrated that *P. lilacinum* was an effective biocontrol agent against *R. similis* in banana, when applied into the soil. Another commercial formulation Nemout[®] based on *P. lilacinum* was also effective against *Pratylenchus* spp. on sugarcane (Oliveira *et al.*, 2011).

Insert Fig. 1

Purpureocillium lilacinum is known for its parasitic behavior on exposed eggs and females of sedentary nematodes (Ferraz *et al.*, 2010). The *P. lilacinum* protease and chitinase enzymes, either individually or in combination, reduced hatching of *M. javanica* juveniles (Khan *et al.*, 2004). Moreover, it was also observed that occasionally, this fungus penetrated the mobile stages (juveniles and adults) of the migratory nematode *R. similis* (Khan *et al.*, 2006).

Despite the positive findings obtained in the present study, which provides another tool for the treatment of planting material infected with plant-parasitic nematodes, field experiments are needed in order to determine the efficiency of the commercial formulation Lilacel[®] in banana production, and to confirm greenhouse results.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed in part by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - Finance Code 001. To Empresa Caxiense de Controle Biológico Ltda (ECCB), for providing the biological product.

LITERATURE CITED

- Coolen, W. A., and C. J. D'Herde. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Agricultural Research Centre, 77p.
- Cordeiro, Z. J. M., A. P. Matos, H. Kimati. 2016. Doenças da bananeira. Pp. 109-123 in Amorim, L., J. A. M Rezende, A. Bergamin Filho, and L. E. A. Camargo (Org). 5 ed. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas, v. 2. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres.
- Ferraz, S., L. G. Freitas, E. A. Lopes, and C. R. Dias-Arieira, 2010. Manejo sustentável de fitonematoides. Viçosa, MG: Ed. UFV, 306p.
- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692.
- Khan, A., K. L. Williams, and H. K. M. Nevalainen. 2004. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biological Control* 31:346-352.
- Khan, A., K. L. Williams, and H. K. M. Nevalainen. 2006. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *BioControl* 51:659-678.
- Kiewnick, S., A. Mendoza, and R. A. Sikora, 2004. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Journal of Nematology* 36:326-327. Abstract.
- Mai, W. F., and P. G. Mullin, 1996. Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera. 5 ed. Edition. Ithaca: Cornell University, 277p.
- Mekete, T., A. Dababat, N. Sekora, F. Akyazi, and E. Abebe. 2012. Identification key for agriculturally important plant-parasitic nematodes: a manual for nematology. Mexico: CIMMYT, 22p. Online <<http://nematologia.com.br/wp-content/uploads/2013/07/nemkeymex.pdf>>.

- Mendoza, A. R., and R. A. Sikora. 2009. Biological control of *Radopholus similis* in banana by combined application of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* strain 162, the egg pathogen *Paecilomyces lilacinus* strain 251 and the antagonistic bacteria *Bacillus firmus*. *BioControl* 54:263–272.
- Moura Filho, G., and C. D. Cruz. 2000. Fcalc for Windows v.1.2: Programa para cálculo do F corrigido em análises de regressão: Teste dos coeficientes. Viçosa, MG: UFV. Software.
- Oliveira, M. K. R. S., A. Chaves, D. A. N. Vieira, E. J. Silva, and W. D. L. Rodrigues. 2011. Controle biológico de fitonematóides do gênero *Pratylenchus* através de inoculante natural em cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 6:203-207.
- Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Wageningen: Mededelingen Landbouwhoge School, 46p.
- Ritzinger, C. H. S. P., C. A. S. Ledo, and R. C. Caldas. 2007. Fitonematoides associados a bananais ‘pacovan’ sob condição de cultivo irrigado: relação com a produção. *Revista Brasileira de Fruticultura* 29:677-680.
- Salomão, L. C. C., and D. L. Siqueira, 2015. Cultivo da bananeira. Viçosa, MG: Ed. UFV, 109p.
- Sikora, R., D. Coyne, and P. Quénehervé. 2018. Nematodes parasites of bananas and plantains. Pp. 617-657 in Sikora, R., D. Coyne, J. Hallmann, and P. Timper (Eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 3 ed. Boston, MA: CABI.
- Silva, S. D., R. M. D. G. Carneiro, M. Faria, D. A. Souza, R. G. Monnerat, and R. B. Lopes. 2017. Evaluation of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum*

for suppression of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and banana. Journal of Nematology 49:77.

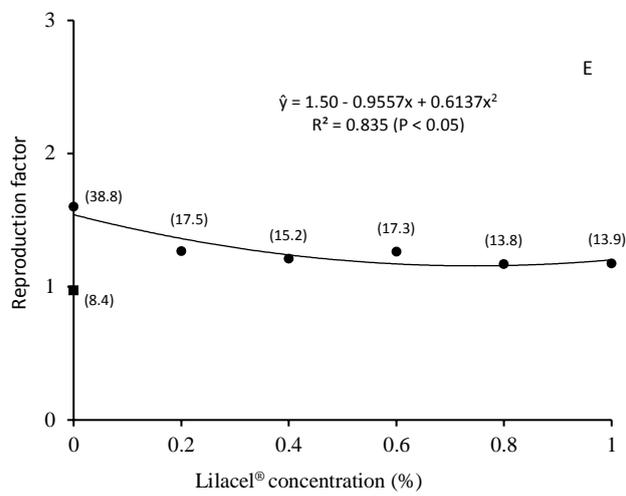
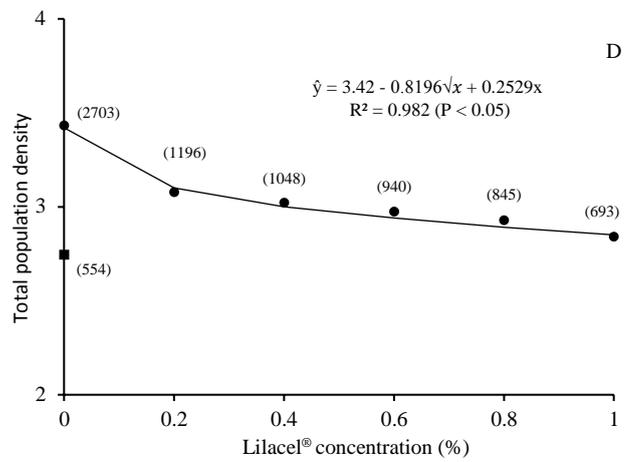
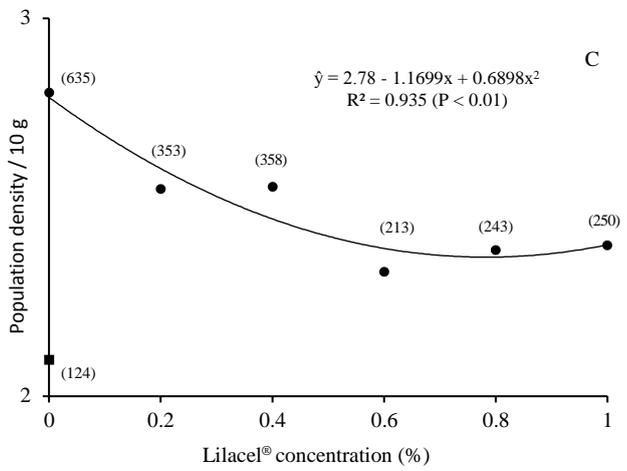
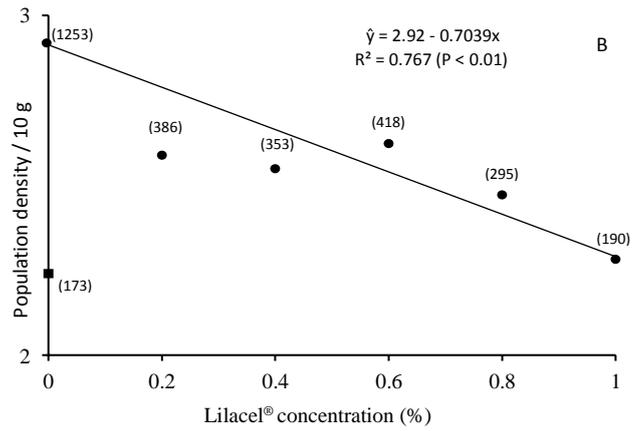
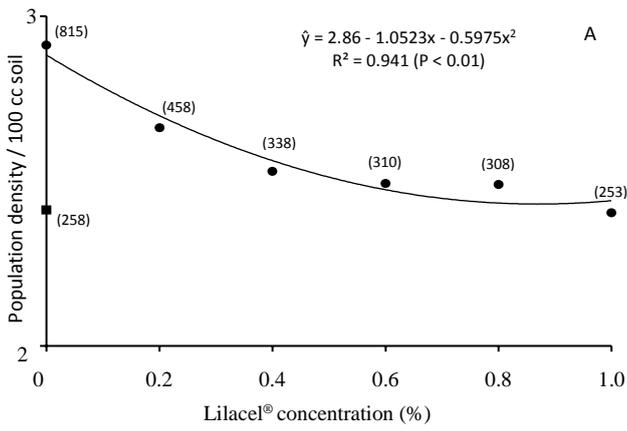
Table 1. Initial population (Pi) in 10 g rhizome; nematode population densities in 100 cm³ soil (NPS), 10 g roots (NPR) or rhizome (NPRH), total number of nematodes (TNN) and reproduction factor (Rf) assessed four months after the application of Lilacel[®] on banana plantlets. CECA/UFAL, Rio Largo, AL. 2017.

Treatments	Pi	NPS	NPR	NPRH	TNN	Rf
Water	91.3 a	815.0 a	1252.5 a	635.0 a	2702.5 a	38.82 a
0.2 %	70.0 a	457.5 b	386.0 b	352.5 b	1196.0 b	17.5 b
0.4 %	75.0 a	337.5 c	352.5 b	357.5 b	1047.5 b	15.2 b
0.6 %	62.5 a	310.0 c	417.5 b	212.5 c	940.0 c	17.3 b
0.8 %	63.8 a	307.5 c	295.0 b	242.5 c	845.0 c	13.8 b
1.0 %	58.8 a	252.5 c	190.0 c	250.0 c	692.5 d	14.0 b
Carbofurano	68.8 a	257.5 c	172.5 c	123.8 d	553.8 d	8.4 b
MSR	0.0298 ^{ns}	0.0188 ^{**}	0.0299 ^{**}	0.0243 ^{**}	0.0075 ^{**}	0.0388 ^{**}
DF	49	49	49	49	49	49
Mean	70.00	391.07	438.00	310.54	1139.61	17.83
CV (%)	9.5	5.4	6.9	6.5	2.9	16.4

Analysis of variance with the data converted into log (x+1). Means followed by the same letter within a column do not significantly differ by the Scott-Knott test (P<0.05). MSR: Mean-square residue. DF: Degrees of Freedom. ^{ns}Not significant at 5% probability by F-Test. ^{**}Significant at 1% probability by F-Test. CV: coefficient of variation.

LIST OF FIGURES

Fig 1. Nematode population densities and reproduction factor in log (x+1) scale in banana plantlets cv. Comprida in response to different concentrations of *Purpureocillium lilacinum* (Lilacel[®]) and chemical nematicide (■). A) Soil, B) Root, C) Rhizome, D) Total population and E) Reproduction factor. Numbers in parentheses represent the average of the treatments with untransformed data.



4 Extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Annona* spp. no tratamento de mudas de bananeira infectadas por nematoides

RESUMO

A bananeira (*Musa* spp.) é a segunda frutífera mais produzida e a primeira mais consumida no Brasil. Entre os problemas que afetam a cultura resultando em perda de produção destaca-se a presença de nematoides. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da utilização de extratos foliares aquosos de *Azadirachta indica* (nim), *Annona muricata* (graviroleira) e *A. squamosa* (pinheira) no tratamento de mudas de bananeira cv. Comprida naturalmente infectadas por fitonematoides, em condição de casa de vegetação. Foram testadas quatro dosagens (0,5; 1,0; 1,5 e 2%) dos três extratos, além das testemunhas (Carbofurano e água) e um período de imersão das mudas de 60 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (3x4) com oito repetições. A avaliação do experimento foi realizada três meses após a aplicação dos tratamentos, observando-se as seguintes variáveis: percentual de brotação das mudas, a população de nematoides no solo, rizoma e raízes, e o fator de reprodução. Houve interação significativa entre extratos x doses para a variável população final de nematoides na raiz, no rizoma e a população final total. Observou-se redução da população final no solo, na raiz e no rizoma e no fator de reprodução nas mudas tratadas com extratos foliares de nim, graviroleira e pinheira comparada com a testemunha negativa (água).

Palavras-chave: *Musa* spp.; Controle alternativo; *Pratylenchus* spp.

ABSTRACT

The banana tree (*Musa* spp.) is the second most produced fruit and the first one most consumed in Brazil. Among the problems that affect the crop resulting in loss of production stands out the presence of nematodes. The dispersion of these pathogens occurs mainly through the propagation material. The objective of the present work was to evaluate the effect of the use of aqueous leaf extracts of *Azadirachta indica* (neem), *Annona muricata* (soursop) and *A. squamosa* (sugar apple) in the treatment of banana plantlets cv. Comprida naturally infected by phytonematodes, in greenhouse conditions. Four doses (0.5; 1.0; 1.5 and 2%) of the three extracts were tested in addition to the controls (Carbofuran and water) and a 60-minute immersion period. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (3x4) with eight replications. The evaluation of the experiment was carried out three months after the application of the treatments, observing the sprouting percentage of the seedlings, the nematode population in the soil, rhizome and roots, and the reproduction factor. There was a significant interaction between extracts and doses for the final population of nematodes in the root, in the rhizome and in the total final population. It was observed a reduction of the final population in the soil, root and rhizome and reproduction factor in the seedlings treated with neem, soursop and sugar apple extracts compared to the negative control (water).

Keywords: *Musa* spp. Alternative control. *Pratylenchus* spp.

4.1 INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) é a segunda frutífera mais cultivada no Brasil, com aproximadamente 7,2 milhões de toneladas, entretanto, a produtividade média brasileira ainda é baixa, apenas 14,3 t/ha (FAO, 2017). No Brasil, a região Nordeste é a principal produtora, encarregada de aproximadamente 36% da produção nacional (AGRIANUAL, 2017), com um papel socioeconômico bastante importante, na geração de emprego e renda no campo, devido à necessidade de manejo da cultura.

A baixa produtividade da bananeira está relacionada a fatores como o sistema de cultivo e o ataque de fitopatógenos, dos quais destacam-se: os nematoides *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, *Pratylenchus coffeae* (Zimmerman) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) Golden e *Meloidogyne* spp. Goeldi (BRIDGE; STARR, 2007).

Quando os nematoides já se encontram estabelecidos nos cultivos, torna-se indispensável a adoção de medidas de controle. O alqueive por um período mínimo de seis meses, por ocasião da renovação dos bananais e a rotação de culturas com plantas antagonicas como *Tagetes* spp. (cravo-de-defunto) e *Crotalaria* spp., são práticas que têm mostrado eficiência na redução de *R. similis*, *Pratylenchus* sp., *M. incognita* e *H. multicinctus* (RITZINGER; FANCELLI, 2006; COSTA; SANTOS, 2009). Segundo Costa; Santos, (2009) a eliminação de restos culturais durante a renovação das plantações de bananeiras, o uso de matéria orgânica e aplicações de nematicidas podem complementar o manejo dos fitonematoides na cultura.

A possibilidade de manejo de fitonematoides por meio da utilização de extratos vegetais tem estimulado vários pesquisadores no Brasil e no mundo, envolvendo diversos patossistemas (MATEUS et al., 2014; KUHN et al., 2015). Dentre as espécies de plantas que vêm sendo estudadas para a preparação de extratos, estão incluídas *Azadirachta indica* A. Juss. e *Annona* spp.

Trabalhos envolvendo o tratamento de raízes por imersão em extratos foliares dessa planta já foram avaliados em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), berinjela (*Solanum melongena* L.), repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), pimenta (*Capsicum* spp.) e cenoura (*Daucus carota* L.), visando a redução de populações de *Meloidogyne* spp. e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira e outros fitonematoides (AKHTAR, 2000, JOHN; HEBSY, 2000).

Extratos obtidos de espécies de *Annona* também vêm sendo estudados visando a redução de populações de fitonematoides. Dang et al. (2011) testaram extrato metanólico de sementes de *A. squamosa* contra vários fitopatógenos, incluindo *M. incognita*, com resultados promissores.

Na cultura da bananeira são escassas as pesquisas envolvendo o uso de extratos vegetais no manejo de nematoides. A exemplo, podem-se citar os trabalhos de Bartholomew et al. (2014) no qual foram empregados extratos de nim e alho (*Allium sativum* L.) e Jesus et al. (2014) que testaram extrato de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm), ambas as pesquisas visando o controle de *R. similis*, por meio da aplicação dos produtos via solo, no entanto, são escassos os trabalhos que visam a utilização de extratos vegetais no tratamento de mudas de bananeiras.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de extratos aquosos de folhas de nim, gravioleira e de pinheira na redução de populações de fitonematoides em mudas de bananeira naturalmente infectadas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em laboratório e casa de vegetação, localizados no Centro de Ciências Agrárias - CECA/UFAL (09°05'16"S, 35°49'43"W:127m) em Rio Largo/ AL. As mudas de bananeira foram obtidas em Alagoas, em área com histórico de ocorrência de fitonematoides, no município de Japaratinga.

A população inicial (Pi) dos nematoides foi estimada pela técnica de Coolen; D'Herde (1972), em alíquotas de 10 g de rizoma por muda. A estimativa populacional por amostra foi realizada em duas alíquotas de 1 mL em lâmina de Peters, sob microscópio de luz com objetivas invertidas, adotando-se o valor médio. A identificação dos nematoides a nível de gênero foi realizada conforme as descrições de Ferraz (2016).

A coleta do material vegetal (folhas de nim, gravioleira e pinheira) foi efetuada no CECA-UFAL e os extratos foram obtidos de acordo com o método de Ferris; Zheng (1999). Neste método, as folhas coletadas foram acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e colocadas para secar em estufa, com circulação de ar, por 72 horas, a uma temperatura de 60° C. Após a secagem, as folhas foram trituradas em moinho elétrico “de facas” para a obtenção de um pó fino, identificadas e armazenadas em recipientes escuros, hermeticamente fechados. Posteriormente foi adicionado para cada grama do material vegetal 10 mL de água destilada. Os extratos foram acondicionados em copos béquer, cobertos com papel alumínio e mantidos em repouso por 24 horas. Após este período, foi efetuada a filtragem dos extratos em tecido *voil*, para posterior utilização.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com 12 tratamentos, constituídos por três extratos vegetais (nim, pinheira e gravioleira) e quatro concentrações (0,5; 1,0; 1,5, e 2%), além de água (testemunha negativa) e o nematicida Carbofurano (Furadan[®] 350 SC) a 400 mL do produto comercial/100 L de água (testemunha positiva), em oito repetições, sendo cada uma, constituída por uma muda, as quais foram imersas por um período de 60 minutos em cada tratamento e, posteriormente, plantadas em vasos com 8 L de capacidade contendo solo esterilizado em estufa (100 °C/24 h).

Três meses após a aplicação dos tratamentos foram avaliados o percentual de brotação das mudas e a população de nematoides no solo, rizomas e raízes. Os nematoides foram extraídos de 100 cm³ de solo e de 10 g de cada tecido vegetal (raiz e rizoma), por meio dos métodos de Jenkins (1964) e Coolen; D'Herde (1972), respectivamente. Após a

extração, os nematoides foram mortos e fixados em formaldeído a 4% aquecido. A identificação e quantificação dos nematoides foram realizadas em lâmina de Peters, conforme citado anteriormente. O cálculo do fator de reprodução [FR = população final (raiz+rizoma+solo)/população inicial] foi realizado conforme Oostenbrink (1966).

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors de homogeneidade de variâncias e normalidade. Apenas as transformações $\sqrt{x} + 1$ e $\log x + 1$ forneceram a distribuição normal dos dados para as variáveis população final de nematoides no solo e fator de reprodução, respectivamente. Para as variáveis Pi, população final na raiz e rizoma e população total foram utilizados os dados originais. Os dados foram submetidos à análise de variância usando o teste F, e as médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Efetuaram-se ainda, análises de regressão entre número de nematoides em rizoma, raízes e solo, população total e fator de reprodução como variáveis dependentes das concentrações dos extratos, adotando-se como critérios para a escolha do modelo, o maior coeficiente de determinação ajustado e a significância dos coeficientes da regressão testados pelo teste F a 1% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelos programas SAEG 5.2 e por Fcalc 1.2 (MOURA FILHO; CRUZ, 2000).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estimativa da população inicial (P_i) mostrou a presença de uma população mista constituída por *Radopholus similis* (5,07%), *Helicotylenchus* sp. (19,53%), *Meloidogyne* sp. (2,50%) e *Pratylenchus* sp. (72,90%). Não houve diferença estatística na determinação da P_i , evidenciando a uniformidade das populações de nematoides nos tratamentos (Tabela 1). A percentagem de brotação das mudas foi de 100%.

Em todos os tratamentos com os extratos aquosos foliares testados, houve redução das populações finais de nematoides, quando comparadas com a testemunha negativa (água). Foram observadas as menores densidades populacionais nos tratamentos oriundos de extratos foliares de pinheira, que se igualaram às do Carbofurano (Tabela 1), demonstrando que esse extrato afetou de forma negativa as densidades finais dos nematoides. Vale ressaltar que o extrato das folhas de nim a 1,5 e 2% e o extrato das folhas de pinheira a 2% se destacaram na redução das populações de nematoides na raiz, rizoma e população total (Tabela 1). Verificaram-se, também, interações significativas na análise de variância para as variáveis avaliadas, efetuando-se, em seguida, os desdobramentos significativos (Tabela 2). As análises de regressões efetuadas para as variáveis que obtiveram interações significativas foram representadas pelos modelos linear, quadrático ou raiz-quadrático (Figura 1).

Kosma et al. (2011) e Bartholomew et al. (2014) constataram redução das populações de *R. similis* em raízes de bananeiras com a utilização de extrato de nim aplicado via solo. De acordo com Ferraz et al. (2010) o efeito dos extratos de nim contra nematoides, provavelmente, é devido à presença de várias substâncias químicas, como por exemplo, a azadiractina que tem comprovada atividade biológica. Os resultados obtidos por Rehman et al. (2009) sugerem que o referido composto bioativo tem ação anti-alimentar, indicando a capacidade inibitória do nematoide de penetrar nas plantas. Os resultados do presente trabalho corroboram com os estudos de Seenivasan et al. (2013), que concluíram que o óleo de nim a 1,5% causou efeito negativo a *R. similis* e *H. multicinctus* em mudas de banana cv. Grand Naine, indicando a atividade nematicida dos metabólitos secundários do nim.

Tabela 1. População inicial de nematoides (Pi) em 10 g de rizoma; densidade populacional em 100 cm³ de solo (DPNS), 10 g de raiz (DPNRA) e de rizoma (DPNRI), População total de nematoides (PTN) e fator de reprodução (FR) avaliada três meses após a aplicação de extratos vegetais em mudas de bananeira. CECA/UFAL, Rio Largo, AL. 2018.

Tratamentos	Pi ^a	DPNS ^b	DPNRA ^a	DPNRI ^a	PTN ^a	FR ^c
Água	110,0 a	280,0 a	510,0 a	517,5 a	1307,5 a	14,6 a
Nim 0,5%	114,0 a	215,0 b	417,5 b	427,5 b	1060,0 b	10,4 a
Nim 1,0%	102,5 a	200,0 b	352,5 b	372,5 b	925,0 c	9,7 a
Nim 1,5%	98,8 a	175,0 c	270,0 d	310,0 c	755,0 c	7,9 b
Nim 2,0%	93,8 a	157,5 c	272,5 d	255,0 c	685,0 c	8,3 b
Gravioleira 0,5%	100,0 a	157,5 c	340,0 b	350,0 b	847,0 b	11,0 a
Gravioleira 1,0%	98,2 a	145,0 c	362,5 b	405,0 b	912,5 b	10,7 a
Gravioleira 1,5%	89,4 a	187,0 c	357,5 b	437,5 b	982,5 b	13,1 a
Gravioleira 2,0%	112,5 a	150,0 c	332,5 b	372,5 b	855,0 b	8,0 b
Pinheira 0,5%	121,2 a	155,0 c	225,0 d	295,5 c	677,5 c	5,7 b
Pinheira 1,0%	102,5 a	155,0 c	305,0 b	297,5 c	757,5 c	7,9 b
Pinheira 1,5%	101,2 a	162,5 c	225,0 d	260,0 c	647,5 c	6,6 b
Pinheira 2,0%	110,0 a	142,5 c	157,0 e	190,0 d	490,0 d	4,5 b
Carbofurano	92,5 a	157,7 c	195,0 e	210,0 d	562,5 d	6,9 b
QMR	665,1 ^{ns}	10987,9 ^{**}	69982,7 ^{**}	69173,8 ^{**}	366051,7 ^{**}	63,1 ^{**}
GL	49	49	49	49	49	49
Média	103,3	174,2	308,7	335,8	818,9	9,0
CV (%)	31,4	37,7	23,2	25,1	18,7	50,4

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). QMR: Quadrado médio do resíduo. GL: Grau de liberdade. ^{ns}Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{**}Significativo a 1% probabilidade pelo teste F. CV: coeficiente de variação. ^a: Análise de variância realizado com dados originais. ^b: Análise de variância realizado com dados transformados para $\sqrt{x+1}$. ^c: Análise de variância realizado com dados transformados para $\log(x+1)$.

Fonte: E.R.PAZ FILHO, 2019.

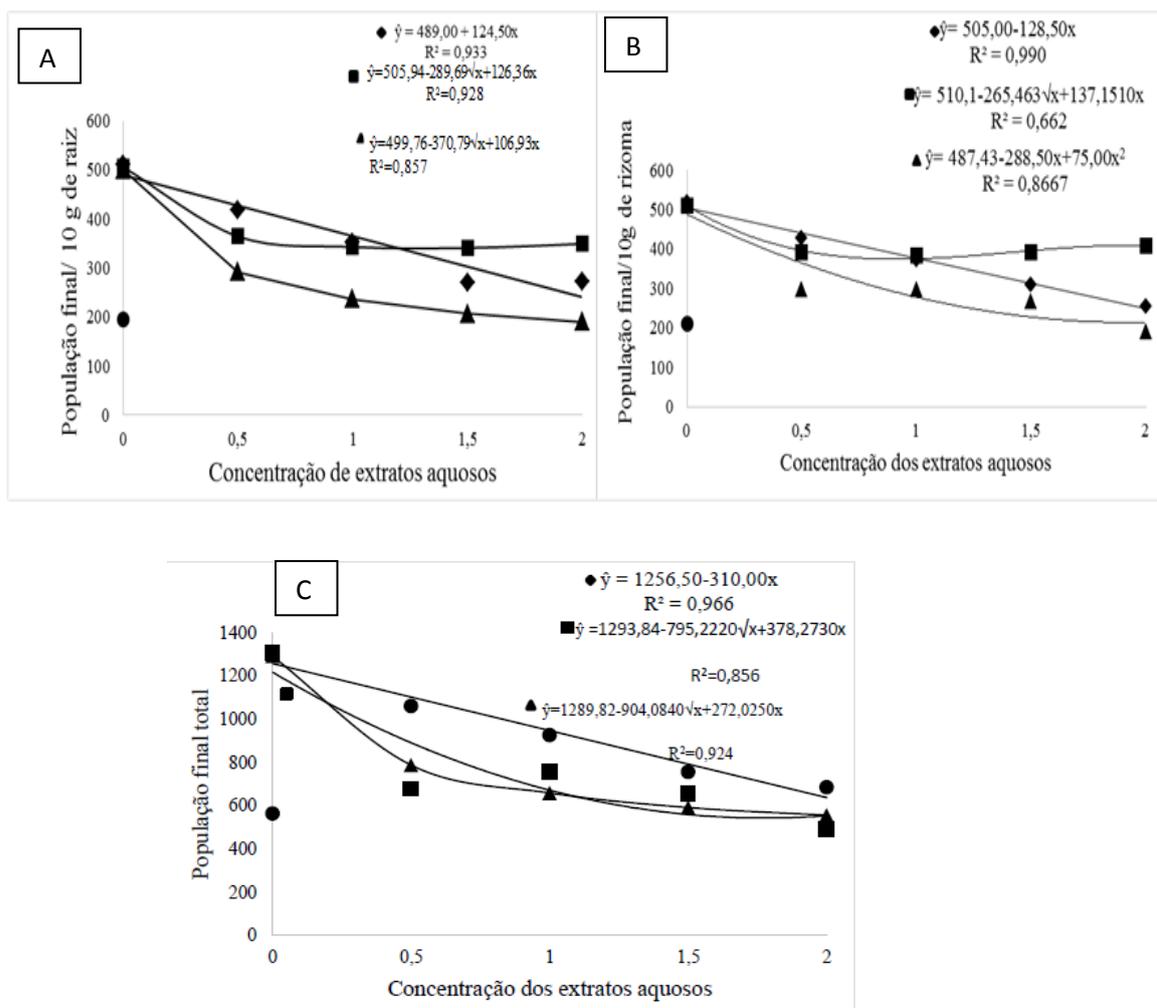
Tabela 2. Análise de variância dos desdobramentos das variáveis População inicial (Pi) em 10 g de rizoma; densidade populacional em 100 cm³ de solo (DPNS), 10 g de raiz (DPNRA) e de rizoma (DPNRI), População total de nematoides (PTN) e fator de reprodução (FR) avaliada três meses após a aplicação de extratos vegetais em mudas de bananeira. CECA/UFAL, Rio Largo, AL. 2018.

Extratos	Pi^a	DPNS^b	DPNRA^a	DPNRI^a	PTN^a	FR^c
Nim	102,3 a	186,8 a	328,1 a	341,2 a	856,2 a	9,1 a
Gravioleira	100,0 a	160,0 a	348,1 a	391,2 b	899,3 a	10,7 a
Pinheira	109,7 a	153,7 a	228,1 b	261,2 c	643,1 b	6,2 b
Concentrações	Pi	DPNS	DPNRA	DPNRI	PTN	FR
0,5%	111,8 a	175,8 a	327,5 a	358,3 a	861,6 a	9,0 a
1,0%	101,0 a	166,6 a	340,0 a	358,3 a	865,0 a	9,4 a
1,5%	96,4 a	175,0 a	284,1 b	335,8 a	795,0 a	9,2 a
2,0%	104,4 a	150,0 a	254,1 b	272,5 b	676,6 b	6,9 a
Valores do QM	Pi	DPNS	DPNRA	DPNRI	PTN	FR
Concentração (C)	1027,0 ^{ns}	3448,6 ^{ns}	37593,0 ^{**}	39516,6 ^{**}	186105,6 ^{**}	31,7 ^{ns}
Extrato (E)	654,1 ^{ns}	9912,5 ^{ns}	13266,7 ^{**}	137600,0 ^{**}	602379,2 ^{**}	170,6 ^{**}
C x E	491,6 ^{ns}	2623,6 ^{ns}	16638,8 ^{**}	18800,0 ^{**}	87334,7 ^{**}	14,9 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). QM: Quadrado médio. GL: Grau de liberdade. ^{ns}Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{**}Significativo a 1% probabilidade pelo teste F. CV: coeficiente de variação. ^a: Análise de variância realizado com dados originais. ^b: Análise de variância realizado com dados transformados para $\sqrt{x+1}$. ^c: Análise de variância realizado com dados transformados para $\log(x+1)$.

Fonte: E.R.PAZ FILHO, 2019.

Figura 1: Populações de nematoides, em tratamento de mudas de bananeira com diferentes concentrações de extratos aquosos foliares e do nematicida químico (●). A) Raiz, B) Rizoma, C) População final. (◆) Extrato aquoso foliar de nim (*Azadirachta indica* A. Juss). (■) Extrato aquoso foliar de gravioleira (*Annona muricata* L.). (▲) Extrato aquoso foliar de pinheira (*Annona squamosa* L.).



Fonte: E.R.PAZ FILHO, 2019.

Com relação ao extrato aquoso das folhas da gravioleira, os resultados encontrados no presente trabalho demonstraram que essa espécie de anonácea possui atividade nematicida, no entanto, com uma menor atividade comparada com o extrato aquoso das folhas de pinheira. Esses resultados corroboram com o estudo realizado por Wiratno et al. (2009), no qual avaliando a atividade nematicida *in vitro* e em casa de vegetação de várias espécies vegetais, incluindo sementes de gravioleira no controle de *Meloidogyne incognita*, constataram que o índice de mortalidade *in vitro* foi de apenas 4%, evidenciando a baixa atividade nematicida.

Os resultados obtidos no presente trabalho com relação à atividade nematicida de extrato de *A. squamosa* estão em conformidade com aqueles obtidos por Dang et al. (2011), em estudos realizados *in vitro*, que utilizaram o extrato metanólico de sementes da pinheira, o qual foi efetivo contra os fitonematoides *Bursaphelenchus xylophilus* e *M. incognita*, enfatizando a atividade nematicida dessa anonácea. As atividades nematicida e nematostática de pinheira também foram evidenciadas com o estudo de Lima (2016) que obteve índice de imobilidade e mortalidade *in vitro* de 79,80% e 40,68%, respectivamente sobre *Scutellonema bradys*. Em um estudo conduzido por Fernandes et al. (2009) com o objetivo de avaliar a atividade anti-helmíntica *in vitro* e *in vivo* das folhas de *A. squamosa* sobre o nematoide de aves *Ascaridia galli*, concluiu que o extrato aquoso das folhas de pinheira apresentou atividade anti-helmíntica, causando 100% de mortalidade sobre o nematoide testado.

Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciam uma alternativa da utilização de extratos aquosos de folhas de nim, gravioleira e de pinheira como uma tática na redução de populações de fitonematoides em mudas de bananeira naturalmente infectadas. Entretanto, apesar da redução das populações dos nematoides observada no presente trabalho, novos estudos precisam ser conduzidos, testando outras doses e/ou períodos de imersão do material propagativo. Vale ressaltar que não foram encontrados na literatura científica, resultados envolvendo o uso de extrato de nim ou de anonáceas no tratamento de material propagativo naturalmente infectado por nematoides.

4.4 CONCLUSÕES

Extratos aquosos foliares de *Azadirachta indica*, *Annona muricata* e *A. squamosa* em diferentes concentrações, reduz as populações de fitonematoides em mudas de bananeira cv. Comprida em condição de casa de vegetação.

O extrato aquoso de folhas de *A. squamosa* mostra-se mais efetivo que o extrato de *Azadirachta indica* e *A. muricata* na redução das populações dos nematoides.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL Online. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Informações em Agronegócios, 2017.

AKHTAR, M. Nematocidal potential of the neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss.). **Integrated Pest Management Reviews**, v. 5, p.57-66, 2000.

ALMEIDA, F. A. et al . Toxicity of plant extracts to *Meloidogyne incognita* in tomato plants. **International Journal of Current Research**, v. 8, p. 38476-38481, 2016.

BARTHOLOMEW, E.S. et al. Control of root-burrowing nematode (*Radopholus similis*) in banana using extracts of *Azadirachata indica* and *Allium sativum*. **Journal of Organic Systems**, v. 9, n. 2, p. 49-55, 2014.

BRIDGE, J.; STARR, J.L. Tree, plantations, and cash crops. In: BRIDGE, J.; STARR, J.L. **Plant nematodes of agricultural importance**. Boston: Academic Press, p. 97-134, 2007.

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

COSTA, D.C.; SANTOS, J.R.P. Occurrence, damage and management of plant parasitic nematodes on bananas in Brazil. In: **II International Congress of Tropical Nematology**. 2009. Maceió: ONTA: SBN, 2009. 1 CD-ROM.

DANG, Q.L. et al. Nematicidal and antifungal activities of annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* against various plant pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 11160-11167, 2011.

FAO, 2018. Produção por países. Disponível em:<<http://faostat.fao.org/site/567.Default.aspx?PAGEID=567#ancor.>> Acessado em 15 jan. 2019.

FERNANDES, M. Z. L. C. M.; et al. Efeito anti-helmíntico dos extratos aquoso e etanólico da *Annona squamosa*, L. (fruta-do-conde) sobre o nematoide *Ascaridia galli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 124-129, 2009.

FERRAZ, L.C.C.B. Chave ilustrada de identificação dos principais gêneros de fitonematoides no Brasil baseada em caracteres das fêmeas. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. **Diagnose de fitonematoides**. Campinas, SP: Millenium Editora, 2016. p.237-253.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.P.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2010. 306p.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, n. 3, p. 241-263, 1999.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.992. 1964.

JESUS, F.N. et al. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 2, p. 783-791.

JOHN, A.; HEBSY, B. Bare-root dip of brinjal seedlings in phytochemicals for the management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Journal of Tropical Agriculture**, v. 38, p. 69-72, 2000.

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

KOSMA, P.; AMBANG Z.; BEGOUDE, B.A.D.; TEM HOOPER, G.M.; KUATE, J.; AKOA, A. Assessment of nematicidal properties and phytochemical screening of neem seed formulations using *Radopholus similis*, parasitic nematode of plantain in Cameroon. **Crop Protection**, v.30, p.733-738, 2011.

KUHN, P.R. et al. Extratos aquosos de plantas daninhas, aromáticas e oleaginosas no controle de *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v. 45, p. 150, 2015.

LIMA, R.S. et al. Frequencies and population densities of the major phytonematodes associated with banana in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, v.43, p.186-193, 2013.

LIMA, R.S. **Manejo da casca-preta-do-inhame com produtos vegetais e bionematicida**. 2016. 89 p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)- Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo.

MOURA FILHO, G.; CRUZ, C. D. **Fcalc for Windows v.1.2: Programa para cálculo do F corrigido em análises de regressão: Teste dos coeficientes**. Viçosa: UFV, 2000. Software.

MATEUS, M.A.F. et al. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 730-736, 2014.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Wageningen: Mededelingen Landbouwhogeschule, 1966. 46p.

REHMA, A.U. et al. Protective and curative effect of bioproducts against the invasion and development of root-knot nematode in tomato. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v.21, p. 37-40, 2009.

RITZINGER, C.H.S.P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338. 2006.

SEENIVASAN, N. et al. Management of nematodes in banana through bio-rational

approaches. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, v. 19, n.1, p. 38-44, 2013.

SINGH, A. U.; PRASAD, D. Management of plant-parasitic nematodes by the use of botanicals. **Journal of Plant Physiology & Pathology**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2014.