COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE SEMENTES DE MAMÃO REDUZEM A INFECTIVIDADE E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne incognita*

Vanessa Alves Gomes[1], Julio Carlos Pereira da Silva[2], Vicente Paulo Campos[3]
[1]Doutoranda em Agronomia pelo Programa de Pós-graduação de Proteção de Plantas na UNESP/Botucatu, vavvgomes@gmail.com
[2]Pós doutorando em Agronomia pelo programa de Fitopatologia na UFLA
[3]Professor de Nematologia da UFLA

RESUMO

Sementes de mamão emitem compostos voláteis tóxicos a *Meloidogyne incognita*. Neste trabalho, voláteis emitidos por macerados de sementes de mamão foram testados contra juvenis de segundo estádio (J2) de *M. incognita*, empregando-se a técnica desenvolvida com tubo SUPELCO® para verificação da infectividade e reprodução em tomateiros. Os J2 expostos aos COVs foram inoculados em plântulas de tomate avaliando-se infectividade e reprodução após 40 dias em casa de vegetação. A quantidade de galhas por grama de raiz de tomate foi bastante reduzida ao aplicar o tratamento do macerado de sementes de mamão. A partir de 12 horas e exposição ocorreu a formação de aproximadamente 1 galha por grama de raiz, diferindo da testemunha ($P < 0,01$) que apresentou mais de 6 galhas por grama de raiz. O número de ovos foi bastante reduzido a partir do tempo de 6 horas e se manteve constante até o tempo de 48 horas, com menos de 50 ovos por grama de raiz. Já a testemunha apresentou mais de 200 ovos por grama de raiz. Os COVs emitidos pelo macerado de sementes de mamão foram eficientes para diminuir a infectividade e reprodução de *M. incognita* em tomateiros.

Palavras-chave: *Carica papaya*. Fitonematoides. Controle alternativo.

ABSTRACT

VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS OF PAPAYA SEEDS REDUCE THE INFECTIVITY AND REPRODUCTION OF Meloidogyne incognita

Papaya seeds emit toxic volatile compounds to *Meloidogyne incognita*. In this work, the volatiles emitted by macerated papaya seeds were tested against juveniles of the second stage (J_2) of *M. incognita*, using a system developed for SUPELCO® to verify infectivity and reproduction in tomatoes. The J_2 exposed to VOCs were inoculated into tomato seedlings, evaluating their infectivity and harvesting after 40 days in a greenhouse. The number of galls per tomato root was very low when applying the

treatment of the papaya seed macerate. From 12 hours and the issue differing by about 1 gallon per gram of root, differently from the generation (P <0,01) that presented more than 6 galls per gram of root. The number of eggs was greatly reduced to the time of 6 hours and was constantly updated up to 48 hours with less than 50 eggs per gram of root. You have received more than 200 eggs per gram of root. The VOCs emitted by maceration of papaya seeds were supplemented to decrease the infectivity and reproduction of *M. incognita* in tomato plants.

Keywords: *Carica papaya*. Phytonematoids. Alternative control.

1 INTRODUÇÃO

Grandes prejuízos na produção agrícola têm sido observados em áreas infestadas por vários fitonematoides, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, onde as perdas podem chegar 80% da produção agrícola (NICOL et al., 2011; SIKORA; FERNANDEZ, 2005). Dentre eles estão os nematoides das galhas como as maiores causas (FERRAZ et al., 2010; SASSER; RECKMAN, 1987; TRUDGILL; BLOK 2001).

Dentre os fitonematoides, destaca-se, no Brasil, o gênero *Meloidogyne*. As espécies deste gênero, conhecidos como causadores de galhas em raízes, prejudicam a absorção de água e nutrientes, levando a um menor crescimento da parte aérea e redução na produtividade (ARAUJO et al., 2012). No campo, plantas infectadas demonstram sintomas visuais de amarelecimento e menor crescimento, principalmente em áreas localizadas, reboleiras (CHARCHAR, 1995).

A pressão da sociedade por moléculas menos tóxicas e de menor custo, tem levado ao uso de plantas para o controle de fitonematoides. Atualmente, a maioria dos nematicidas existentes e registrados apresenta grande toxicidade, além de persistir no meio ambiente por muito tempo, causando, assim, inúmeros efeitos colaterais tanto em seres humanos como em outros organismos presentes no local de aplicação (SOUSA et al., 2015).

Na medicina popular, as sementes de mamão têm sido utilizadas como vermífugo por várias décadas (KRISHNAKUMARI; MAJUMDER, 1960). As sementes de mamão também podem controlar fitonematoides. Por exemplo, a incorporação no solo de farinha de semente de mamão, reduz o número de galhas de *M. javanica* em até 100%, aumentando a massa da parte aérea e a altura de plantas em relação à testemunha, com efeito aditivo da solarização da área (NEVES et al., 2011). Em outro estudo a farinha de semente de mamão incorporada no solo nas doses de 1, 2 ou 4 g / kg

de solo reduziu, respectivamente, o número de ovos em 45, 79 e 95 % (NEVES et al., 2008).

Deste modo, iniciaram-se estudos sobre moléculas voláteis oriundas de sementes de mamão visando o controle de nematoides. As sementes de mamão possuem diversos outros benefícios como auxiliar no controle de microorganismos no estômago e intestino, além de auxiliar no tratamento de vermes. Neste trabalho foi avaliado o efeito tóxico de COVs emitidos por sementes de mamão em J2 de a *M. incognita* in vivo por meio de testes de infectividade e reprodução.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram obtidas de frutos de mamão *Carica papaya*, no comércio local de Lavras - MG. Para avaliar a toxicidade de COVs das sementes de mamão maceradas foi empregada a técnica do tubo SUPELCO® (BARROS et al., 2014b). Para isso, foi pesado 1,5 g de sementes de mamão, esterilizada usando hipoclorito de sódio a 2,0 % por 1 minuto, seguido de duas lavagens em água destilada. Após a remoção do excesso de água com papel toalha, o material foi separado, esterilizado, colocado em cadinho de porcelana e macerado, manualmente, sem adição de água (macerado seco). Em tubo SUPELCO® esterilizado em autoclave a 120º C por 20 minutos, foram colocados 35 g de areia seca autoclavada (120º C por 20 min) e na superfície da areia foram adicionados 2 ml de água destilada seguido de 1,5 g do macerado anteriormente obtido em cada frasco, constituindo uma parcela (Figura 1). Os tratamentos constituíram-se de diferentes períodos de exposição do J_2 aos gases acondicionados na câmara de gás formada dentro do tubo SUPELCO®, isto é 1,5h; 3h; 6h; 12h; 24h e 48h de exposição (seis períodos). Frascos preparados como descrito acima, sem sementes de mamão são utilizados como controle. Cada tratamento empregou cinco parcelas como repetições. Em todos os frascos foi aterrado até a metade, um microtubo de 1,5 mL sem tampa, esterilizado em autoclave a 120º C por 20 min. Entre o microtubo e a parede do tubo SUPELCO® foi distribuído o macerado. Em seguida, o tubo SUPELCO® foi fechado e envolvida a tampa com papel filme PVC e deixado a 25 ºC (± 2º C) por três dias em incubadora para a formação da câmara de gás. A seguir, 1 ml de suspensão contendo cerca de 600 J2 de *M. incognita* foi injetada dentro do microtubo, por meio de uma seringa contendo agulha perfurante, através da película de silicone interposta entre

a tampa e o frasco. O orifício criado foi vedado novamente com fita adesiva e os frascos foram mantidos nas mesmas condições anteriores até o momento da avaliação.

Após cada um dos seis períodos de exposição dos J_2 às emissões voláteis de sementes de mamão, relatados no ensaio anterior, a população de aproximadamente 550 J_2 foi inoculada em tomateiro cultivar Santa Clara. Para isto a suspensão (550 J_2) contida no microtubo foi transferida para 4 mL e água destilada e esterilizada e, então, inoculada em tomateiro com 20 dias após a semeadura, em vasos de 1000 cm^3 preenchidos com substrato artificial. O inóculo foi distribuído ao redor do caule da muda a uma profundidade de 1,5 cm distribuído em 4 orifícios que foram preenchidos com substrato. As mudas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação e adubação recomendada para a cultura. Após 40 dias, cada muda foi retirada do vaso e colocada em balde com água. O substrato foi retirado, cuidadosamente, das raízes. O sistema radicular foi colocado em papel toalha para eliminar o excesso de água, pesado e contado o número de galhas. As raízes foram, então, cortadas em fragmentos de 0,5 cm e processadas pela técnica de Hussey & Barker (1973). Os ovos recolhidos foram contados em microscópio de objetiva invertida.

O experimento foi repetido e o ensaio foi organizado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. Os dados foram, previamente, submetidos a testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância dos erros (Bartlett). Uma vez atendidos os pressupostos, foi aplicado o teste F, por meio da análise de variância (ANOVA). Quando ocorreu significância ($P<0,05$), as médias de cada tratamento foram agrupadas e diferenciadas pelo teste de Tukey, utilizando-se o software Sisvar (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tempos de exposição de J_2 de *M. incognita* aos voláteis de sementes de mamão tanto em relação a quantidade de galhas como ovos por grama de raiz nos dois experimentos A e B (Figuras 1 – A e B e 2 - A e B). No experimento A, a quantidade galhas começou a decair drasticamente a partir do tempo de 6 horas, quando quase não se observava galhas. A diminuição seguiu até atingir o tempo máximo de 48 horas quando o número de galhas se aproximou de zero (Figura 1 - A). De forma semelhante, no experimento B, confirmou a redução de galhas, no tempo de 6 h chegando a aproximar-se de zero à 48 horas de exposição dos J_2 (Figura 1 - B).

Com relação a produção de ovos, ocorreu no experimento A, diminuição expressiva a partir do tempo de 6 horas, chegando a menos de 50 ovos/g raiz, quando comparado com a testemunha, valores em torno de 200 ovos/g de raiz, cujo valor de ovos dos tratamentos aproximou-se de zero às 48 horas de exposição dos J_2 (Figura 2 - A). No experimento B, observou-se padrão semelhante com redução ainda maior a partir de 6 horas e também chegando a zero às 48 horas de exposição dos J_2 (Figura 2 – B). Nos dois experimentos ocorreram diferenças significativas entre galhas e ovos em qualquer tempo de exposição dos J_2 comparados ao controle de água, porém sempre com tendências na redução semelhantes.

A capacidade nematicida da farinha de mamão já foi demonstrada incorporando-a em solo e substrato infestados por fitonematoides (NEVES et al., 2008; COUTINHO et al., 2009; NEVES et al., 2011). A causa desta atividade nematicida pode tornar insumo para a indústria de pesticidas, quando novas moléculas ativas são encontradas. Ocorreu mobilidade e mortalidade de J2 de *M. incognita* quando se usou macerado de sementes de mamão mesmo em curtos períodos de tempo de exposição, comprovando sua eficácia no controle. Isto se deve a moléculas voláteis tóxicas a *M. incognita* presentes nas sementes de mamão. A alta imobilidade e consequentemente mortalidade implicou na redução da infectividade e reprodução em tomateiros pela redução na formação de galhas, bem como no número de ovos.

A mortalidade dos nematoides pode estar associada a atuação dos COVs no sistema nervoso do nematoide impedindo-o de reconhecer e localizar o hospedeiro ou o local de alimentação (BARROS, 2014a, 2014b). Voláteis emitidos por plantas tem causado mortalidade, redução de infectividade e reprodução de *Meloidogyne* spp. em plantas infectadadas (BARROS et al., 2014) bem como defendem plantas contra herbívoros e patógenos (PICHERSKI; GANG , 2000; DUDAREVA; PICHERSKY, 2008).

Figura 1 – Número de Galhas por grama de raiz em função do tempo de exposição dos J_2 de *M. incognita* aos voláteis emitidos pelos macerados.

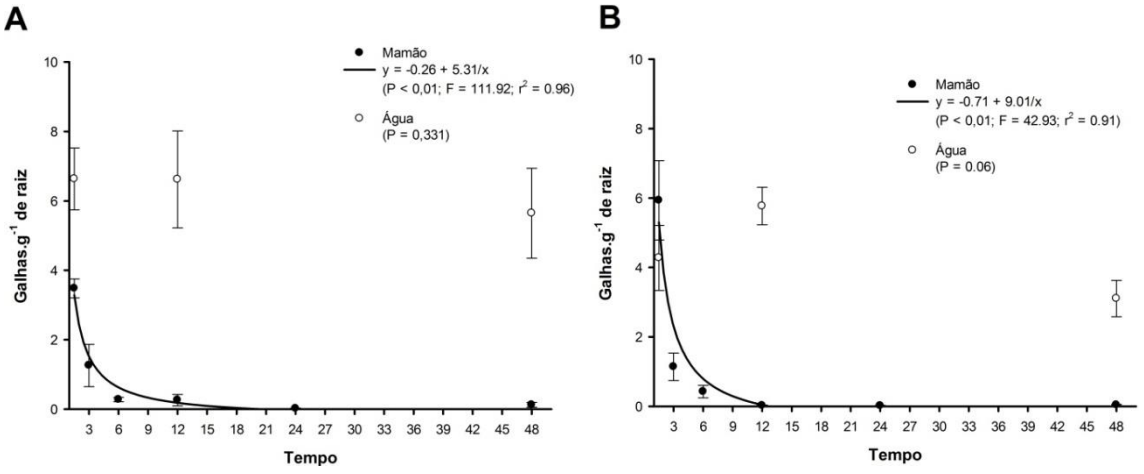
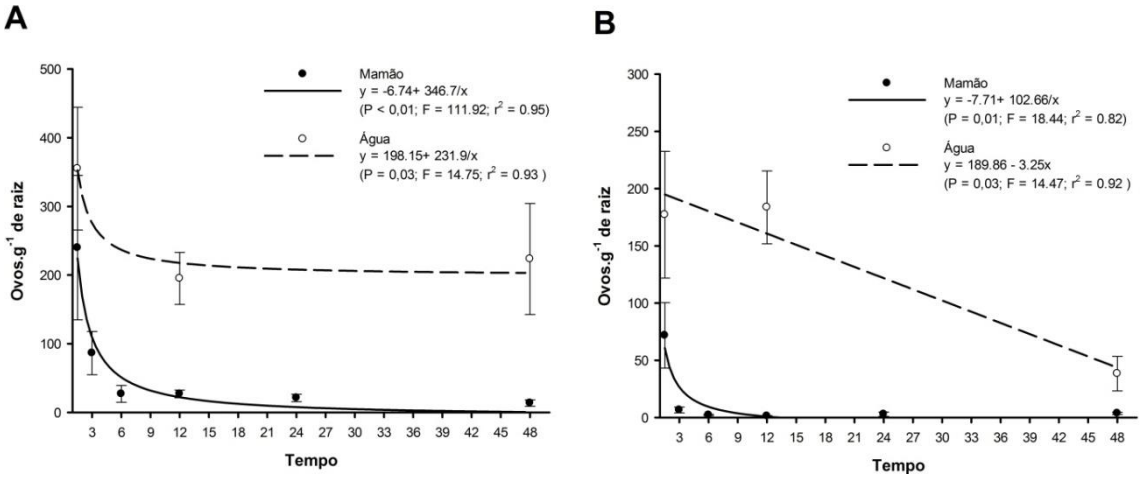


Figura 2 – Número de Ovos por grama de raiz em função do tempo de exposição dos J_2 de *M. incognita* aos voláteis emitidos pelos macerados.



4 CONCLUSÕES

Os COVs emitidos pelo macerado de sementes de mamão foram eficientes para diminuir a infectividade e reprodução de M. incognita em tomateiros.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, F.F.; BRAGANTE, R.J.; BRAGANTE, C.E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n.2, p. 220-224, 2012.

BARROS, A.F.; CAMPOS, V.P.; SILVA, J.C.P; et al. Nematicide activity of volatile organic compounds emitted by *Brassica juncea, Azadirachta indica, Canavalia*

ensiformis, *Mucuna pruriens* and *Cajanus cajan* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, v. 80, p. 34–43, 2014b.

BARROS, A.F.; CAMPOS, V.P; SILVA, J.C.P; et al. Tempo de exposição de juvenis de segundo estádio a voláteis emitidos por macerados de nim e de mostarda e biofumigação contra *Meloidogyne incognita*. **Nematropica** v. 44, p. 190–199, 2014a.

CHARCHAR, J.M. Nematoides em Hortaliças. Concórdia: **Embrapa Hortaliças**, p. 12, 1995. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 18).

COUTINHO, M.M.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; et al. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, v. 33, 169-175, 2009.

DUDAREVA, N. & PICHERSKY, E. Metabolic enginnering of plant volatiles. **Current Opinion in Biotechnology,** v. 19, p. 181-189, 2008.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; et al. Manejo sustentável de fitonematoides, 1 ed., Viçosa: **Editora UFV**, p. 306, 2010.

HUSSEY, R.S. & BARKER, K.R. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique**. Plant Disease**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

KRISHNAKUMARI, M.K. & S.K. MAJUMDER. Studies on anthelmintic activities of seeds of *Carica papaya* Linn. **Annals of Biochemistry and Experimental Medicine**, v. 20, p. 551-556, 1960.

NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; COUTINHO, M.M.; et al. Incorporação de Farinha de Semente de Mamão ao Solo para o Controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 36, n.1-2, p. 25-31, 2011.

NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; COUTINHO, M.M.; et al. Uso de Sementes de Mamão e Solarização do Solo no Controle de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n.4, p. 253-259, 2008.

NICOL, J.M.; TURNER, S.J.; COYNE, D.L.; et al. Current nematode threats to world agriculture. Genomics and molecular genetics of plant – nematodes interactions, Cham (ZG), Switzerland: **Springer Science**, cap. 2, 2011.

PICHERSKY, E. & GANG, D.R. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, v. 5, n. 10, p. 439-445, 2000.

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

SIKORA, R.A. & FERNANDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. In: LUC, M., SIKORA, R. A., BRIDGE, J. (Ed.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. 2nd edition, CABI publishing, p. 319-392, 2005.

SOUSA, R.M.O.F.; ROSA, J.S.; SILVA, C.A.; et al. Larvicidal, molluscicidal and nematicidal activities of essential oils and compounds from *Foeniculum vulgare*. **Journal of Pest Science**, v. 88, p. 413–426, 2015.

TRUDGILL, D.L. & BLOK, V.C. Apomictic, polyphagous rootknoot nematodes: exceptionally successfull and damaging biotrophic root pathogens. **Phytopathology,** v. 39, p. 53-77, 2001.

AGRADECIMENTOS [OPCIONAL]

Os autores agradecem o apoio financeiro e as bolsas de estudos fornecidos pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), bem como a Universidade Federal de Lavras - UFLA.