



LUMA ALAÍS PEDROSO

**TORTA DE MAMONA É TÓXICA AO
NEMATOIDE *Meloidogyne incognita* TAMBÉM
PELOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS**

LAVRAS – MG

2016

LUMA ALAÍS PEDROSO

TORTA DE MAMONA É TÓXICA AO NEMATOIDE *Meloidogyne incognita* TAMBÉM PELOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia/ Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Vicente Paulo Campos

LAVRAS – MG

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pedroso, Luma Alaís.

Torta de mamona é tóxica ao nematoide *Meloidogyne incognita* também pelos compostos orgânicos voláteis / Luma Alaís
Pedroso. – Lavras : UFLA, 2016.

41 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Orientador: Vicente Paulo Campos.

Bibliografia.

1. Biofumigação. 2. Resíduo orgânico. 3. COVs. 4.
Fitonematoides. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LUMA ALAÍS PEDROSO

**TORTA DE MAMONA É TÓXICA AO NEMATOIDE *Meloidogyne*
incognita TAMBÉM PELOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia/ Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de agosto de 2016.

Dr. Márcio Pozzobon Pedroso UFLA

Dr. Eduardo Souza Freire UniRV

Dr. Vicente Paulo Campos

Orientador

LAVRAS – MG

2016

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Nossa Senhora Aparecida, por iluminarem meu caminho, me concedendo paciência e sabedoria, permitindo a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Fitopatologia (DFP), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Vicente Paulo Campos, um grande exemplo de pessoa e profissional, pela orientação e ensinamentos.

Aos professores Pedro Castro Neto e Márcio Pozzobon Pedroso, pela colaboração com o trabalho.

Aos professores do DFP e aos amigos do Núcleo de Estudos em Fitopatologia (NEFIT) pelos ensinamentos.

À minha família, meus pais Helena e Pedro, minha irmã Juliana, meu cunhado Matheus e meu namorado Deidvan pelo apoio e paciência.

A todos os meus amigos, em especial aos do Laboratório de Nematologia, pelo apoio e amizade.

RESUMO

Embora a torta de mamona tenha demonstrado efeito na redução de populações de fitonematoides, ainda pouco se sabe sobre seu modo de ação, principalmente envolvendo a toxicidade de seus compostos orgânicos voláteis (COVs) a esses patógenos. Neste trabalho, buscou-se estudar o efeito direto da torta de mamona em diferentes concentrações misturada ao solo e a ovos de *Meloidogyne incognita* (MI), bem como o efeito separado dos COVs a ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de MI. Em copos plásticos foram colocados solo, torta de mamona e ovos de MI. A umidade foi ajustada para 60% da capacidade de campo e na superfície dessa mistura foram aterrados três microtubos. Os copos foram vedados e colocados em incubadora a 28 °C pelo período de 10 ou 20 dias para formação da câmara de gás (PFCG). No primeiro microtubo foram adicionados 1000 ovos de MI, no segundo e no terceiro foram injetados, com seringa, 100 e 600 J2 de MI, respectivamente, 48 h antes do término dos períodos de incubação (10 e 20 dias). Ao final de 10 e 20 dias a vedação foi retirada e foram avaliados a porcentagem de eclosão de J2 e o número de J2 imóveis e mortos. Nesse momento, foi plantada uma muda de tomateiro por copo e, 40 dias após, foram avaliadas a infectividade e a reprodução. A suspensão do terceiro microtubo (600 J2) foi inoculada em plantas de tomateiro, e após 40 dias, também foram avaliadas a infectividade e a reprodução. A torta de mamona reduziu significativamente a infectividade e a reprodução dos ovos misturados ao solo incorporado com torta de mamona em qualquer concentração de torta já no período de 10 dias. Os COVs que formaram a câmara de gás na superfície da mistura (solo e torta) causaram também imobilidade e mortalidade dos J2, em qualquer PFCG e em todas as concentrações da torta, além da redução da eclosão dos J2 em qualquer concentração da torta, porém, maior no período de 20 dias. A infectividade e a reprodução dos J2 expostos aos COVs foram significativamente reduzidas em todas as concentrações, quando comparadas ao controle, já no período de 10 dias. Através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foram identificadas 32 moléculas voláteis liberadas pela mistura solo e torta de mamona e as cinco que apresentaram maior intensidade foram testadas em J2 de MI. Quatro moléculas (fenol, 4-metil-fenol, γ -decalactona e 3-metil-1H-indol) apresentaram atividade nematicida e CL 50 menor ou igual a $66,3 \pm 18,0 \text{ mg L}^{-1}$. A torta de mamona além de apresentar efeitos nematicidas no solo infestado com MI emite COVs tóxicos a esse patógeno.

Palavras-chave: Biofumigação. Resíduo orgânico. COVs. Fitonematoides.

ABSTRACT

Although castor cake has shown effect in reducing populations of nematodes, little is known about its mode of action, especially involving the toxicity of their volatile organic compounds (VOCs) to these pathogens. This work aimed to study the direct effect of castor cake in different concentrations mixed with the soil and *Meloidogyne incognita* (MI) eggs, as well as the separate effect of VOCs on eggs and second stage juveniles (J2) of MI. In plastic cups were placed soil, castor cake and MI eggs. The humidity was adjusted to 60% of field capacity and on the surface of this mixture were digged three microtubes. The cups were sealed and placed in incubator at 28 °C for a period of 10 or 20 days for forming the gas chamber (PFGC). In the first microtube was added 1000 MI eggs, in the second and third were injected with syringe 100 and 600 MI J2, respectively, 48 hours before the end of the incubation periods (10 or 20 days). At the end of 10 and 20 days the plastic cover was removed and were evaluated the percentage hatching of J2 and the number of J2 immobile and dead. At that moment, a tomato seedling was planted in the cup and, after 40 days, were evaluated infectivity and reproduction. The suspension of the third microtube (600 J2) was inoculated on tomato plants and after 40 days were also evaluated infectivity and reproduction. The castor cake in any concentration significantly reduced infectivity and reproduction of eggs mixed with soil in the 10 day period. The VOCs that formed the gas chamber on the surface of the mixture (soil and cake) also caused immobility and death of J2 at any PFGC and all castor cake concentrations, besides reducing the hatching of J2 at any concentration of the castor cake, but greater in the period of 20 days. The infectivity and reproduction of J2 exposed to VOCs were significantly reduced at all concentrations compared to the control, in the period of 10 days. By gas chromatography-mass spectrometry were identified volatile molecules released by the soil mix with castor cake. Five of them showed great intensity and were tested in MI J2. Four molecules (phenol, 4-methylphenol, γ -decalactone and 3-methyl-1H-indole) showed nematicidal activity and LC 50 less than or equal to $66.3 \pm 18.0 \text{ mg L}^{-1}$. Besides the castor cake presents nematicides effects on soil infested with MI it emits toxic VOCs to this pathogen.

Keywords: Biofumigation. Organic amendments. VOCs. Plant parasitic nematodes.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	O nematoide das galhas	11
2.2	Incorporação de matéria orgânica no controle de nematoides	11
2.3	Incorporação de torta de mamona no controle de fitonematoides	13
2.4	Compostos orgânicos voláteis (COVs) tóxicos a fitonematoides.....	14
2.5	Deteção de COVs tóxicos a fitonematoides utilizando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).....	15
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1	Obtenção de ovos e juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i>	16
3.2	Coleta, preparo do solo e procedência da torta	17
3.3	Toxicidade de COVs emitidos por torta de mamona incorporada ao solo a J2 e ovos de <i>Meloidogyne incognita</i>	17
3.4	Infectividade e reprodução de J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> expostos aos COVs.....	18
3.5	Infectividade e reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em solo incorporado com torta de mamona e ovos.....	19
3.6	Análise de COVs emitidos pela mistura solo e torta de mamona através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) ..	19
3.7	Mortalidade de J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> pelas moléculas voláteis com maior intensidade nos cromatogramas	20
3.8	Análise estatística dos dados	21
4	RESULTADOS.....	22
5	DISCUSSÃO.....	28
6	CONCLUSÕES	32
	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

Os nematoides encontram-se adaptados a vários ambientes e têm hábito alimentar diversificado. Entre eles estão aqueles que se alimentam de plantas, denominados fitonematoides. Nas plantas, os fitonematoides provocam perda na produção e, dependendo da densidade populacional, suscetibilidade da cultivar e das condições ambientais, pode chegar à perda total (TIHOHOD, 2000). Entre os fitonematoides destacam-se os do gênero *Meloidogyne*, um dos mais disseminados no Brasil e no mundo, e que ocasiona perdas globais de até 12,3% (SASSER; FRECKMAN, 1987). Nas hortaliças em geral, por exemplo, calcula-se 11% de redução na produção mundial (FELDMESSER, 1971). Diante deste cenário o quadro se agrava nas tentativas de controle, devido a sua alta capacidade reprodutiva, ampla gama de hospedeiros e adaptação a diferentes condições edafoclimáticas e ecossistemas (FERRAZ, 1985).

O uso intensificado de terras agrícolas no Brasil com o monocultivo de culturas suscetíveis, associado à sucessão destas culturas é, provavelmente, uma das causas do aumento dos problemas com nematoides, permitindo às espécies se manterem no local ou aumentarem a sua população no solo (MACHADO, 2014). Desta forma, as áreas de intenso cultivo precisam utilizar métodos de controle para evitar perdas expressivas na produção (INOMOTO, 2008).

Tradicionalmente, o manejo da população de fitonematoides baseia-se no controle químico, através da aplicação de nematicidas. Entretanto, nos últimos anos, a maioria dos nematicidas foi retirada do mercado devido a sua alta toxicidade aos diversos ecossistemas terrestres. A escassez de nematicidas tem estimulado a pesquisa com novas estratégias de controle (BARROS et al., 2014b; OKA et al., 2009).

Uma estratégia de manejo utilizada pelos produtores para diminuir a população de fitonematoides é a incorporação de matéria orgânica ao solo (OKA

et al., 2000). No entanto, os processos que ocorrem no solo após a aplicação da matéria orgânica ainda não foram totalmente esclarecidos. A literatura relata a diminuição da população de nematoides pelo uso de matéria orgânica envolvendo vários modos de ação, como: 1- liberação de composto nematicida pré-existente no material orgânico; 2- geração de possíveis compostos nematicidas, tais como amônia e ácidos graxos, durante a degradação do material; 3- aumento e/ou introdução de antagonistas; 4- aumento da tolerância ou resistência das plantas; 5- mudança nas propriedades químicas e físicas do solo, como pH, salinidade e condutividade elétrica, as concentrações de dióxido de carbono e oxigênio, potencial redox e estrutura do solo, que o torna inviável para a sobrevivência dos nematoides. Além da ação individual de cada um deles, a combinação desses mecanismos torna mais eficaz a supressão a nematoides (OKA, 2010).

Dentre as fontes de matéria orgânica utilizadas para o controle de fitonematoides, a literatura relata a redução da população a partir da incorporação da torta de mamona ao solo (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2010; LOPES et al., 2009; SANTOS et al., 2013). A torta de mamona é um subproduto da extração do óleo de mamona (*Ricinus communis*), usada como fonte de nutrientes ao solo e de fácil manipulação, além de possuir efeito nematicida, sendo assim, alternativa de baixo custo aos defensivos agrícolas (MORAES; LORDELLO, 1977).

Apesar de os diversos estudos realizados ao longo dos anos sobre o efeito nematicida da torta de mamona, utilizando concentrações de torta em aplicação no campo e em laboratório (LOPES et al., 2009; DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2010; SANTOS et al., 2013), ainda não se conhece totalmente seu modo de ação, como por exemplo, a produção de compostos orgânicos voláteis (COVs).

Os COVs são moléculas com até 20 átomos de carbono, com alta pressão de vapor, produzidas pelas plantas (DUDAREVA et al., 2006) e pelos microrganismos, tendo importante influência na química da atmosfera, nos processos biológicos do solo e nas suas interações bióticas (LEFF; FIERER, 2008). Os COVs podem atravessar as membranas livremente e são liberados na atmosfera ou no solo, na ausência de uma barreira de difusão (PICHERSKY; NOEL; DUDAREVA, 2006). Também são difundidos pelo movimento de solução aquosa e pelo fluxo em massa de água pelo perfil do solo, proporcionando rápido movimento dos voláteis pelo sistema (WHEATLEY, 2002). Sua eficiente distribuição pela porosidade do solo aumenta a área de influência dos voláteis e melhora sua eficácia na morte de microrganismos, sob o ponto de vista de controle. Assim, os COVs atuam na atmosfera, acima e abaixo do solo (CAMPOS; PINHO; FREIRE, 2010).

Os COVs têm demonstrado toxicidade a fitonematoides (BARROS et al., 2014a, 2014b; CAMPOS; PINHO; FREIRE, 2010; FREIRE et al., 2012) e as pesquisas com essas moléculas têm crescido nos últimos anos (FERNANDO et al., 2005; GU et al., 2007). Mas ainda são desconhecidos os efeitos dos COVs emitidos pela mistura torta e solo nos fitonematoides. Resíduos orgânicos quando incorporados ao solo podem liberar moléculas voláteis além das não voláteis que se misturam com os COVs produzidos pela microbiota colonizadora dos tecidos (BARROS et al., 2014b). Sendo assim, estudou-se neste trabalho o efeito direto da torta de mamona misturada ao solo infestado com ovos de *M. incognita*, bem como o efeito apenas dos COVs emitidos pela mistura solo e torta de mamona em J2 e ovos de *M. incognita*. Buscou-se ainda caracterizar as moléculas voláteis emitidas pela mistura solo e torta de mamona através de cromatografia gasosa e testar em J2 as moléculas que apresentaram maior intensidade nos cromatogramas, além de identificar suas concentrações letais (CL 50).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O nematoide das galhas

Setenta por cento dos prejuízos causados por fitonematoides são atribuídos ao nematoide de galhas, *Meloidogyne* spp. (SASSER; FRECKMAN, 1987), que além de causar prejuízos diretos, tais parasitas podem debilitar a planta, tornando a hospedeira suscetível a outras doenças (MOLINARI, 2009).

O gênero *Meloidogyne* provoca diversos sintomas nas plantas que vão desde a formação de galhas nas raízes, diminuição e deformação do sistema radicular, decréscimo da eficiência das raízes na absorção e translocação de água e nutrientes, até o surgimento de clorose e redução da parte aérea, resultando na redução da produção (SIKORA; FERNÁNDEZ, 2005).

Do gênero *Meloidogyne*, a espécie *M. incognita* é, provavelmente, a que mais causa danos e prejuízos às culturas, sendo a mais disseminada e encontrada em quase todos os países (TRUDGILL; BLOK, 2001).

Meloidogyne incognita é capaz de parasitar mais de 2.000 espécies de plantas (SASSER, 1980) incluindo a maioria das culturas de exploração agrícola e plantas daninhas (TIWARI; EISENBACK; YOUNGMAN, 2009).

2.2 Incorporação de matéria orgânica no controle de nematoides

A aplicação de resíduos orgânicos no campo é uma prática utilizada pelos agricultores há milhares de anos. Além de disponibilizar nutrientes para as plantas e melhorar a estrutura do solo, esses resíduos também são utilizados para o controle de patógenos habitantes do solo (GONZÁLES; CANTO-SÁENZ, 1993).

Várias são as fontes de resíduos testadas quanto ao potencial no controle de fitonematoides (RODRÍGUEZ-KÁBANA, 1986), porém, as principais incluem subprodutos da indústria de processamento, esterco, compostagem e resíduos vegetais (OKA, 2010). Silva e Pereira (2008), por exemplo, avaliaram o efeito da incorporação de folhas trituradas de nim (*Azadirachta indica*) ao solo, sobre o complexo *Fusarium* x *Meloidogyne* em quiabeiro (*Abelmoschus esculentum*) na proporção de 2,5 ou 5,0%. O solo foi previamente autoclavado e inoculado com *M. incognita*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, juntos e isoladamente. A incorporação de folhas de nim a 5,0% foi eficiente para o controle de *Meloidogyne* e *Fusarium* isoladamente, bem como na interação desses patógenos. A incorporação de folhas de nim a 2,5% mostrou-se eficiente apenas para o controle de *Meloidogyne* isoladamente.

Existem plantas cuja ação nematicida está ligada à liberação de compostos que se volatilizam no solo, constituindo a biofumigação, em que os subprodutos voláteis da sua decomposição e seus resíduos são utilizados para o controle de pragas e doenças (BELLO; LÓPEZ-PÉREZ; DÍAZ-VIRULICHE, 2000). Por exemplo, Lopes et al. (2008) estudaram o efeito da incorporação de diferentes quantidades de torta de nim (0, 5, 10, 15 e 20 g/kg de solo) sobre *M. javanica* em tomateiros cultivados em casa de vegetação e verificaram a redução no número de galhas e de ovos do nematoide diretamente relacionada com o aumento da quantidade de torta de nim incorporada ao solo.

Mashela e Nthangeni (2002) estudaram o papel de espécies de *Bacillus* adicionados ao farelo de mamona na supressão a *M. incognita*. A decomposição microbiana e o aumento de microrganismos no solo após a aplicação do farelo ao solo não tiveram papel na supressão a nematoides, sendo efetivos, apenas, os compostos tóxicos liberados pelo farelo. O principal composto altamente tóxico presente no farelo de mamona foi a ricina. Este composto está presente nas sementes da mamona sendo já identificado e testado em bioensaios com J2 de

Meloidogyne spp., resultando na supressão aos nematoides (RICH et al., 1989). Provavelmente a ineficácia da microbiota na supressividade aos nematoides, neste trabalho, esteja relacionada à baixa quantidade de material orgânico adicionado ao solo, bem como a autoclavagem do solo antes da montagem dos experimentos.

De acordo com Akhtar e Alam (1993) e D'Addabbo (1995), algumas tortas têm sido muito utilizadas no controle de nematoides, entre elas a torta de mamona, além do uso como adubo orgânico.

2.3 Incorporação de torta de mamona no controle de fitonematoides

A utilização de resíduos de mamona como a torta, óleo mineral, folhas e hastes secas tem sido relacionada à redução da população de fitonematoides, bem como ao melhor desenvolvimento de culturas (DIAS et al., 2000; MULLER; GOOCH, 1982; RITZINGER et al., 2004a, 2004b; RITZINGER; McSORLEY, 1998).

A torta de mamona tem sido geralmente utilizada como fertilizante nitrogenado orgânico, devido ao seu teor de NPK (LIMA et al., 2008; RAMACHANDRAN et al., 2007), e também devido ao comprovado efeito nematicida (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2010; LOPES et al., 2009, SANTOS et al., 2013).

Tiyagi e Alam (1995) avaliaram a eficiência de tortas de nim (*Azadirachta indica*), mamona (*Ricinus communis*), mostarda (*Brassica campestris*) e rúcula (*Eruca sativa*), contra fitonematoides e fungos do solo que infestam feijão mungo (*Vigna radiata*) e grão de bico (*Cicer arietinum*). A população dos fitonematoides, bem como a frequência dos fungos patogênicos, foram significativamente reduzidas por esses tratamentos e a frequência de

fungos saprófitas foi aumentada. Os efeitos residuais benéficos das tortas também foram observados na safra seguinte.

Akhtar e Alam (1991) observaram a supressão da população de nematoides parasitas de batata (*Solanum tuberosum*) quando mostarda (*Brassica juncea*) foi cultivada em linhas alternadas, ou o solo tratado com tortas de nim (*Azadirachta indica*) ou mamona (*Ricinus communis*), além do nematicida carbofuran.

2.4 Compostos orgânicos voláteis (COVs) tóxicos a fitonematoides

Os estudos com os COVs tóxicos a fitopatógenos têm sido enfatizados nos últimos anos (CAMPOS; PINHO; FREIRE, 2010) com alguns trabalhos sobre seus efeitos a fitonematoides, como a produção de COVs por isolados fúngicos e bacterianos (FREIRE et al., 2012; GU et al., 2007).

Alguns trabalhos também têm demonstrado o efeito dos COVs de resíduos orgânicos, como no trabalho de Lima (2006), que testou a ação dos COVs oriundos da decomposição dos resíduos da mostarda, em ovos de *M. incognita*. A eclosão foi reduzida com aumento das doses, indicando ação direta dos COVs como nematicida, já que os ovos não entraram em contato direto com o solo nem com os antagonistas. O autor concluiu que, além da supressão a nematoides, a adição de resíduos orgânicos da mostarda, aumentou a população microbiana, melhorou a estrutura do solo e aumentou a disponibilidade de nutrientes.

Barros et al. (2014b) também observaram a ação de COVs tóxicos a fitonematoides emitidos por macerados de nim e mostarda na imobilidade e mortalidade de J2 de *M. incognita* e na redução do número de galhas e ovos de *M. incognita*, resultantes da inoculação em tomateiros dos J2 expostos aos COVs. Também observaram que a mistura de macerado de nim ou mostarda ao

substrato emite COVs para o ar que têm efeito nematocida demonstrado pela exposição dos J2 a esses COVs a partir de 24 horas.

2.5 Detecção de COVs tóxicos a fitonematoides utilizando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)

A mistura de COVs liberada na degradação de resíduos vegetais apresenta uma composição complexa de substâncias e a análise dessa mistura pode ser feita por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (AUGUSTO, 2000).

Como técnica analítica, a GC depende da qualidade da etapa de preparo da amostra, portanto, a viabilização da análise por GC depende de um método adequado de preparo da amostra (VALENTE; AUGUSTO, 2000). Um destes métodos é a microextração em fase sólida (SPME), que não utiliza solvente, tem alto poder de concentração, é aplicável a muitos tipos de substâncias e facilita o transporte do material extraído para o cromatógrafo (PAWLISZYN, 1997; SHIREY; MANI, 1997).

A GC-MS permite analisar e identificar os COVs emitidos por plantas e microrganismos (D'ALESSANDRO; TURLINGS, 2006; THOLL et al., 2006). Freire et al. (2012) observaram que dois isolados de *Fusarium oxysporum* e um isolado de *F. solani* emitiram COVs tóxicos a J2 de *M. incognita*. Utilizando GC-MS, constataram cinco substâncias em maior quantidade produzidas pelo isolado 21 de *Fusarium oxysporum*: dissulfeto de dioctil, cariofileno, 4-metil-2,6-di-terc-butilfenol, acoradieno e outra não identificada, além de outros COVs em menor quantidade.

Bactérias também produzem COVs tóxicos a fitonematoides. Pinho (2010) identificou, por GC-MS, moléculas dos COVs emitidos por isolados de bactérias endofíticas, tóxicos a *M. incognita*, sendo 12 do isolado 43 (*Bacillus*

sphaericus), 4 do isolado 51 e 3 do isolado 52 (*B. pumilus*) e também testou alguns compostos comerciais que apresentaram diferentes atividades nematicidas.

Gu et al. (2007) também avaliaram COVs produzidos por 200 isolados de bactérias do solo contra *Panagrellus redivivus* e *Bursaphelenchus xylophilus*, dos quais 22 apresentaram 100% de atividade nematicida (AN) contra *P. redivivus* e sete contra *B. xylophilus*. Os voláteis de isolados representativos foram extraídos utilizando SPME e as suas estruturas identificadas utilizando GC-MS. Dos 20 COVs com AN forte ($\geq 80\%$), nove (fenol, 2-octanol, benzaldeído, benzeno-acetaldeído, decanal, 2-nonanona, 2-undecanona, ciclohexeno e dimetil-dissulfeto) exibiram 100% de AN para ambos os nematoides.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção de ovos e juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita*

De população pura de *M. incognita* mantida em tomateiros, cultivar Santa Clara, em casa-de-vegetação por dois meses, foram extraídos ovos das raízes galhadas, pela técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Boneti e Ferraz (1981). Os ovos extraídos foram colocados em câmara de eclosão. Os J2 eclodidos no segundo e no terceiro dia da montagem da câmara, foram colocados em peneiras de 500 mesh e imersos em água. Os J2 que passaram pelos poros da peneira e ficaram na água foram utilizados nos ensaios.

3.2 Coleta, preparo do solo e procedência da torta

Solo foi coletado em área rica em matéria orgânica e, posteriormente, peneirado. Nos ensaios, o solo utilizado teve a umidade ajustada para 60% da capacidade de campo (cc) e para determinar a quantidade de água necessária para ajustar essa umidade, 100 g do solo foram depositados em funis com base preenchida com algodão, para reter o solo. Em seguida, foram adicionados 100 mL de água até o ponto de saturação do solo. A água drenada após a saturação completa foi coletada em provetas e avaliado seu volume. Do volume inicialmente adicionado, foi descontado o volume drenado, obtendo-se a quantidade de água capaz de saturar o solo (100% da cc). A partir do resultado obtido foi possível calcular a quantidade de água necessária para ajustar a umidade do solo em 60% da cc.

A torta de mamona foi adquirida no Setor de Biodiesel da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.3 Toxicidade de COVs emitidos por torta de mamona incorporada ao solo a J2 e ovos de *Meloidogyne incognita*

Foram adicionados em saco plástico 250 mL de solo, seguidos de torta de mamona resultando nas concentrações de 0, 1,5, 3,0, 4,5 ou 6,0%, sendo que a concentração 0% constituiu o controle. A seguir, foram adicionados 3000 ovos de *M. incognita*. O saco foi, então, fechado e agitado, expondo os ovos às moléculas voláteis e não voláteis. A mistura foi transferida para um copo plástico de 300 mL e a umidade foi ajustada para 60% da cc. Os copos foram mantidos em incubadora a 28 °C por 10 (10D) ou 20 (20D) dias.

Para se estudar isoladamente o efeito dos COVs sem a interferência das moléculas não voláteis, foram aterrados no centro de cada copo três microtubos

de 1,5 mL até a metade. No primeiro microtubo foi adicionado 1 mL de suspensão aquosa contendo 1000 ovos de *M. incognita* no momento da vedação do copo, ficando os ovos expostos aos COVs por 10 dias (10D) ou, injetado com seringa, dez dias após a vedação dos copos, ficando expostos aos voláteis por 10 dias (20D).

No segundo e no terceiro microtubos de cada copo foram injetados 100 e 600 J2 de *M. incognita*, respectivamente, em 1 mL de suspensão aquosa no oitavo (10D) e no décimo oitavo dia (20D) após a vedação dos copos, ficando os J2 expostos aos COVs por 48 horas. Em todas as ocasiões, os orifícios de perfuração no filme plástico de PVC foram vedados com fita adesiva.

Na avaliação dos efeitos dos COVs, foi retirado o filme de PVC dos copos e os microtubos foram retirados e agitados. Dos microtubos com 100 J2, a suspensão foi transferida para poços de placa de poliestireno, onde foi estimada a porcentagem de J2 imóveis em microscópio de objetiva invertida. Em seguida, o volume de cada poço foi completado com água destilada e a placa de poliestireno foi encubada a 28 °C por 24 horas, para posterior avaliação do porcentual de mortalidade. Nos microtubos com ovos foi avaliada a eclosão dos J2 por 10 dias. Dos 600 J2 do terceiro microtubo foram avaliadas a infectividade e a reprodução conforme descrição a seguir.

3.4 Infectividade e reprodução de J2 de *Meloidogyne incognita* expostos aos COVs

Do microtubo com 600 J2, a suspensão foi transferida para 4 mL de água, que foram distribuídos em uma planta de tomate de aproximadamente 30 dias. Os tomateiros foram mantidos em casa de vegetação por 40 dias, sendo devidamente irrigados e adubados. Transcorridos os 40 dias após o transplante,

as plantas foram retiradas dos copos plásticos e tiveram suas raízes lavadas e pesadas, e nelas foram avaliadas a infectividade e a reprodução de *M. incognita*.

3.5 Infectividade e reprodução de *Meloidogyne incognita* em solo incorporado com torta de mamona e ovos

Após a retirada dos microtubos, em cada copo foi transplantada uma muda de tomateiro de aproximadamente 30 dias, aos 10 e 20 dias após o estabelecimento dos ensaios, respectivamente. Os tomateiros foram então mantidos em casa de vegetação também por 40 dias, sendo devidamente irrigados e adubados. Transcorridos os 40 dias, foram avaliadas a infectividade e a reprodução a partir dos ovos misturados ao solo e à torta de mamona.

3.6 Análise de COVs emitidos pela mistura solo e torta de mamona através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)

Foram preparadas seis replicatas da amostra de torta de mamona pura, de solo (com a umidade ajustada para 60% cc) e da mistura torta de mamona e solo na concentração de 1,5% (60% cc). As amostras foram colocadas em frascos de SPME de 20 mL. Tiveram os pesos padronizados e, posteriormente, foram mantidas em incubadora a 28 °C. Foram analisados os voláteis emitidos durante 10 dias depois do fechamento hermético dos tubos. Para a extração dos COVs foi empregada a técnica de SPME no modo *headspace*, usando a fibra DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno, Carboxen, Polidimetilsiloxano). A temperatura e o tempo de extração foram 35 °C e 30 minutos, respectivamente. Para a separação e identificação dos COVs foi usado um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas GC-MS QP 2010 Ultra (Shimadzu,

Japan) equipado com injetor automático para líquidos e gases AOC-5000 (Shimadzu, Japan) e coluna HP-5 (5% fenil-95% dimetilsiloxano) de dimensões 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm. A temperatura do injetor foi de 250 °C, da interface de 240 °C e da fonte de íons do detector de 200 °C. O injetor foi operado no modo splitless ou no modo split 1:2, de acordo com a intensidade dos picos nas amostras. Como gás de arraste foi usado He grau 5.0 a 1,0 mL min⁻¹. A programação da temperatura do forno do GC foi de 40 °C até 130 °C a 3°C min⁻¹ e então até 240 °C a 10 °C min⁻¹. O MS foi operado no modo de varredura na faixa de 40-350 u.m.a. Para a identificação dos COVs nas amostras, os espectros de massas de cada pico do cromatograma foram extraídos através do programa Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System (AMDIS) v. 2.63. A identificação dos COVs foi realizada por comparação dos espectros de massas dos picos das amostras com espectros da biblioteca NIST pelo programa Mass Spectral Search Program v. 1.7 (NIST, Washington - DC, USA) e por comparação dos índices de retenção obtidos experimentalmente (RI Exp.) com os índices de retenção da literatura (RI Lit.) (ADAMS, 2007; NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 2013; THE PHEROBASE, 2016). Os índices de retenção experimentais foram obtidos através da injeção de uma série homóloga de alcanos. Para a comparação entre os espectros de massas foram considerados somente picos em que a similaridade entre os espectros foi maior que 80%.

3.7 Mortalidade de J2 de *Meloidogyne incognita* pelas moléculas voláteis com maior intensidade nos cromatogramas

Das moléculas identificadas na mistura solo e torta de mamona através de GC-MS, as que apresentaram maior intensidade foram adquiridas no comércio e testadas quanto à mortalidade, nas concentrações de 50, 100, 200,

300, 400 e 500 mg L⁻¹, em J2 de *M. incognita*. Para tanto, dissolveram-se as substâncias em solução aquosa de Tween 80[®] a 0,01 g mL⁻¹ obtendo-se uma concentração de 600 mg L⁻¹ utilizada nos testes. Como controles negativo e positivo foram utilizados a solução de Tween 80[®] a 0,01 g mL⁻¹ e o nematicida carbofuran na concentração final de 400 mg L⁻¹, respectivamente. Para cada concentração das moléculas a testar foram preparadas cinco repetições. Em microtubos de 2 mL com tampa de rosca foram colocadas as soluções juntamente com 200 J2 de modo que se alcançasse a concentração final (500, 400, 300, 200, 100 ou 50 mg L⁻¹) em um volume de 1200 µL. Em seguida, os microtubos foram vedados com filme de PVC e mantidos em incubadora a 28 °C por 48 horas. Então, os microtubos foram abertos e o conteúdo foi agitado. Uma alíquota de 150 µL foi retirada de cada repetição e colocada em placa de poliestireno para a avaliação da mortalidade. Para isso, foram colocados 20 µL de solução de NaCl 1,0 mol L⁻¹ em cada poço da placa de poliestireno onde estavam os J2 e verificada a movimentação dos mesmos. Aqueles que se movimentavam foram considerados vivos e os que permaneciam retos, mortos. A CL 50 de cada substância foi calculada através de regressão e detalhada no tópico seguinte.

3.8 Análise estatística dos dados

Todos os experimentos foram repetidos duas vezes utilizando um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. A análise de variância (ANOVA) para os ensaios com solo e torta foi realizada em esquema fatorial com dois períodos de formação da câmara de gás (10 e 20 dias) e cinco concentrações (0,0, 1,5, 3,0, 4,5 e 6,0%), constituindo dez tratamentos. Todos os resultados foram, previamente, submetidos a testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância dos erros (Bartlett). Quando os dados não

atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade foram submetidos à transformação. Assim fez-se a transformação dos dados relativos à eclosão para \sqrt{x} e, dos dados relativos à reprodução dos J2 expostos aos COVs e dos ovos misturados ao solo incorporado com torta de mamona, a $\log(x + 0,5)$. Dessa forma, aplicou-se o teste F por meio da análise de variância (ANOVA). Quando o teste F foi significativo ($P < 0,05$) as médias de cada tratamento foram agrupadas e diferenciadas pelo teste de Tukey. Para identificar a concentração letal (CL 50), capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população, das substâncias que foram tóxicas aos J2, as porcentagens de mortalidade dos J2 foram submetidas a uma análise de regressão não linear utilizando a equação quadrática. Os valores para CL 50 foram relatados com os respectivos erros padrão (EP).

4 RESULTADOS

Não houve interação significativa ($P = 0,509$) entre os períodos de formação da câmara de gás (PFCG) e as concentrações em relação à imobilidade. Entretanto, quando se avaliou a imobilidade, a variável concentração foi significativa ($P < 0,001$), sendo que qualquer concentração de torta causou maior imobilidade ($> 96\%$) do que o controle.

A interação entre PFCG e concentração foi significativa ($P < 0,001$) quando se avaliou a mortalidade de J2 expostos aos COVs emitidos pela torta de mamona incorporada ao solo. Todas as concentrações da torta causaram mortalidade superior ao controle tanto na câmara de gás formada em 10 dias quanto em 20 dias. Houve maior porcentagem de mortalidade no período de 20 dias quando observado o controle (Figura 1).

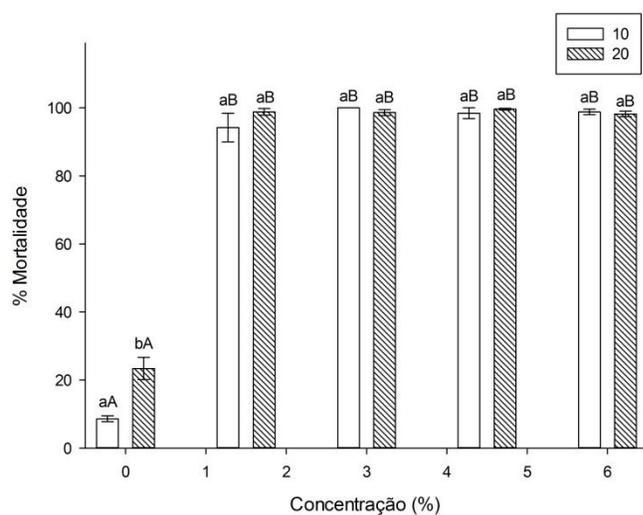


Figura 1. Porcentagem de mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* expostos aos compostos orgânicos voláteis liberados por solo incorporado com torta de mamona em diferentes concentrações pelos períodos de 10 ou 20 dias de formação da câmara de gás. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula para concentração e minúscula para período de formação da câmara de gás, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Barras representam o erro padrão da média.

Fonte: Dados do autor (2016)

Quando se avaliou a eclosão de J2, a interação entre os PFCG e as concentrações também foi significativa ($P < 0,001$). A eclosão foi reduzida em todas as concentrações quando comparadas ao controle em ambos os PFCG. Todas as concentrações apresentaram maior redução da eclosão no período de 20 dias comparado ao de 10 dias (Figura 2).

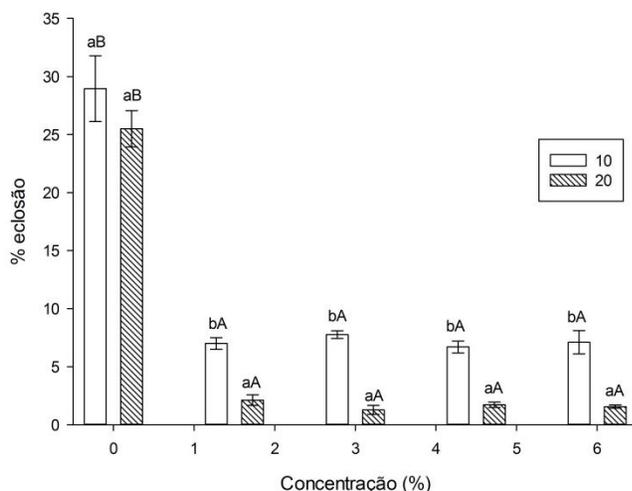


Figura 2. Porcentagem de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* após a exposição dos ovos aos compostos orgânicos voláteis liberados por solo incorporado com torta de mamona em diferentes concentrações pelos períodos de 10 ou 20 dias de formação da câmara de gás. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula para concentração e minúscula para período de formação da câmara de gás, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Barras representam o erro padrão da média.

Fonte: Dados do autor (2016)

A interação entre PFCG e concentração também foi significativa ($P < 0,001$) quando se avaliou a infectividade e a reprodução tanto dos ovos misturados ao solo incorporado com torta de mamona, quanto dos J2 expostos aos COVs. A infectividade dos J2 e dos ovos foi reduzida em todas as concentrações quando comparadas aos controles em ambos os PFCG. Houve maior redução da infectividade, dos J2 e dos ovos, no período de 20 dias quando observados os controles (Figuras 3A e 4A). A reprodução dos J2 e dos ovos também foi reduzida significativamente por todas as concentrações no período de 10 dias, quando comparadas aos controles. No período de 20 dias as concentrações não diferiram do controle, já que houve maior redução da reprodução, tanto dos J2 quanto dos ovos, nesse período quando observados os controles (Figuras 3B e 4B).

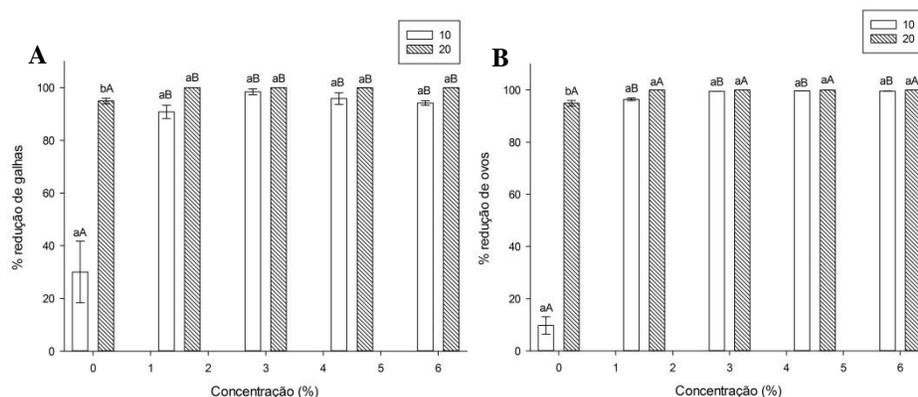


Figura 3. Porcentagem de redução da infectividade (A) e da reprodução (B) de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* expostos aos compostos orgânicos voláteis liberados por solo incorporado com torta de mamona em diferentes concentrações pelos períodos de 10 ou 20 dias de formação da câmara de gás. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula para concentração e minúscula para período de formação da câmara de gás, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Barras representam o erro padrão da média.

Fonte: Dados do autor (2016)

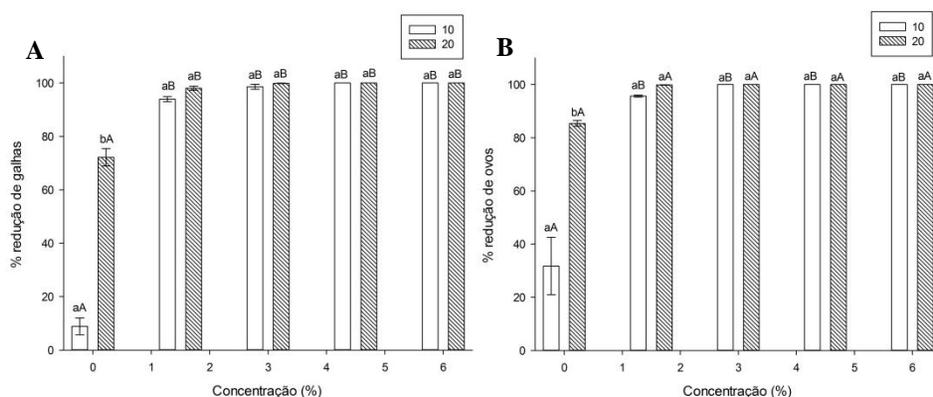


Figura 4. Porcentagem de redução da infectividade (A) e da reprodução (B) de ovos de *Meloidogyne incognita* misturados ao solo incorporado com torta de mamona em diferentes concentrações pelos períodos de 10 ou 20 dias de formação da câmara de gás. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula para concentração e minúscula para período de formação da câmara de gás, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Barras representam o erro padrão da média.

Fonte: Dados do autor (2016)

Foram encontradas 32 moléculas na fase gasosa formada por 10 dias pela mistura de solo e torta de mamona na concentração de 1,5%, distribuídas em diferentes classes, entre elas cetona, álcool, fenol, sulfurado e terpeno. Dentre as classes apresentadas, cetona apresentou maior número de compostos.

Das 32 moléculas encontradas, cinco apresentaram maior intensidade: fenol, 2-octanona, 4-metil-fenol, γ -decalactona e 3-metil-1H-indol (Tabela 1). Essas substâncias foram testadas quanto à mortalidade de J2 em diferentes concentrações e todas foram efetivas, exceto a 2-octanona, mesmo na maior concentração (500 mg L⁻¹). As demais substâncias apresentaram alta mortalidade, semelhante à do nematicida carbofuran (controle positivo), até a concentração de 100 mg L⁻¹. A concentração de 50 mg L⁻¹ sempre causou menor mortalidade que as demais concentrações, porém sempre maior que o controle negativo. Ao avaliar a CL 50 das substâncias que causaram mortalidade, os valores estiveram sempre abaixo de $66,3 \pm 18,0$ mg L⁻¹ quando em contato com os J2 por 48 horas (Tabela 2), bem abaixo do valor obtido por Oliveira et al. (2014) com o nematicida carbofuran.

Tabela 1. Compostos orgânicos voláteis identificados na mistura solo e torta de mamona por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, através da microextração em fase sólida (SPME-CG-MS).

Compostos	Grupo	IR Exp.	IR Lit.	%
(1) acetona	cetona	x	x	95
(2) 2-butanona	cetona	601	605	81
(3) 2-pentanona	cetona	685	685	85
(4) metil-isobutilcetona	cetona	734	733	90
(5) 2-hexanona	cetona	791	788	94
(6) 2-heptanona	cetona	889	889	94
(7) 6-metil-2-heptanona	cetona	953	954	88
(8) 2-octanona*	cetona	990	988	93
(9) 2-nonanona	cetona	1092	1087	88
(10) feniletil cetona	cetona	1165	1176	95
(11) p-metilacetofenona	cetona	1186	1179	87
(12) 2-undecanona	cetona	1292	1294	89
(13) fenol*	fenol	982	980	91
(14) 4-metil-fenol*	fenol	1077	1072	90
(15) 2-octanol	álcool	1004	994	88
(16) álcool feniletílico	álcool	1114	1116	92
(17) metanotiol	sulfurado	x	x	92
(18) dissulfeto de dimetila	sulfurado	740	738	94
(19) trissulfeto de dimetila	sulfurado	967	961	89
(20) tetrasulfeto de dimetila	sulfurado	1215	1210	90
(21) nopinona	terpeno	1140	1140	82
(22) pinocarveol	terpeno	1142	1139	89
(23) borneol	terpeno	1173	1165	87
(24) isopinocanfona	terpeno	1177	1175	88
(25) verboreno	terpeno	1209	1205	91
(26) cupareno	terpeno	1507	1505	87
(27) dióxido de carbono	óxido	x	x	99
(28) ácido 2-metil-propanóico	ácido carboxílico	778	790	90
(29) ácido 2-metil-butanóico	ácido carboxílico	858	850	90
(30) 3-metil-1H-indol*	amina	1388	183	90
(31) γ -decalactona*	éster	1465	1466	88
(32) p-metil anisol	éter	1020	1015	91

* Substâncias com maior intensidade.

Fonte: Dados do autor (2016)

Tabela 2. Valores de CL 50 das substâncias testadas contra juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* calculados após 48 horas de imersão dos J2 em soluções teste.

Substância	CL 50/48h (mg L ⁻¹ ± EP)
(1) 3-metil-1H-indol	45,3 ± 14,0
(2) γ -decalactona	66,3 ± 18,0
(3) 4-metil-fenol	58,3 ± 17,8
(4) fenol	22,9 ± 12,5
(5) carbofuran	260 (Oliveira et al., 2014)

EP – Erro padrão da média.

Fonte: Dados do autor (2016)

5 DISCUSSÃO

A ação tóxica conjunta das moléculas voláteis e não voláteis de solo incorporado com torta de mamona em ovos de *M. incognita* foi comprovada pela redução da infectividade e da reprodução em tomateiros, em todas as concentrações da torta de mamona quando comparadas à testemunha, o que também tem sido observado em outros trabalhos. Por exemplo, menor número de galhas, de massas de ovos e de ovos foi proporcionado pela torta de mamona, similar ao nematicida carbofuran, quando avaliaram o efeito de diferentes compostos orgânicos no controle de *M. javanica* (SANTOS et al., 2013). Redução significativa também foi observada na população de *Pratylenchus* spp. ao utilizarem a torta de mamona a 1.800 kg/ha (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2010). Também verificaram redução de 18% e 48% no número de ovos de *M. javanica*, por planta, quando incorporaram a torta de mamona nas doses de 0,5 e 1,0%, respectivamente (LOPES et al., 2009). O efeito da biofumigação do solo com repolho e torta de mamona, separado ou em conjunto, foi observado no controle de *Mesocriconema xenoplax* e *Helicotylenchus* sp., apresentando níveis de supressão entre 85 e 94% (GOMES et al., 2006). A ação nematicida de várias tortas foi observada na redução da população de *Heterodera cajani* em guandú (*Cajanus cajan*), dentre elas a torta de mamona

apresentou redução de 33,5% pela incorporação de 5g/vaso (MEENA; NEHRA; TRIVEDI, 2009).

No entanto, a ação tóxica dos voláteis a fitonematoides emitidos pela mistura torta de mamona e solo é quase desconhecida. Neste trabalho, a toxicidade dessas emissões foi comprovada pelo aumento da imobilidade e mortalidade dos J2 quando expostos aos COVs na superfície da mistura torta e solo. Algumas pesquisas têm demonstrado o efeito isolado de COVs emitidos por plantas e microrganismos, como fungos e bactérias, a fitonematoides. Por exemplo, foi verificado o aumento da imobilidade e da mortalidade de J2 de *M. incognita* pela ação de COVs oriundos de macerados de nim e mostarda incorporados ao substrato, bem como a redução da infectividade e da reprodução dos J2 expostos à ação dos COVs (BARROS et al., 2014b). Dois isolados de *Fusarium oxysporum* e um isolado de *F. solani* emitiram COVs, que provocaram a mortalidade de 88 a 96% dos J2 de *M. incognita* (FREIRE et al., 2012).

O controle apresentou maior porcentagem de mortalidade e maior redução da infectividade e da reprodução, tanto dos J2 expostos aos COVs quanto dos ovos misturados ao solo, no período de 20 dias em relação ao de 10 dias, o que pode ser explicado pela ação dos COVs da microbiota natural do solo, quando houve um período maior de vedação. Cordovez et al. (2015) demonstraram que solos supressivos possuem microrganismos produtores de COVs que contribuem para a atividade antagonista do solo.

A redução significativa na eclosão de J2, oriundos de ovos expostos aos COVs emitidos pela mistura solo e torta de mamona, em todas as concentrações quando comparadas ao controle, em ambos os PFCG, indica efeito tóxico desses COVs aos ovos de *M. incognita*. Lima (2006) também verificou a redução da eclosão quando testou a ação dos voláteis oriundos da decomposição dos resíduos da mostarda em ovos de *M. incognita*, e verificou que a eclosão foi

reduzida com o aumento das doses, indicando ação nematicida direta dos voláteis, já que os ovos não entraram em contato direto com o solo, nem com os resíduos. No presente ensaio também foi possível observar que, todas as concentrações apresentaram maior redução da eclosão de J2 de *M. incognita* no período de 20 dias do que em 10 dias, indicando maior toxicidade causada pelo maior PFCG.

A porcentagem de redução da infectividade e da reprodução foi elevada (> 90%) em todas as concentrações, independente do PFCG, tanto para os J2 expostos aos COVs, quanto para os ovos presentes no solo misturado com torta de mamona, mostrando a eficácia dos voláteis da torta de mamona semelhante à ação conjunta das moléculas voláteis e não voláteis.

Tem-se observado que com a adição de água ocorre a decomposição de tortas oleaginosas, o que resulta na liberação de muitos compostos, incluindo os de natureza nematicida como amônia, fenóis e aldeídos (ISMAIL et al., 2011). Neste trabalho foram identificados 32 compostos voláteis emitidos pela mistura solo e torta de mamona, distribuídos em classes como cetona, álcool, fenol, sulfurado e terpeno. Compostos que apresentam baixa massa molecular, como amônia e sulfeto de hidrogênio, por exemplo, não seriam identificados por GC-MS neste trabalho, já que o MS foi operado acima de 40 u.m.a., evitando assim a identificação de voláteis como O₂ e N₂.

Diferentes classes de compostos como cetonas, álcoois, fenóis, terpenos e ésteres, podem interagir resultando em misturas complexas em plantas, como os óleos essenciais, por exemplo; porém, alguns desses compostos não exercem função direta no crescimento e desenvolvimento vegetal, mas podem apresentar outras funções, entre elas a ação nematicida (MONTEIRO et al., 2014). Gu et al. (2007) avaliaram COVs produzidos por isolados de bactérias do solo e observaram compostos de cetona apresentando atividade nematicida (AN) frequentemente alta contra *Panagrellus redivivus* e *Bursaphelenchus xylophilus*,

bem como os compostos de álcool e aldeído. Dos 20 COVs com AN forte ($\geq 80\%$), nove exibiram 100% de AN para ambos os nematoides e pertenciam a seis categorias: álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, alcanos e compostos fenólicos. Também observaram que diferentes compostos voláteis da mesma categoria podem mostrar AN muito diferentes. Neste trabalho os compostos γ -decalactona, 3-metil-1H-indol, fenol e 4-metil-fenol apresentaram alta mortalidade contra J2 de *M. incognita* até a concentração de 100 mg L⁻¹.

A substância γ -decalactona possui aroma frutal e é amplamente utilizada em alimentos e bebidas. É resultante da biotransformação de ácido ricinoleico, principal constituinte do óleo de mamona, por vários microrganismos entre eles a levedura *Yarrowia lipolytica* (BRAGA; GOMES; BELO, 2012). Chambers, Evans e Folta (2013) observaram essa substância afetando significativamente o crescimento de organismos patogênicos como *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Phomopsis obscurans*, *Gnomonia fragariae* e *Phytophthora cactorum*, além de apresentar efeitos bacteriostáticos em culturas de *Xanthomonas*.

O composto 3-metil-1H-indol, juntamente com fenol e 4-metilfenol, podem ser encontrados em secreções de insetos tendo como possíveis funções: repulsão de insetos, desinfecção antibacteriana e antifúngica e repulsão de predadores vertebrados e invertebrados (DEGENKOLB; DÜRING; VILCINSKAS, 2011).

O composto fenol emitido por torta de mamona e solo também tem sido identificado através de GC-MS em voláteis de bactérias e tem apresentado atividade nematicida contra fitonematoides (GU et al., 2007; HUANG et al., 2010). Esse composto também é liberado por alguns insetos, que estão sujeitos ao ataque de fungos e bactérias, e pode apresentar propriedades antibióticas inibindo a germinação de esporos e o crescimento de diversos tipos de fungos e

bactérias, além de atuar como defensivo contra outros predadores (DUFFEY et al., 1977).

6 CONCLUSÕES

A torta de mamona tem efeito direto nos ovos de *M. incognita* no solo e os COVs emitidos já aos 10 dias, mesmo na menor concentração da torta (1,5%) após sua incorporação no solo, imobiliza e mata J2 de *M. incognita*, além de reduzir a eclosão, a infectividade e a reprodução desses J2. Foram identificadas 32 moléculas emitidas pela mistura solo e torta de mamona. Das cinco que apresentaram maior intensidade, quatro: γ -decalactona, 3-metil-1H-indol, fenol e 4-metil-fenol possuem ação nematicida e CL 50 menor ou igual a $66,3 \pm 18,0$ mg L⁻¹, mostrando-se como substâncias potenciais para uso em indústrias de nematicidas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.

AKHTAR, M.; ALAM, M. M. Integrated control of plant-parasitic nematodes on potato with organic amendments, nematicide and mixed cropping with mustard. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 19, n. 2, p. 169-171, Dec. 1991.

_____. Utilization of waste materials in nematode control: a review. **Bioresource Technology**, Barking, v. 45, n. 1, p. 1-7, 1993.

AUGUSTO, F. Cromatografia a gás: curso em diapositivos. **Chemkeys, Liberdade para Aprender**, Campinas, p. 10, jul. 2000. Disponível em: <<http://chemkeys.com/br/2000/07/18/cromatografia-a-gas-curso-em-diapositivos/>>. Acesso em: 15 mar. 2015.

BARROS, A. F. et al. Nematicidal activity of volatile organic compounds emitted by *Brassica juncea*, *Azadirachta indica*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* and *Cajanus cajan* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 80, n. 1, p. 34-43, Apr. 2014a.

_____. Tempo de exposição de juvenis de segundo estágio a voláteis emitidos por macerados de nim e de mostarda e biofumigação contra *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, Auburn, v. 44, n. 2, p. 190-199, Dec. 2014b.

BELLO, A.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; DÍAZ-VIRULICHE, L. Biofumigación y solarización como alternativas al bromuro de metilo. **Memorias del Simposium Internacional de la Fresa**, Zamora, p. 24-50, Dic. 2000.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553, out. 1981.

BRAGA, A.; GOMES, N.; BELO, I. Lipase induction in *Yarrowia lipolytica* for castor oil hydrolysis and its effect on γ -decalactone production, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 89, n. 6, p. 1041-1047, Oct. 2012.

CAMPOS, V. P.; PINHO, R. S. C.; FREIRE, E. S. Volatiles produced by interacting microorganisms potentially useful for the control of plant pathogens. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 525-535, maio/jun. 2010.

CHAMBERS, A. H.; EVANS, S. A.; FOLTA, K. M. Methyl anthranilate and γ -decalactone inhibit strawberry pathogen growth and achene germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, n. 51, p. 12625-12633, Dec. 2013.

CORDOVEZ, V. et al. Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, p. 1081, Oct. 2015.

D'ADDABBO, T. The nematicidal effect of organic amendments: a review of the literature, 1982-1994. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 23, n. 2, p. 299-306, Dec. 1995.

D'ALESSANDRO, M.; TURLINGS, T. C. Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. **Analyst**, London, v. 131, n. 1, p. 24-32, Jan. 2006.

DEGENKOLB, T.; DÜRING, R.; VILCINSKAS, A. Secondary metabolites released by the burying beetle *Nicrophorus vespilloides*: chemical analyses and possible ecological functions. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 37, n. 7, p. 724-735, July 2011.

DIAS, R. C. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 24, n. 2, p. 203-210, jun. 2000.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. Efeito da torta de mamona sobre populações de nematoides fitoparasitos e a produtividade da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 1, p. 68-71, fev. 2010.

DUDAREVA, N. et al. Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v. 25, n. 5, p. 417-440, Sept. 2006.

DUFFEY, S. S. et al. Benzoyl cyanide and mandelonitrile benzoate in the defensive secretions of millipedes. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 3, n. 1, p. 101-113, Jan. 1977.

FELDMESSER, J. **Estimated crop losses from plant parasitic nematodes in the United States**. Beltsville: Society of Nematologist, 1971.

FERNANDO, W. D. et al. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 37, n. 5, p. 955-964, May 2005.

FERRAZ, S. Summary report on the current status, progress and needs for *Meloidogyne* research in Brazil (Region III). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Ed.). **An advanced treatise on Meloidogyne**: volume 1: biology and control. Raleigh: North Caroline State University Graphics, 1985. p. 351-352.

FREIRE, E. S. et al. Volatile substances produced by *Fusarium oxysporum* from coffee rhizosphere and other microbes affect *Meloidogyne incognita* and *Arthrobotrys conoides*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 44, n. 4, p. 321-328, Oct. 2012.

GOMES, C. B. et al. Efeito da torta de mamona e do repolho na biofumigação e solarização do solo para controle de fitonematoides associados ao pessegueiro.

In: CONGRESSO BRASILEIRO DA MAMONA, 2., 2006, Aracaju. **Anais...**
Aracaju: Cenário Atual e Perspectivas, 2006. p. 1-7.

GONZÁLEZ, A.; CANTO-SÁENZ, M. Comparison of five organic amendments for the control of *Globodera pallida* in microplots in Peru. **Nematropica**, Auburn, v. 23, n. 2, p. 133-139, Apr. 1993.

GU, Y. Q. et al. Evaluation and identification of potential organic nematicidal volatiles from soil bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 39, n. 10, p. 2567-2575, Oct. 2007.

HUANG, Y. et al. Characterisation of volatiles produced from *Bacillus megaterium* YFM3. 25 and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognita*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 126, n. 3, p. 417-422, Mar. 2010.

INOMOTO, M. M. Importância e manejo de *Pratylenchus brachyurus*. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 108, p. 4-9, nov./dez. 2008.

ISMAIL, A. E. et al. *Meloidogyne incognita* suppression and changes of grapevine yield properties determined by waste residues from jojoba, black seed oil extraction and slow release of nitrogen fertilizer. **Pakistan Journal of Nematology**, Karachi, v. 29, n. 2, p. 187-205, Mar. 2011.

LEFF, J. W.; FIERER, N. Volatile organic compound (VOC) emissions from soil and litter samples. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 7, p. 1629-1636, May 2008.

LIMA, A. O. **Biofumigação do solo com *Brassica rapa* para o controle de fitonematoides**. 2006. 44 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

LIMA, R. L. et al. Casca e torta de mamona avaliados em vasos como fertilizantes orgânicos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 5, p. 102-106, dez. 2008.

LOPES, E. A. et al. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 2, n. 1, p. 17-21, 2008.

_____. Soil amendment with castor bean oilcake and jack bean seed powder to control *Meloidogyne javanica* on tomato roots. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 1, p. 106-109, jan. 2009.

MACHADO, A. C. Z. Current nematode threats to Brazilian agriculture. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 20, n. 1, p. 26-35, set. 2014.

MASHELA, P. W.; NTHANGENI, M. E. Efficacy of *Ricinus communis* fruit meal with and without *Bacillus* species on suppression of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, n. 7, p. 399-402, May 2002.

MEENA, P.; NEHRA, S.; TRIVEDI, P. C. Efficacy of decomposed organic cakes against *Heterodera cajani* infecting *Cajanus cajan*. **Asian Journal of Experimental Sciences**, Amsterdam, v. 23, n. 1, p. 181-184, 2009.

MOLINARI, S. Antioxidant enzymes in (a) virulent populations of root-knot nematodes. **Nematology**, College Park, v. 11, n. 5, p. 689-697, 2009.

MONTEIRO, T. S. A. et al. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1149-1154, jul. 2014.

MORAES, M. V. de; LORDELLO, L. G. E. Uso de torta de mamona no controle de nematoides em solo para viveiro de café. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, Campinas, v. 1, n. 2, p. 267-271, 1977.

MULLER, R.; GOOCH, P. S. Organic amendments in nematode control. An examination of the literature. **Nematropica**, Auburn, v. 12, n. 2, p. 319-326, Oct. 1982.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **NIST chemistry webbook**. [S.l.: s.n.], 2013. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry/>>. Acesso em: 25 ago. 2015.

OKA, Y. et al. Cereal cyst nematodes in Israel, and their biology and control strategies. In: WORKSHOP OF THE INTERNATIONAL CEREAL CYST NEMATODE INITIATIVE, 1., 2009, Antalya. **Proceedings...** Antalya: International Maize and Wheat Improvement Centre, 2009. p. 118-123.

_____. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 90, n. 7, p. 710-715, Mar. 2000.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments: a review. **Applied Soil Ecology**, Elmsford, v. 44, n. 2, p. 101-115, Feb. 2010.

OLIVEIRA, D. F. et al. Purification and identification of metabolites produced by *Bacillus cereus* and *B. subtilis* active against *Meloidogyne exigua*, and their in silico interaction with a putative phosphoribosyltransferase from *M. incognita*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 2, p. 525-538, abr. 2014.

PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction: theory and practice**. New York: Wiley-VHC, 1997. 251 p.

PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. **Science**, Oxford, v. 311, n. 5762, p. 808-811, Feb. 2006.

PINHO, R. S. C. **Efeito de metabólitos bacterianos em diferentes estádios de *Meloidogyne incognita***. 2010. 73 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

RAMACHANDRAN, S. et al. Oil cakes and their biotechnological applications: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 10, p. 2000-2009, July 2007.

RICH, J. R. et al. Influence of castor bean (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, Auburn, v. 19, n. 1, p. 99-103, Mar. 1989.

RITZINGER, C. H. S. P. et al. Uso de torta de mamona e nim em mudas de mamoeiro infestadas pelo nematoide das galhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA: ENERGIA E SUSTENTABILIDADE, 1., 2004, Campina Grande. **Anais**: Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004a.

_____. Uso de torta de mamona em plantas de aceroleira infestadas por fitonematoides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA: ENERGIA E SUSTENTABILIDADE, 1., 2004, Campina Grande. **Anais**: Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004b.

RITZINGER, C. H. S. P.; McSORLEY, R. Effect of castor and velvetbean organic amendments on *Meloidogyne arenaria* in greenhouse experiments. **Journal of Nematology**, College Park, v. 30, n. 4, p. 624-631, Dec. 1998.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. **Journal of Nematology**, College Park, v. 18, n. 2, p. 129-134, Apr. 1986.

SANTOS, B. H. C. et al. Controle de *Meloidogyne javanica* em mudas de bananeira Prata-anã por compostos orgânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 650-656, jun. 2013.

SASSER, J. N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, Washington, v. 64, n. 1, p. 36-41, Jan. 1980.

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

SHIREY, R. E.; MANI, V. **Pittcon conference**. Atlanta: [s.n.], 1997.

SIKORA, R. A.; FERNÁNDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Cambridge: CABI Publishing, 2005. p. 319-392.

SILVA, G. S.; PEREIRA, A. L. Efeito da incorporação de folhas de nim ao solo sobre o complexo *Fusarium x Meloidogyne* em quiabeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 368-370, jan. 2008.

THE PHEROBASE. Disponível em: <<http://www.pherobase.com/kovats/>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

THOLL, D. et al. Practical approaches to plant volatile analysis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 45, n. 4, p. 540-560, Feb. 2006.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473 p.

TIWARI, S.; EISENBACK, J. D.; YOUNGMAN, R. R. **Root-knot nematode in field corn**. Virginia: College of Agriculture and Life Sciences, 2009. 3 p.

TIYAGI, S. A.; ALAM, M. M. Efficacy of oil-seed cakes against plant-parasitic nematodes and soil-inhabiting fungi on mungbean and chickpea. **Bioresource Technology**, Essex, v. 51, n. 2/3, p. 233-239, 1995.

TRUDGILL, D. L.; BLOCK, V. C. Apomitic, polyphago root-knot view of nematodes: excepcionally succesful and damaging biotrophic root pathogens. **Annal Review of Phythopatology**, Palo alto, v. 39, n. 1, p. 53-77, Sept. 2001.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 523-530, jul./ago. 2000.

WHEATLEY, R. E. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 81, n. 1/4, p. 357-364, Aug. 2002.