UNIOESTE - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA NÍVEL MESTRADO

ÉRICA DAS GRAÇAS CARVALHO NASU

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MANIPUEIRA E SUA POTENCIALIDADE NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM TOMATEIRO NO OESTE DO PARANÁ

MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PARANÁ – BRASIL
Abril/2008

ÉRICA DAS GRAÇAS CARVALHO NASU

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MANIPUEIRA E SUA POTENCIALIDADE NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM TOMATEIRO NO OESTE DO PARANÁ

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Mestrado, para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADOR: PROF. Dr. CLEBER FURLANETTO

CO-ORIENTADOR: PROF. Dr. AFFONSO CELSO GONÇALVES JUNIOR

MARECHAL CÂNDIDO RONDON Abril/2008

DEDICATÓRIA

Ao meu amado esposo Celso Kazuo Nasu, por não ter medido esforços para que eu conseguisse alcançar meus objetivos durante está caminhada, e que mesmo distante esteve sempre presente na realização deste sonho. E aos meus pais Dionísio e Francisca pelo amor incondicional e por me fazerem a pessoa mais feliz deste mundo, minhas irmãs Hellen e Edirlene, pelo amor e incentivo e a minha pequena sobrinha Yasmin por me proporcionar tanta alegria.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, fonte de sabedoria e inteligência, e amparo contanste em todos os dias da minha vida.

Especialmente ao professor Dr. Cleber Furlanetto, pela sua amizade, ensinamentos, pelo exemplo de profissional prestativo e paciente, cuja busca incansável pela perfeição serão exemplos durante toda minha vida. Meu eterno agradecimento pela confiança depositada em mim foi uma honra ter feito este trabalho sob sua orientação.

Ao professor Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior, pela sábia co-orientação, pelo apoio e pela disponibilidade, obrigada pela sua amizade e valiosos conhecimentos, a você minha gratidão.

Ao professor Dr. Rafael Pio, pelo seu auxílio nas análises estatísticas.

Ao professor Dr. Cláudio Yuji Tsutsumi, pela amizade, carinho, atenção, colaboração. Pela alegria e convivência, agradeço.

A UNIOESTE- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, toda sua equipe de Pós-Graduação e professores, pela oportunidade de realizar este sonho. Obrigada pelos valiosos conhecimentos transmitidos e pela amizade.

Ao Laboratório de Química Agrícola e Ambiental, em especial aos técnicos Gilmar e Emerson, pelo auxílio nas realização das análise químicas.

Ao Laboratório de Nematologia, com destaque aos meus amigos técnicos do laboratório, Gilmar Franzener e Marta Bianchini, sempre queridos e atenciosos. Pela convivência e colaboração, eu os agradeço.

Ao produtor Livar Josué Kaiser e família, que gentilmente cedeu parte de sua propriedade para realização deste experimento a campo.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação, por tornarem meus dias mais ricos, pela troca de informação e experiência, sem a companhia de todos vocês tudo seria mais difícil.

Aos meus queridos amigos, Ely Pires, Hamilton Santana, Tania Pires da Silva, Dayanne Bressan, Karine Seifert, Tatiane Ohland, Laline Broetto, Tania Neunfeld, Marta Grabowski, Juliana Davi, Heloísa Formentini, Idiana Marina Dalastra, Clair Viecelli, Carla Horing, Carla Reolon, Sandra Toiller pelas colaborações e por proporcionarem adoráveis momentos de amizade e confiança. Sem a ajuda de todos vocês, este trabalho não teria sido concluído. Obrigada!

A minha mais nova família, que Deus abençoou-me colocando na minha vida, Denys, Vera, Darlene, Débora, Salete, Jeferson e Augusto, por ter me recebido de coração aberto, sou e serei eternamente grata.

A minha amada família (Pai, mãe, irmãs, sobrinha, cunhado, cunhada, sogro e sogra). A vocês devo todo o meu caráter, mais do que incentivadores, torcedores, lutadores, são parte fundamental na minha vida, sem vocês eu nada seria.

Ao meu eterno namorado Celso Kazuo Nasu, que apesar da distância esteve sempre perto, pelo seu companheirismo, cumplicidade, sempre me incentivando a prosseguir não importando qual fosse o obstáculo, seu amor e estímulo foram partes fundamentais para a conclusão deste trabalho. Te amo!

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho. O meu muito obrigado.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	ii
SUMÁRIO	iv
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	хi
RESUMO	xii
ABSTRACT	χi\
1. INTRODUÇÃO	. 1
2. REVISÃO DE LITERATURA	. 3
2.1. A CULTURA DO TOMATEIRO	. 3
2.2. NEMATÓIDES	. 3
2.2.1 Gênero Meloidogyne	. 5
2.2.2 Controle de Nematoides	6
2.3 A Agroindústria da Mandioca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	6
2.3.1 A Mandiocultura no Brasil	6
2.3.2 Manipueira	8
2.3.2.1 Composição química	. 10
2.3.2.2 Utilização da manipueira no controle de fitopatógenos	. 11
3. MATERIAL E MÉTODOS	. 13
3.1 COLETA E EXTRAÇÃO DE MANIPUEIRA	. 13
3.2 Análise Química da Manipueira	14
3.2.1 Análise Química da Manipueira Indústrial e Caseira	14
3.3 CONTROLE DE Meloidogyne incognita COM MANIPUEIRA	. 15
3.3.1 Manutenção de Populações de <i>Meloidogyne incognita</i> Raça 3	. 15

3.4 CONTROLE IN VITRO de Meloidogyne incognita RAÇA 3 CON	J
MANIPUEIRA	. 16
3.4.1 Tratamento de Juvenis de Meloidogyne incognita com Diferentes	;
Dosagens de Manipueira	16
3.4.1.1 Bioteste com juvenis de Meloidogyne incognita tratados com manipueira	. 17
3.4.2 Dosagem Letal Mínima	17
3.5 CONTROLE DE Meloidogyne incognita EM TOMATEIRO COM	
MANIPUEIRA EM VASOS PREVIAMENTE INFESTADO EM CASA DE	
VEGETAÇÃO	17
3.5.1 Inoculação de Tomateiro com <i>Meloidogyne incognita</i> Raça 3	18
3.5.2 Aplicação de Manipueira em Vasos com Plantas de Tomate Parasitadas	,
por Meloidogyne incognita	18
3.5.3 Avaliação	19
3.5.4 Contagem de Nematóides Extraídos de Raízes de Plantas de	
Tomate	19
3.5.5 Cálculo do Fator de Reprodução	20
3.6 APLICAÇÃO DE MANIPUEIRA A CAMPO NO CONTROLE DE Meloidogyne)
incognita	
3.6.1 Coleta de Amostras de Solo	21
3.6.2 Extração e quantificação de <i>Meloidogyne incognita</i>	21
3.6.3 Aplicação de Manipueira a Campo	21
3.6.4 Avaliação do Experimento a Campo	22
3.6.5 Variáveis Avaliados em Laboratório	22
3.6.5.1 Determinação da massa seca e altura da parte aérea das plantas	22
3.6.5.2 Número de galhas e ovos por sistema radicular de plantas de tomate	22
3.6.5.3 Avaliação de nematóides no solo	23
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MANIPUEIRA	24
4.2 EFEITO DA MANIPUEIRA NA MORTALIDADE DE Meloidogyne incognita	1
IN VITRO	28

4.3 EFEITO DA MANIPUEIRA NO CONTROLE DE Meloidogyne incognita EM	31
TOMATEIROS PLANTADOS EM SOLO PREVIAMENTE INFESTADO EM	
CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO	
4.3.1 Número de Galhas	31
4.3.2Número de Ovos de <i>Meloidogyne incognita</i> em Raízes de	
Tomateiros	34
4.3.3 Fator de Reprodução	36
4.3.4 Altura das Plantas e Comprimento de Raízes de Tomateiros Inoculados	
com Meloidogyne incognita em vasos, tratados com manipueira	36
4.4 EFEITO DA MANIPUEIRA NO CONTROLE DE M. incognita A CAMPO	38
4.4.1 Número de Galhas	38
4.4.2 Número de Ovos de Meloidogyne incognita em Raízes de Tomateiro a	
Campo Número de Ovos de Meloidogyne incognita em Raízes em	
condições decampo	41
4.4.3 Quantificação de J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cc de solo	42
4.4.4 Altura e Massa Seca da Parte Aérea de Plantas de Tomate em Campo	
naturalmente Infestado com Meloidogyne incognita	43
4.4.5 Massa de Frutos de Tomateiros Plantados em Campo Naturalmente	
Infestado com <i>Meloidogyne incognita</i> , Tratado com Manipueira	46
	49
A	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Manipueira extraída em sistema caseiro9
Figura 2.	Fórmula química da linamarina10
Figura 3.	Teste colorimétrico para a determinação do teor de cianeto em
	amostras de manipueira15
Figura 4.	Teste de in vitro com diferentes dosagens de manipueira em
	500 J2 de Meloidogyne incognita16
Figura 5.	Corte de plantas de tomate após 60 dias da inoculação de
	Meloidogyne incógnita18
Figura 6.	Experimento de campo em sistema protegido para o controle
	de Meloidogyne incognita em tomateiros com diferentes
	dosagens de manipueira
Figura 7.	Variação do pH de amostras de manipueira de fecularia e
	caseira em função do tempo de armazenamento em recipiente
	hermeticamente fechado27
Figura 8.	Tombamento causado pela queima do colo de planta de
	tomate devido a aplicação de manipueira caseira sem diluição.
	Fonte: o autor27
Figura 9.	Efeito da manipueira diluída a diferentes concentrações sobre
	o nematóide <i>M. incognita</i> raça 328
Figura 10.	Efeito da inoculação de J2 de Meloidogyne incognita raça 3,
	previamente tratados in vitro em tomateiro29
Figura 11.	Mortalidade e sobrevivência de nematóides tratados com
	nematóides e manipueira na determinação da dosagem
	mínima letal de manipueira no controle de Meloidogyne
	incognita in vitro30
Figura 12.	Número de galhas em raízes de tomateiro tratadas com
	manipueira e nematicida a diferentes concentrações31
Figura 13.	Relação entre número de galhas e doses de manipueira32

Figura 14.	Diferenças entre os tratamentos água (A) e manipueira 50%
	(B), quanto ao tamanho das galhas e volume do sistema
	radicular de tomateiros inoculados com Meloidogyne
	incognita33
Figura 15.	Relação entre médias de massa de raiz (g) e médias do
	número de galhas formadas em raízes de tomateiro
	inoculados com Meloidogyne incognita raça 334
Figura 16.	Número de ovos de Meloidogyne incognita por sistema
	radicular em raízes de tomateiro tratados com manipueira35
Figura 17.	Relação entre médias de ovos produzidos por Meloidogyne
	incognita em raízes de tomateiro frente a diferentes doses de
	manipueira35
Figura 18.	Fator de reprodução de Meloidogyne incognita em plantas de
	tomateiro sob diferentes tratamentos36
Figura 19.	Altura da parte aérea de plantas de tomate inoculadas com
	Meloidogyne incognita sob diferentes doses de
	manipueira38
Figura 20.	Comprimento de raízes de plantas de tomate inoculados com
	Meloidogyne incognita sob diferentes doses de
	manipueira38
Figura 21.	Número de galhas em raízes de tomateiro inoculadas com
	Meloidogyne incognita em condições de campo39
Figura 22.	Relação entre número de galhas em raízes de tomateiro
	inoculadas e dosagens de manipueira em condições de
	campo40
Figura 23.	Número de ovos de Meloidogyne incognita extraídos de
	raízes de tomateiro a campo sob diferentes concentrações de
	manipueira41
Figura 24.	Relação entre número de ovos de Meloidogyne incognita em
	raízes de tomateiro tratadas com manipueira42
Figura 25.	Concentração de J2 de Meloidogyne incognita por 100 cc de
	solo antes e após duas aplicações de manipueira no solo43

Figura 26.	Médias de altura da parte aérea de plantas de tomate
	tratadas com manipueira, em campo naturalmente infestado
	com Meloidogyne incognita44
Figura 27.	Médias, mínimas e máximas de temperatura ocorridas de
	maio a agosto de 2007, no Oeste Paranaense45
Figura 28.	Massa seca da parte aérea de plantas de tomate tratadas
	com manipueira em campo naturalmente infestado com
	Meloidogyne incognita46
Figura 29.	Massa total de todas as repetições dos frutos de tomateiros
	em solo naturalmente infestado com Meloidogyne incognita
	sob diferentes doses de manipueira45
Figura 30.	Frutos de tomateiro tratados com manipueira a diferentes
	concentrações, em solo naturalmente infestado com
	Meloidogyne incognita47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais fecularias encontradas no Oeste do Paraná	24
Tabela 2. Composição química da manipueira caseira extraída de quatro	o cultivares
de mandioca e de três fecularias do Oeste Paranaense	40

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

M. = Meloidogyne

cv = Cultivar

J2 = Juvenil segundo estágio

CN = Cianeto livre

HCN = Ácido cianídrico

FR = Fator de reprodução

Pi= População inicial

Pf= população final

NaOCL = Hipoclorito de sódio

DQO = Demanda química de oxigênio

DBO = Demanda biológica de oxigênio

RESUMO

A cultura do tomateiro é fortemente afetada por Meloidogyne incognita. As dificuldades de controle deste nematóide enfatizam a necessidade de obtenção de métodos alternativos de controle, os quais contribuam para a preservação do meio ambiente. Manipueira é um resíduo líquido gerado pela indústria da mandioca e encontrada em grande quantidade no Oeste do Paraná. Objetivou-se com o presente trabalho estudar a composição química da manipueira produzida na região Oeste do Paraná, bem como o seu efeito nematicida sobre *M. incognita*, parasita do tomateiro nesta região. As análises químicas foram realizadas com manipueira caseira e industrial. As amostras de manipueira industrial foram coletadas em três fecularias do Oeste Paranaense e as de manipueira caseira foram extraídas de quatro cultivares de mandioca brava. As análises químicas revelaram teores variados de macro e micronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, Fe e Mn nas amostras analisadas. O pH das amostras variou de 6,0 a 6,6, a DBO de 1.600 a 1.986 mg L⁻¹ e o teor de CN de 25 a 40 mg L⁻¹. A ação nematicida da manipueira sobre M. incognita foi testada em ensaios in vitro, em vasos em casa de vegetação e a campo. Ensaios in vitro seguiram o delineamento inteiramente casualizado com 12 repetições. Os tratamentos foram manipueira industrial 100%, e diluições em água a 75%, 50%, 25%, 15%, 10%, 8%, 6%, 4% e 2%, além da testemunha com água e o nematicida Carbofuran a 50 mg L⁻¹. Cada repetição foi constituída por um tubo eppendorf contendo 1 ml das respectivas soluções e 500 formas infestantes J2 de M. incognita raça 3. Após 24 h da montagem do experimento, procedeu-se à contagem de nematóides vivos e mortos e a inoculação em vasos contendo duas plantas de tomate Santa Cruz Kada para os tratamentos até 25% de diluição. Foram inoculados 1.500 J2/vaso em quatro repetições. As avaliações em vaso ocorreram 45 dias após a inoculação, tendo-se contado o número total de galhas por sistema radicular de tomateiro. Os resultados demonstraram que os tratamentos com manipueira até 10% de diluição foram superiores aos demais, não diferindo estatisticamente ente si e apresentando 100% de mortalidade in vitro. A suspensão nematicida mostrou-se superior à testemunha com água. Os ensaios em vasos, contendo plantas de tomate Sta Cruz Kada, previamente inoculadas com M. incognita, foram realizados com os tratamentos manipueira a 10%, 25% e 50%, além da testemunha com água e o nematicida Carbofuran 2 g por vaso. O delineamento

experimental utilizado foi inteiramente casualisado com 4 repetições. Foram analisadas variáveis como altura de plantas, massa seca da parte aérea, comprimento de raízes, número de galhas e de ovos por raiz e o fator de reprodução (FR) em vasos. Os resultados mostraram que os tratamentos com manipueira foram superiores aos demais para a maioria das variáveis avaliadas. Os melhores tratamentos em vaso para o controle de *M. incognita* foram manipueira a 10 e 25%. No entanto, manipueira a 50% foi superior aos demais como fonte nutricional. O ensaio a campo foi realizado no período de maio a agosto de 2007 em área infestada com M. incognita e cultivada com tomateiro cv. Sta Cruz Kada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições. As variáveis avaliadas a campo foram altura de plantas, massa fresca e seca da parte aérea, número galhas e ovos por raiz e peso de frutos (g). Os melhores tratamentos a campo no controle de M. incognita foram manipueira a 10 e 25%. O tratamento manipueira 50% foi o mais relevante como fonte nutricional. Em termos de produtividade a campo, não houve diferença estatística entre os tratamentos com manipueira, mas sim dos mesmos em relação à testemunha com água. Os resultados sugerem que em futuros ensaios sejam intercaladas aplicações de manipueira a 10 ou 25% com manipueira mais concentrada a 50%, com o objetivo de maximizar o efeito da mesma no controle de M. incognita em tomateiro.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*, nematóide de galhas, manipueira, controle alternativo.

ABSTRACT

Chemical composition of manipueira and its potential in the control of *Meloidogyne incognita* on tomato crop at Western Paraná.

The tomato crop is strongly affected by the root Knot nematode Meloidogyne incognita. This nematode species is widespread in the Western region of Paraná State, Brazil. The strategies currently adopted on the control of this nematode emphasize the search for alternative methods specially those that contributes to the environmental preservation. Manipueira is a waste liquid residue produced by the cassava industry and found in large amounts at Western Paraná. The aim of this work was to study the chemical composition of the manipueira produced in Western Paraná and its nematicide effect on M. incognita, parasite of tomato crop. The chemical analyses were performed with homemade manipueira and industrial manipueira. The industrial manipueira were collected from three cassava industries in the Western Paraná. The homemade manipueira were extracted from four cassava cultivars. The chemical analysis showed presence of nutrients such as N, P, K, Ca, Mg, Fe and Mn in different concentrations from samples of different sources. The pH of the samples ranged from 6.0 to 6.6, DBO from 1.600 to 1.986 mg L⁻¹ and free cyanide (CN $^{-}$) from 25 to 40 ppm. The nematicide effect of manipueira on M. incognita was tested in vitro, in pots and in the field. in vitro tests followed the completely randomized statistical design with 12 replications. The treatments were manipueira 100%, and manipueira diluted in water at 75%, 50%, 25%, 15%, 10%, 8%, 6%, 4% and 2%, besides water as the negative control and the nematicide Carbofuran 50 mg L⁻¹ as the positive control. Each replication was composed of one eppendorf containing 1 ml of each solution and 500 second stase juvenile stages (J2). After 24 hours, the living and dead nematodes were counted and inoculated on tomato plants cv. Santa Cruz Kada. In total, it was inoculated 1.500 J2/pot in four replications per treatment. The evaluation 45 days after inoculation was based on the number of galls formed per tomato. The in vitro tests showed that the manipueira treatments until 10% dilution had 100% mortality, being statistically different from the other solutions. The nematicide had a better performance than the negative water control. The essay developed in pots was carried out with the treatments manipueira

10%, 25%, 50%, water control and Carbofuran 2 g per pot. The experimental design was completely randomized with 4 replications. Tomato plants were inoculated with 5.000 J2 and rested for 60 days before starting the treatments. After adding the solutions into the pots the tomato plants were cut at the soil level, being replaced by new ones. Variables such as plant height, dry mass, root length, number of galls and eggs per root and the reproduction factor (RF) were analyzed. The results showed that the manipueira treatments had a better performance than the others considering the most of features studied. The best treatments from the pot test were manipueira 10 and 25%. However, manipueira 50% was superior to the others as a nutritional source. The field experiment with tomato plants cv. Santa Cruz Kada, was performed from May to August 2007 in an area infested with M. incognita. The experimental design was completely randomized containing 4 treatments and 4 replications. The assessed variables were plant height, dry and fresh shoot weight, number of galls and eggs per root and fruit yield (g). The best treatments against M. incognita, in the field experiment, were manipueira 10 and 25%. The treatment manipueira 50% was also the most effective in field conditions as a nutritional source. In terms of crop yield, no statistical difference was detected among the manipueira treatments, which were statistically different from the water control and the nematicide. The results suggest that manipueira at 10 or 25% should be alternated with manipueira 50% in order to maximize its effect on *M. incognita*.

Key-words: *Solanum lycopersicun*, root-knot nematodes, manipueira, alternative control.

1 INTRODUÇÃO

A região Oeste do estado do Paraná apresenta uma agricultura intensiva com destaque para culturas como soja, milho e trigo. No entanto, a produção de hortaliças nesta região, realizada principalmente por pequenos produtores, encontrase em franca expansão.

Dentre as hortaliças cultivadas no Oeste Paranaense, o tomateiro é a que apresenta os maiores problemas fitopatológicos. Dentre os patógenos que afetam a cultura do tomateiro nessa região, o nematóide *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 1949 é um dos mais importantes por reduzir a produtividade e causar perdas econômicas consideráveis. Além disso, essa espécie encontra-se amplamente disseminada no oeste paranaense, sendo também de difícil controle.

Meloidogyne incognita é um nematóide causador de sintomas variados em plantas. Na parte aérea é comum sintomas como nanismo e amarelecimento de folhas, enquanto que em raízes o sintoma mais comumente encontrado é a formação de galhas. A presença de galhas em raízes dificulta a absorção de água e nutrientes pelas plantas.

Dentre os métodos de controle recomendados para o controle de *M. incognita*, os mais comumente utilizados são a rotação de culturas, o uso de cultivares resistentes e o químico. A rotação de culturas é um dos métodos mais eficientes para a redução do nível populacional a campo. No entanto, esse método nem sempre é aceito pelos produtores por incluir espécies vegetais não economicamente viáveis. A utilização de resistência genética esbarra na disponibilidade de cultivares de tomateiro resistentes a *M. incognita* e adaptados às condições de cada região. Já o controle químico é oneroso e causa danos ao meio ambiente, contribuindo para o surgimento de populações resistentes.

Tendo em vista as dificuldades encontradas no controle de *M. incognita* em tomateiro, o estudo de métodos alternativos para aplicação em campos de produção comercial é de grande importância, para a cultura do tomateiro.

A manipueira, resíduo de indústrias de fécula de mandioca, tem sido utilizada com sucesso no controle de nematóides formadores de galha do gênero *Meloidogyne*. Estudos prévios têm mostrado que *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, espécies amplamente disseminadas no Brasil, podem ser controlados com aplicação de manipueira diluída em água a 50%.

A ação nematicida da manipueira se deve aos glicosídeos cianogênicos presentes em sua composição química, particularmente linamarina, que quando hidrolisada libera o gás cianeto, tóxico às mais variadas formas de vida.

Uma das vantagens da utilização de manipueira em agricultura é que a mesma é gerada em grande quantidade, um mínimo de 250 L por tonelada de mandioca processada, o que viabiliza a sua aplicação em campos de produção comercial em pequena ou larga escala.

Considerando o exposto acima, objetivou-se com o presente estudo comparar a composição química da manipueira extraída de diferentes cultivares de mandioca adaptadas à região Oeste do Paraná, com a manipueira produzida nas fecularias desta região. Objetivou-se ainda estudar o efeito nematicida da manipueira industrial do Oeste Paranaense, no controle do nematóide *M. incognita*, parasito do tomateiro nesta região.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO TOMATEIRO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma planta pertencente à família das solanáceas, tendo como centro de origem o continente Americano (FILGUEIRA, 2000).

O tomate é uma das hortaliças mais consumidas no mundo, sendo comercializado tanto para mesa quanto para indústria (FREITAS et al., 2001). O Brasil contribui com 3% da produção mundial de tomate, a qual é liderada pela China e Estados Unidos (CONAB, 2007). Dentre os estados produtores de tomate no Brasil, o Paraná ocupa a sexta posição com 6,2% da produção nacional (DERAL/IBGE, 2007).

São muitos os fatores limitantes à produção de tomate no Brasil, com destaque para as doenças causadas por nematóides (SILVA et al., 2004). Até então foram relatadas 43 espécies de fitonematóides associadas à cultura do tomate no Brasil (CAMPOS, 2000).

Nematóides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887 ocasionam danos à produção de tomate que variam de 28,7 a 85,0% (LORDELLO, 1981; FERRAZ & CHURATA-MASCA, 1983).

2.2 NEMATÓIDES

Os nematóides são os animais multicelulares mais numerosos da terra, sendo encontrados nos mais diferentes habitats, de desertos a oceanos e regiões quentes a frias (CUNHA, 2002).

Grande parte dos nematóides é de vida livre. No entanto, espécies parasitas de plantas são freqüentemente encontradas infectando principalmente órgãos subterrâneos (FERRAZ & MONTEIRO, 2005).

Os nematóides fitoparasitos causam enorme prejuízo à agricultura pela redução na produtividade e qualidade dos produtos, além de limitar a aptidão agrícola dos solos e aumentar os custos de produção (BARCELOS, 1997). Mundialmente são estimadas perdas na agricultura da ordem de US\$ 100 bilhões anuais devido ao ataque de nematóides (TIHOHOD, 1993).

A contaminação de áreas agrícolas por nematóides, bem como a sua disseminação para novas áreas, ocorre principalmente por água de irrigação ou de chuva, por solo aderido a máquinas agrícolas e por material propagativo infectado como mudas e sementes (AGRIOS, 1997).

A busca de novas alternativas no controle de fitonematóides em substituição aos nematicidas convencionais constitui-se uma preocupação mundial (SILVA et al., 2002). Diversas substâncias naturais, obtidas de diferentes espécies vegetais e apresentando propriedades nematicidas ou nematostáticas, têm sido isoladas e caracterizadas quimicamente, sendo que algumas têm se mostrado promissoras para aplicação a campo (GOMMERS, 1981).

Franzener et al. (2007) testaram o efeito do extrato aquoso de folhas, flores e raízes de *Tagetes patula* L. no controle de *M. incognita* em ensaios *in vitro* e em vasos. Os resultados indicaram que o extrato aquoso de flores em aplicações semanais apresentou potencial para o controle desse nematóide.

Coimbra et al. (2006), avaliaram o efeito nematicida de extratos aquosos de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), folhas e sementes de mamão (*Carica papaya* L.), folhas de hortelã (*Mentha piperita* L.) e casca de gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) sobre *Scutellonema bradys* (Steiner & Lehew) Andrassy, agente causal da casca-preta do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.). Os autores verificaram que todos os extratos vegetais inibiram a mobilidade e causaram a morte do nematóide. Os tratamentos mais eficientes foram extratos de sementes e folhas de mamoeiro e de bulbilhos de alho.

Bitencourt (1999) avaliou o efeito *in vitro* do extrato aquoso de 15 espécies vegetais sobre ovos de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, 1949, concluindo que extratos de *Datura* sp., *Datura stramonium* L. e *Tabets erecta* L. foram os mais eficientes.

2.2.1 Gênero Meloidogyne

Dentre os nematóides fitoparasitas, os pertencentes aos gêneros *Meloidogyne* Goeldi e *Heterodera* Ichinohe são os que apresentam o mais alto grau de evolução em termos de parasitismo. No geral, *Meloidogyne* spp. induzem a formação de galhas no sistema radicular das plantas parasitadas, causando redução na absorção de água e nutrientes (Moura, 1997).

Sintomas reflexos também podem ser observados na parte aérea das plantas como folha carijó, amarelecimento e queda precoce de folhas, além do abortamento de flores e frutos (ASMUS, 2001).

Dentro do ciclo de vida de *Meloidogyne*, apenas as fases de ovo, J2 e macho adulto ocorrem fora da planta hospedeira, sendo que o J2 é o responsável pela infecção primária das raízes. Uma vez no interior das raízes, os J2 migram intercelularmente até atingirem as células parenquimáticas do cilindro central da raiz, induzindo a formação de sítios de alimentação denominados de células gigantes. Nos sítios de alimentação os J2 passam por mais três ecdises que levam à formação de machos ou fêmeas. Os machos são raros já que a reprodução na maioria das espécies desse gênero é partenogenética. As fêmeas, produzem até 500 ovos, os quais são liberados juntamente com uma matriz gelatinosa na superfície ou nos tecidos da raiz sob a forma de massa e ovos.. O ciclo completo de *Meloidogyne* spp. varia de 28 a 35 dias, dependendo das condições ambientais (FERRAZ, 2001).

Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne, M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood 1949, ocorre com maior freqüência em regiões de solo arenoso, em São Paulo e no Paraná, bem como em pequenas áreas do Sul de Minas Gerais. Devido ao hábito polífago desse nematóide, mais de 1.000 espécies de plantas já foram catalogadas como hospedeiras (GODOY et al., 2005). No Oeste do Paraná essa espécie já foi relatada em 13 municípios como parasita da cultura da soja (FRANZENER, et al., 2005) e café (PORTZ et al., 2006).

O tomateiro apresenta elevada suscetibilidade a nematóides formadores de galha, sendo parasitado principalmente por *M. javanica* e *M. incognita* (CAMPOS et al., 2001).

2.2.2 Controle de Nematóides

São vários os métodos existentes e que podem ser empregados no controle de nematóides fitoparasitas. No entanto, os mais freqüentemente adotados na agricultura mundial são a rotação de culturas e a resistência genética, ambos de baixo custo e efetivos no controle de nematóides.

A resistência genética possibilita ao agricultor manter a cultura de interesse por anos consecutivos, mesmo em áreas infestadas com nematóides de galha. Porém, cultivares resistentes nem sempre estão disponíveis no mercado.

A rotação de culturas, apesar de ser um método de controle efetivo, nem sempre é empregada pelo agricultor, pois implica em mudança da cultura a ser plantada, o que muitas vezes interfere no retorno econômico.

O controle de nematóides pode ser feito também com a utilização de plantas antagônicas. Dentre as plantas antagônicas, há aquelas que liberam exsudatos radiculares com propriedades nematicidas ou nematostáticas no solo e aquelas que atuam após a penetração do parasita nas raízes, não permitindo que o mesmo complete o seu ciclo de vida ou reduzindo-lhe a capacidade reprodutiva (MACIEL & FERRAZ, 1996).

O controle químico de fitonematóides é realizado através da aplicação de nematicidas, moléculas químicas altamente tóxicas, em geral de elevado poder residual, e amplo espectro de ação. Essas moléculas podem causar a contaminação de lençóis freáticos, do solo e de alimentos, representando um grande risco para o meio ambiente. Por essas razões, os nematicidas vêm sofrendo grandes restrições de uso em muitos países, tornando-se atrativo o desenvolvimento de métodos alternativos de controle a fitonematóides (FERRAZ & VALLE, 2001).

2.3 A AGROINDÚSTRIA DA MANDIOCA (Manihot esculenta Crantz)

2.3.1 A Mandiocultura no Brasil

A mandioca caracteriza-se por ser uma planta de fácil propagação, tolerante a diferentes condições edafoclimáticas e a solos com baixa fertilidade, motivo pelo

qual é amplamente cultivada por pequenos produtores (PLUMBLY & RICKARD, 1991).

A mandioca é uma planta arbustiva de raiz tuberosa, chegando a atingir 3 m de altura e produzindo de seis a oito raízes por planta com massa média de 600 gramas. Seu ciclo vegetativo pode atingir de um a dois anos (DALLAQUA & CORAL, 2002). No Brasil, há mais de quatro mil variedades de mandioca catalogadas, demonstrando a grande variabilidade genética existente (AMARAL et al., 2007).

A mandioca pode ser industrializada para a produção de farinha, fécula (polvilho doce ou azedo) e outros amidos modificados, além de ser comercializada para consumo *in natura* ou empregada na alimentação animal (CEREDA, 2001).

Quando cultivada, a mandioca absorve grandes quantidades de nutrientes do solo, sendo necessários 123 kg de N, 27 kg de P, 146 kg de K⁺, 46 kg de Ca⁺⁺ e 20 kg de Mg⁺⁺ para a produção de uma tonelada de raízes mais parte aérea (CAIRES & CARDOSO, 2003).

O Paraná é o terceiro maior produtor brasileiro de mandioca, ficando atrás somente dos estados do Pará e Bahia (IBGE, 2007). Nesse estado, a região Oeste apresenta-se como importante pólo mandiocultor, contendo cerca de 15 indústrias de fécula de mandioca distribuídas em diferentes municípios (Tabela 1). Além disso, a região Oeste do Paraná é formada por mais de 90% de pequenas propriedades agrícolas, sendo a mandioca uma cultura sempre presente em todas as áreas de cultivo (CAIRES & CARDOSO, 2003).

Tabela 1 – Principais fecularias da região Oeste do Paraná.

Empresa	Município	Produto
Avebe	Guaíra/PR	Amido
Cassava	Entre Rios do Oeste/PR	Amido
Cassava	Maripá/PR	Amido
Cooperativa Agroindustrial Lar	Missal/PR	Amido
Empresa Amidonaria Navegantes – C-Vale	Assis Chateaubriand/PR	Amido
Fecularia Horizonte	Marechal Cândido Rondon	Amido/Fécula
Fecularia Letícia	Santa Helena/PR	Fécula
Fecularia São Carlos	Santa Helena/PR	Fécula
Fecularia Horizonte LS do Brasil	Pato Bragado/PR	Amido/Fécula
MCR Alimentos	Mercedes/PR	Amido
Nossa Senhora de Lurdes	Santa Helena/PR	Amido
Pilão Amidos	Guaíra/PR	Amido/Fécula
Poliamidos - Fecularia Assis	Guaíra/PR	Amido/Fécula
Fecularia Subida	Nova Santa Rosa/PR	Fecularia
Zadimel	Toledo/PR	Amido/Fécula

2.3.2 MANIPUEIRA

O processamento de raízes de mandioca para fins industriais gera grande quantidade de casca e água residual ou manipueira, além de farelo ou massa (TAKAHASHI, 1987).

A manipueira é um líquido de aspecto leitoso e cor amarelo—claro (Figura 1), possuindo um odor ácido forte (PONTE, 2001).

Durante o processo industrial, a mandioca é fracionada em pedaços pequenos e posteriormente ralada, fazendo com que os glicosídeos cianogênicos, encontrados no interior das células, sejam liberados na suspensão e hidrolisados. A reação de hidrólise tem como produto final à formação de cianeto e ácido cianídrico, os quais passam a fazer parte do líquido residual das fecularias. A água residual

formada é armazenada em tanques de decantação antes da sua liberação em fontes de água natural (AMARAL et al., 2007).



Figura 1. Manipueira extraída em sistema caseiro. Fonte: Agrofloresta.net –2007.

Os problemas ambientais causados pela disposição inadequada de manipueira estão relacionados à sua composição química e ao grande volume de resíduo líquido gerado (CEREDA, 2001). A toxidez por cianeto para peixes foi estimada em 0,025 mg L⁻¹, sendo que os limites estabelecidos em água para consumo humano são de 0,01 mg L⁻¹, expressos em CN⁻ (FIORETTO, 2001). Em manipueira de fecularias já foram encontrados teores de CN⁻ de 27 a 42 mg L⁻¹ (PONTE, 2001; CEREDA, 2001).

Um outro fator de contaminação ambiental é a Demanda Química de Oxigênio (DQO) e a Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) de resíduos liberados em fontes de água. O valor médio da DBO encontrada em manipueira varia de 14.000 mg L⁻¹ até 34.000 mg L⁻¹ (FIORETTO, 1987). Quando se compara a DBO de dejetos orgânicos gerados pela agroindústria da mandioca, com a contribuição normal "per capita" de esgotos domésticos, uma fecularia que processe individualmente uma tonelada de raízes por dia equivale à poluição ocasionada por 150 a 250 hab/dia (CEREDA, 2001).

2.3.2.1 Composição Química

A composição química da manipueira é variável, dependendo de fatores como variedade de mandioca processada e das condições edafo-climáticas do local onde foi cultivada (FIORETTO, 2001). Dados da literatura são bastante contrastantes no que se refere à composição química desse resíduo (CAGNON et al., 2002).

No geral, a manipueira é composta por teores variados de macro e micronutrientes e glicosídeos cianogênicos (FIORETTO, 1994). Segundo Cereda & Fioretto (1981), foram detectados em manipueira teores de fósforo de 219 mg L⁻¹, potássio 1.675 mg L⁻¹, cálcio 225 mg L⁻¹ e magnésio 366 mg L⁻¹, além de micronutrientes essenciais, viabilizando a sua utilização como fonte nutricional às plantas.

Os glicosídeos cianogênicos têm efeito sobre diferentes tipos de microorganismos, incluindo os nematóides (Ponte, 2001). Como exemplo de glicosídeos pode-se citar a lotaustralina, o β -glicosídeo de acetonacianidrina, a linamarina e o β -glicosídeo de etil-metil-cetona-cianidrina, detes a linamarina é a mais abundante (92 a 98%) (Figura 2) (CUZIN & LABAT, 1992).

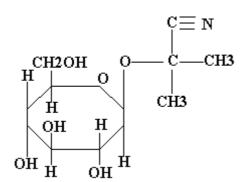


Figura 2. Fórmula química da linamarina. Fonte: Cereda & Mattos (1996).

A hidrólise de glicosídeos (açúcares) é conhecida como cianogênese. A cianogênese é ativada pela ação de enzimas conhecidas como β-glicosidases, com destaque para a linamarase que realiza a hidrólise da linamarina (PANTAROTO & CEREDA, 2001).

O processo de cianogênese leva à formação de glicose e α-hidroxinitrila, esta última transformando-se em ácido cianídrico (HCN) e CN⁻ pela ação da enzima hidroxinitrila liase em pH 5,0 a 6,0 e temperatura de 25 a 30°C (PANTAROTO & CEREDA, 2001).

A função biológica mais atribuída à cianogênese em plantas é a de proteção contra animais e microroganismos, pois as substâncias tóxicas (HCN e CN⁻) são formadas somente após a ocorrência de injúrias em tecidos vegetais (KAKES, 1990; NAHRSTEDT, 1985). No entanto, a presença constitutiva de glicosídeos cianogênicos em plantas pode estar relacionada com o metabolismo de nitrogênio, sendo estes responsáveis pela armazenagem de nitrogênio em sua forma reduzida (SELMAR et al., 1990).

O cianeto livre (CN⁻) e o ácido cianídrico (HCN) são os constituintes tóxicos da manipueira. O cianeto é uma das substâncias mais letais já descobertas, atuando nas células nervosas individualmente ou reagindo com a hemoglobina dos glóbulos vermelhos e formando a cianohemoglobina, a qual paralisa a cadeia respiratória. A nível bioquímico o cianeto reage com metais pesados e grupos funcionais ou ligantes de muitas enzimas (MCMAHON et al., 1995). Já o ácido cianídrico interfere nas atividades enzimáticas em geral (FIORETTO & BRINHOLI, 1985).

A concentração de glicosídeos cianogênicos e ácido cianídrico varia de acordo com a idade das plantas, variedade cultivada, com o tipo de tecido vegetal e fatores ambientais como clima, solo, umidade e temperatura (CEREDA, 2001). Cultivares com teor de ácido cianídrico inferior a 50 mg de HCN Kg⁻¹ são consideradas mansas, sendo que aquelas com teores acima de 50 e abaixo de 100 mg de HCN Kg⁻¹ são tidas como moderadas. As cultivares bravas apresentam teores acima de 100 mg de HCN Kg⁻¹ (CARVALHO, 1992).

2.3.2.2 Utilização de manipueira no controle de fitopatógenos

A utilização da manipueira como fungicida foi testada por Freire (2001) no controle de oídio em frutos de cerigüeleira. O efeito da manipueira sobre as estruturas do patógeno foi comprovado pela visualização em microscópio ótico de conídios e conidióforos deformados, indicando a ocorrência de uma forte ação plasmolítica.

Testes com manipueira objetivando o controle de nematóides no Brasil, particularmente *M. incognita* e *M. javanica*, têm sido realizados com sucesso (PONTE & FRANCO, 1981; PONTE et al., 1987; SENA & PONTE, 1992; PONTE et al., 1996).

Almeida et al. (2007), avaliaram o efeito de manipueira na germinação de túberas de inhame infectadas com *Scutellonema bradys*, tratadas em diferentes períodos de imersão. Apesar do controle do nematóide em todos os tratamentos, houve efeito fitotóxico às túberas tratadas com manipueira em diferentes concentrações, as quais apresentaram um índice de germinação reduzido.

Nasu et al. (2007) em estudo preliminar, testaram manipueira de fecularia no controle de *Meloidogyne incognita in vitro*, nas concentrações 25%, 50%, 75% e 100%, alcançando 100% de mortalidade para todos os tratamentos. Ensaio similar foi realizado por Grabowski et al. (2007) no controle do nematóide *Tubixaba tuxaua in vitro* com 100% de controle, tendo utilizado as mesmas concentrações citadas por Nasu et al. (2007).

No caso específico da manipueira, fatores como dosagens a serem aplicadas e seus efeitos sobre diferentes patossistemas, bem como a estimativa da concentração mínima letal de cianeto a nematóides e microrganismos ainda não foram determinados (GRABOWSKI, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.COLETA E EXTRAÇÃO DE MANIPUEIRA

Para este estudo foram utilizadas sete amostras de manipueira, sendo três industriais e quatro caseiras. A manipueira industrial foi coletada nas seguintes fecularias: Fecularia Horizonte, localizada no distrito de Novo Três Passos, município de Marechal Cândido Rondon/PR, MCR-Alimentos, localizada no município de Mercedes/PR e C-Vale, localizada no município de Assis Chateaubriand/PR.

As outras quatro amostras de manipueira foram extraídas manualmente de raízes de mandioca das cultivares Olho Junto, Bananinha, Fécula Branca e IAPAR 5017 obtidos na estação experimental da ATIMOP (Associação Técnica das Indústrias de Mandioca do Paraná), localizada no distrito de Porto Mendes, em Marechal Cândido Rondon/PR.

A coleta de manipueira industrial foi realizada antes da liberação da mesma em lagoas de decantação. A extração de manipueira caseira foi realizada no Laboratório de Nematologia da Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon/PR. Para tal, as raízes de mandioca foram lavadas, descascadas, raladas e, em seguida, prensadas. A manipueira extraída foi deixada em repouso por 10 minutos para a decantação do amido e resíduos sólidos presentes (FERREIRA et al., 2001). As amostras coletadas foram armazenadas e acondicionadas em recipientes plásticos hermeticamente fechados.

3.2 ANÁLISE QUÍMICA DA MANIPUEIRA

3.2.1 Análise Química da Manipueira Industrial e Caseira

Uma vez coletadas, as amostras de manipueira foram encaminhadas ao Laboratório de Química Agrícola e Ambiental da Unioeste para análise de macro e micronutrientes e demanda química de oxigênio (DQO). Os valores de pH e estimativa dos teores de cianeto foram obtidos logo após a coleta das amostras.

Para a determinação da concentração de nutrientes nas amostras de manipueira, seguiu-se a metodologia empregada por Tedesco et al. (1995) com digestão nitro-perclórica para potássio, cálcio, magnésio, manganês e ferro. O nitrogênio foi determinado pelo método de destilação Kjeldahl, enquanto o fósforo foi determinado por espectroscopia UV-Visível, com comprimento de onda de 630 nm, segundo o Método Metavanadato de amônio. As leituras foram realizadas por espectrometria de absorção atômica, modalidade chama.

Os teores de cianeto foram estimados pelo teste colorimétrico Microquant (Merck) (Figura 3), com sensibilidade para a detecção de até 5 mg L⁻¹ de cianeto livre (CN⁻) em água. Foram utilizadas alíquotas de 6 mL de manipueira diluída 1:200 em água para a leitura dos valores de cianeto (mg L⁻¹) de cada amostra analisada. A coloração formada em cada reação foi comparada com um padrão previamente estabelecido pelo fabricante. A determinação da DQO foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Silva (1998).

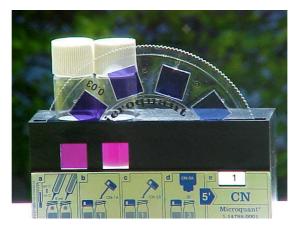


Figura 3 – Teste colorimétrico para a determinação da concentração de cianeto em amostras de manipueira. Fonte: o autor

3.3 CONTROLE DE Meloidogyne incognita COM MANIPUEIRA

A manipueira utilizada para os testes *in vitro*, em vasos e a campo, no controle de *M. incognita*, foi coletada da Fecularia Horizonte (Tabela 1). A manipueira coletada foi depositada em recipientes de plástico hermeticamente fechados, com capacidade para 2 L, tendo sido imediatamente utilizada ou, se necessário, mantida a 4° C por 24 a 48 h. O teor de cianeto das amostras foi estimado antes do início de cada experimento, tendo-se detectado um mínimo de 25 e um máximo de 40 mg L⁻¹ de CN⁻.

3.3.1 Manutenção de populações de *Meloidogyne incognita* raça 3

Para os ensaios *in vitro* e vaso foram utilizadas misturas de populações monoespecíficas de *M. incognita* raça 3 do Oeste do Paraná, previamente estabelecidas por PIRES (2007). As populações foram mantidas em vasos contendo plantas de tomate Santa Cruz Kada a temperatura ambiente.

3.4 CONTROLE IN VITRO DE Meloidogyne incognita raça 3 COM MANIPUEIRA

3.4.1 Tratamento de Juvenis de *Meloidogyne incognita* com Diferentes Dosagens de Manipueira

Os ensaios *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Nematologia da Unioeste, seguindo-se o delineamento inteiramente casualisado com seis tratamentos e doze repetições. Os tratamentos utilizados foram manipueira diluída em água a 25%, 50%, 75% e 100%, além de água destilada (testemunha positiva) e o nematicida Carbofuran a 50 mg i.a. L⁻¹ (testemunha negativa).

Os testes foram realizados em eppendorf contendo 1 mL de solução e 500 nematóides juvenis (J2) por repetição (Figura 4). Os eppendorfs foram deixados a temperatura ambiente por 24 h. Ao todo foram avaliados 6.000 nematóides por tratamento. Após as 24 h, procedeu-se à contagem de nematóides vivos e mortos. Foram considerados vivos aqueles nematóides que apresentaram mobilidade natural e mantiveram a sua forma original e mortos àqueles imóveis, deformados ou que apresentavam aspecto incomum.



Figura 4. Teste *in vitro* com diferentes dosagens de manipueira em 500 J2 de *Meloidogyne incognita*. Fonte: o autor

3.4.1.1 Bioteste com juvenis de *Meloidogyne incognita* tratados com manipueira

O bioteste foi realizado com o objetivo de se avaliar a capacidade infectiva dos J2 tratados previamente *in vitro* com manipueira. Após a avaliação *in vitro*, as doze repetições de cada tratamento foram agrupadas, formando apenas 4 repetições por tratamento. Sendo assim, o conteúdo de três eppendorfs, ou seja, 1.500 J2, foi transferido para vasos individuais contendo uma planta de tomate Santa Cruz Kada com quatro folhas definitivas.

As avaliações em vasos ocorreram aos 45 dias após a inoculação, tendo-se avaliado o número total de galhas. A contagem do número de galhas foi realizada utilizando-se um microscópio esteroscópio com fonte de luz acessória. Os dados obtidos para número de galhas foram transformados para $\sqrt{(X+1)}$.

3.4.2 Dosagem Letal Mínima

Os ensaios com vistas à determinação da dosagem letal mínima de manipueira foram conduzidos no Laboratório de Nematologia da Unioeste, tendo-se utilizado o delineamento experimental inteiramente casualisado com oito tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram, manipueira diluída em água a 2%, 4%, 6%, 8%, 10% e 15%, além de água destilada (testemunha positiva) e o nematicida Carbofuran a 50 mg i.a. L⁻¹ (testemunha negativa). Os testes foram realizados conforme o item 3.3.1. Neste ensaio não houve inoculação em vasos.

3.5 CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM TOMATEIRO COM MANIPUEIRA EM VASOS PREVIAMENTE INFESTADOS EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

Os experimentos com inoculação prévia de *M. incognita* foram conduzidos em casa-de-vegetação com temperatura de 25° C, seguindo-se o delineamento experimental inteiramente casualisado com cinco repetições por tratamento.

3.5.1 Inoculação de Tomateiro com *Meloidogyne incognita* raça 3

Tomate Santa Cruz Kada foi semeado em bandejas com substrato estéril. Plantas com duas folhas definitivas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade para 1,5 Kg de substrato solo e areia estéril na proporção 1:1, contendo solo previamente esterilizado com Brometo de Metila. Foram transferidos 5000 ovos e juvenis de *M. incognita* raça 3 para cada vaso contendo uma planta de tomate com duas folhas definitivas. Os vasos infestados foram mantidos em casade-vegetação por sessenta dias para a multiplicação de *M. incognita*.

3.5.2 Aplicação de Manipueira em Vasos com Plantas de Tomate Parasitadas por *Meloidogyne incognita*

Ao final dos sessenta dias da inoculação, a parte aérea das plantas de tomate foi cortada (Figura 5), deixando-se apenas as raízes infectadas no solo. Em seguida, os vasos receberam os tratamentos com manipueira diluída em água a 10%, 25% e 50%, além de água destilada (testemunha positiva) e o nematicida Carbofuran 2g por vaso (testemunha negativa). Incorporou-se um total de 200 mL de líquido por vaso.



Figura 5. Corte de plantas de tomate após 60 dias da inoculação com *Meloidogyne incognita* Fonte: o autor.

Após o corte da parte aérea das plantas e aplicação dos tratamentos, os vasos permaneceram em repouso por quatro dias com o posterior transplantio de uma planta de tomate Santa Cruz Kada para cada vaso.

3.5.3 Avaliação

Sessenta dias após o transplantio de plantas de tomate para os vasos tratados, os tomateiros foram extraídos e analisados quanto as seguintes variáveis: altura da parte aérea, comprimento de raiz, massa fresca da parte aérea e contagem do número total de galhas, do número de ovos por sistema radicular e fator de reprodução. A contagem do número de galhas foi realizada utilizando-se um microscópio esteroscópio com fonte de luz acessória e o número de ovos estimado em microscópio ótico com o auxílio de uma lâmina de Peters.

3.5.4 Contagem de Nematóides Extraídos de Raízes de Plantas de Tomate

Raízes de tomateiro foram seccionadas em pedaços pequenos e trituradas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCI) a 0,5% em liquidificador a baixa rotação por 30 segundos. O produto da trituração foi passado em um conjunto de peneiras de 48 e 400 Mesh. O conteúdo da peneira de 400 Mesh foi depositado em tubos de centrífuga e centrifugado a 3000 rpm/5 minutos e o sobrenadante descartado. Solução de sacarose 1,15 g L^{-1} foi adicionada aos tubos e a suspensão homogeneizada. Os tubos foram então centrifugados a 2000 rpm/1 minuto e o sobrenadante passado em peneira de 400 Mesh sendo recolhido em béquer para contagem de juvenis e ovos. O volume do béquer foi ajustado para 100 mL, sendo o número de ovos e J2 quantificados em lâmina de Peters com o auxílio de um microscópio ótico. Os dados obtidos para número de galhas e ovos foram transformados para $\sqrt{(X+1)}$.

3.5.5 Cálculo do Fator de Reprodução

O fator de reprodução em vasos foi calculado pela fórmula: FR= Pf/Pi, onde Pf (população final) e Pi (população inicial).

3.6 APLICAÇÃO DE MANIPUEIRA A CAMPO NO CONTROLE DE *Meloidogyne* incognita

O experimento a campo foi conduzido em uma área de produção comercial de tomate, cultivado em sistema protegido e infestada com *M. incognita*. A área experimental utilizada localiza-se entre os distritos de Novo Horizonte e Bela Vista município de Marechal Cândido Rondon, Oeste do Paraná. O ensaio foi realizado no período de maio a setembro de 2007.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualisado com quatro tratamentos e 3 repetições, com 6 plantas/parcela da cv. Santa Cruz Kada. Os tratamentos foram manipueira diluída em água a 10%, 25% e 50% e testemunha positiva água. O tratamento nematicida não foi utilizado por se tratar de produtor orgânico.

A unidade experimental abrangeu uma área de 3 X 6 m (18 m²) com parcelas distribuídas ao acaso e espaçamento entre plantas de 30 X 80 cm (Figura 6).



Figura 6. Experimento de campo em sistema protegido para o controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiros com diferentes dosagens de manipueira. Fonte: o autor.

3.6.1 Coleta de Amostras de Solo

Por ocasião da implantação do experimento (maio de 2007) foram coletadas amostras de solo em três diferentes pontos de cada uma das parcelas, com o objetivo de quantificar a população de *M. incognita* presente no solo. Este procedimento foi repetido em setembro de 2007 por ocasião da avaliação final.

3.6.2 Extração e Quantificação de *Meloidogyne incognita*

Amostras de 100 cc de solo foram homogeneizadas com água em recipiente plástico com capacidade para 10 L. A suspensão foi passada em um conjunto de peneiras de 48 sobre 400 mesh e o conteúdo da peneira de 400 recolhido em béquer com o auxílio de um pissete com água. O conteúdo do béquer foi depositado em tubos de centrífuga, centrifugado a 3.000 rpm/5min. e o líquido sobrenadante descartado. Após, o precipitado foi homogeneizado em solução de sacarose (densidade 1,15), centrifugado a 2.000 rpm/1 min. e o sobrenadante passado em peneira de 400 mesh, sendo posteriormente recolhido em béquer com o auxílio de um pissete com água. O volume do béquer foi ajustado para 100 mL e os J2 estimados em 1 mL da suspensão por contagem em lâmina de Peters com o auxílio de um microscópio ótico.

3.6.3 Aplicação de Manipueira a Campo

Foram aplicados 4L m⁻² de solução líquida (manipueira diluída em água e água) por repetição, de acordo com Franco et al. (1990). Sete dias após a primeira aplicação foi realizado o transplantio das mudas de tomate contendo cinco folhas definitivas. Foram realizadas duas aplicações de manipueira a campo, sendo a segunda 30 dias após a primeira.

3.6.4 Avaliação do Experimento a Campo

A avaliação a campo foi iniciada por ocasião da colheita, tendo sido realizadas quatro colheitas semanais ao longo do ciclo da cultura do tomateiro. Após cada colheita foi computado o número total de frutos e a produção em gramas por planta.

Ao final da quarta e última colheita, além da contagem e pesagem dos frutos, foram avaliados as seguintes variáveis: altura da parte aérea das plantas, massa seca da parte aérea, número total de galhas por sistema radicular e número de ovos por sistema radicular.

3.6.5 Variáveis Avaliadas em Laboratório

3.6.5.1 Determinação da altura e massa seca de plantas

O sistema radicular e a parte aérea das plantas de tomate foram coletados e encaminhados ao Laboratório de Nematologia da Unioeste. Para o comprimento da parte aérea foram consideradas medidas a partir da região do colo das plantas. Para dados de massa seca, a parte aérea das plantas foi depositada em estufa a 60 °C até massa constante com posterior pesagem em balança analítica.

3.6.5.2 Número de galhas e ovos por sistema radicular de plantas de tomate

O número total de galhas por raiz de tomateiro foi obtido pela contagem em microscópio estereoscópio com luz acessória. Para a estimativa do número de ovos por sistema radicular, utilizou-se a mesma metodologia adotada no item 3.4.4.

3.6.5.3 Avaliação de nematóides do solo

A extração de J2 de *M. incognita* presentes em amostras de solo foi realizada de acordo com o item 3.6.2. A quantificação dos J2 presentes nas amostras foi realizada em lâmina de Peters.

3.7 ANALISE ESTATÍSTICA

O programa SISVAR foi utilizado para as análises estatísticas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Ensaios envolvendo dosagens foram submetidos a análises de correlação e regressão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MANIPUEIRA

Os teores de macro e micronutrientes, além de valores de pH, cianeto livre (CN⁻) e DBO, variaram de acordo com a amostra analisada. Foram detectadas diferentes concentrações de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), além dos micronutrientes ferro (Fe) e manganês (Mn) (Tabela 2). Dados da literatura apontam para variações nas concentrações de macro e micronutrientes em manipueira de diferentes fontes (FIORETO & BRINHOLI, 1985; FIORETTO, 2001).

Na manipueira caseira, os macro e micronutrientes detectados em ordem decrescente de concentração foram potássio, cálcio, magnésio, nitrogênio, fósforo, ferro e manganês. Na manipueira de fecularias, em ordem decrescente de concentração, foram detectados cálcio, nitrogênio, magnésio, potássio, fósforo, ferro e manganês (Tabela 2).

Leonel & Cereda (1995) detectaram em manipueira de fecularia, em ordem decrescente de concentração, os macronutrientes K, N, P, Mg, Ca e S, além dos micronutrientes Fe, Mn, Zn e Cu.

Com exceção de N e F, a manipueira coletada em fecularias apresentou menores teores de macro e micronutrientes que a manipueira caseira. Segundo Pantaroto & Cereda (2001), lavagens sucessivas durante o processamento da mandioca em sistema industrial, aliada à mistura de raízes de diferentes cultivares e de origens distintas, favorecem as constantes oscilações nos teores de nutrientes encontrados na manipueira de indústria.

Alguns macro e micronutrientes apresentaram grandes diferenças de concentração entre cultivares. Como exemplo pode-se citar o teor de fósforo da cultivar IAPAR 501 (90 mg L⁻¹), o qual foi inferior ao detectado para a cultivar Olho Junto (380 mg L⁻¹) (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química de manipueira caseira extraída de quatro cultivares de mandioca e de três fecularias do Oeste Paranaense.

		CASEIRA			INDUSTRIAL			
Elemento	Unidade	Olho junto	Bananinha	Fécula branca	IAPAR 501	Fecularia 1**	Fecularia 2	Fecularia 3
Nitrogênio	mg L ⁻¹	880	880	880	880	860	850	ND*
Fósforo	mg L ⁻¹	380	180	170	90	290	450	ND*
Potássio	mg L ⁻¹	3900	6120	5250	470	340	380	400
Cálcio	mg L ⁻¹	2030	4220	4300	4320	950	250	3100
Magnésio	mg L ⁻¹	570	1570	1470	1420	480	200	700
Manganês	mg L ⁻¹	2,00	6,00	4,00	2,50	1,00	ND*	2.5
Ferro	mg L ⁻¹	93,00	50,00	83,00	25,00	20,00	24,00	2.5
Cianeto livre (CN ⁻)	mg L ⁻¹	40	26	40	26	40	40	26
рН		6,24	6,18	6,30	6,36	6,0	6,60	6,10
DQO	mg L ⁻¹	1, 776	1, 982	1, 986	1, 986	1, 638	1, 600	1, 705

^{*}Não detectado

^{**}Fecularia 1: Fecularia Horizonte

Segundo Fioretto (2001) há predominância de potássio entre os constituintes minerais da manipueira, sendo que a mesma também apresenta teores consideráveis de fósforo, o que habilita a utilização deste resíduo como fertilizante. Segundo o mesmo autor, os teores de fósforo presentes na manipueira são superiores aos encontrados na vinhaça da cana-de-açúcar, a qual é utilizada em fertirrigação, contribuindo para a reciclagem de nutrientes do solo. Aragão & Ponte (1995) também recomendaram a utilização de manipueira na agricultura sob a forma de fertirrigação ou como adubo líquido via solo.

Vietes & Brinholi (1994), utilizando manipueira nas dosagens de 60 e 120 m³ ha⁻¹, associada à adubação mineral na cultura da mandioca, verificaram um aumento no comprimento e diâmetro das raízes e na produtividade. Para Cardoso (2005), o aumento da produtividade e do acúmulo de massa vegetal em milho tratado com manipueira é devido principalmente às elevadas concentrações de fósforo e potássio presentes nesse resíduo.

A DBO encontrada nas amostras analisadas variou entre 1.600 e 1.986 mg L⁻¹, valores considerados baixos frente à DBO presente em manipueira armazenada em piscinas de decantação, a qual chega a atingir 4.000 mg L⁻¹ em lagoas não tratadas (CAMPOS et al., 2006). De acordo com Ferreira et al. (2001), a DBO presente em manipueira armazenada em tanques de decantação pode variar de 14.000 a 34.000 mg L⁻¹. Portanto, a baixa DBO detectada em manipueira fresca quando comparada à depositada em piscinas de decantação é mais um fator positivo para sua pronta aplicação na agricultura.

Os valores de pH encontrados nas amostras analisadas foram superiores a 6,0, embora o armazenamento das amostras por até 96 h tenha causado redução nos valores de pH a níveis inferiores a 5,0 (Figura 7). Resultados similares foram encontrados por Ferreira et al. (2001), os quais analisaram manipueira fresca extraída de cultivar de mandioca branca e amarela, tendo encontrado pH 6,30 para mandioca branca e pH 6,15 para amarela. No entanto, o armazenamento da manipueira por 48 h reduziu o pH das amostras para 3,97 e 3,46, atingindo a estabilidade a 3,83 e 3,40, respectivamente após 78 h.

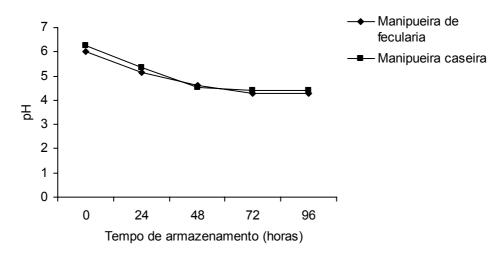


Figura 7. Variação do pH de amostras de manipueira de fecularia e caseira em função do tempo de armazenamento em recipiente hermeticamente fechado.

Cereda (2001), analisando água residual de fecularias, encontrou valores de pH que variaram de 3,90 a 4,60. Geralmente a manipueira coletada em lagoas de decantação apresenta valores de pH bem inferiores aos encontrados em amostras frescas, coletadas antes da liberação para as lagoas (FIORETTO, 1994 e FIORETTO & BRINHOLI,1985). No entanto, manipueira fresca tende a apresentar teores mais elevados de HCN e CN⁻, podendo causar fitotoxidez às plantas caso seja aplicada sem diluição (Figura 8).



Figura 8. Tombamento causado pela queima do colo de planta de tomate devido à aplicação de manipueira caseira sem diluição. Fonte: o autor.

Os teores de CN⁻ determinados neste trabalho variaram de 25 a 40 mg L⁻¹, tanto para manipueira caseira quanto para manipueira industrial (Tabela 2). Segundo Ponte (1992), teores de cianeto total (HCN + CN⁻) em 20 amostras de manipueira analisadas apresentaram média de 604 mg L⁻¹, enquanto que os teores de cianeto livre (CN⁻) atingiram 42,5 mg L⁻¹. Já Cereda (2001), citou valores de cianeto livre em manipueira de fecularia variando de 22 a 27,1 mg L⁻¹, sendo que Takahashi & Cereda (1986) citaram valores de cianeto livre de 46 mg L⁻¹, obtidos de manipueira industrial voltada à produção de farinha.

4.2 EFEITO DA MANIPUEIRA NA MORTALIDADE DE *Meloidogyne incognita IN VITRO*

De acordo com a Figura 9, os tratamentos com manipueira, partindo-se de 40 mg L⁻¹ de CN⁻ em manipueira 100%, foram efetivos no controle de *M. incognita* raça 3, causando a morte de 100% dos J2 tratados, mas não diferindo estatisticamente entre si nas concentrações 25, 50, 75 e 100%, mas sendo superiores à testemunha positiva (água) e à testemunha negativa (nematicida).

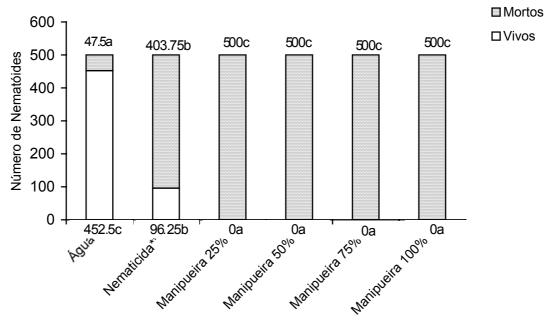


Figura 9. Efeito de manipueira diluída a diferentes concentrações sobre o nematóide *Meloidogyne incognita* raça 3. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{**}Nematicida - Carbofuran a 50 mg i.a. L-1

O tratamento nematicida Carbofuran a 50 mg i.a. L⁻¹ foi estatisticamente superior ao tratamento com água, levando à morte 81% dos nematóides, enquanto que a testemunha água apresentou 91% de sobreviventes. O índice de mortalidade de 9% em água ocorreu provavelmente devido à inviabilidade de alguns nematóides.

O bioteste realizado confirmou os resultados obtidos *in vitro* com 100% de controle para os tratamentos com manipueira, não tendo sido encontradas galhas em tomateiros inoculados. O tratamento nematicida foi superior apenas à testemunha água, tendo apresentado poucas galhas por sistema radicular, enquanto a testemunha apresentou um elevado número de galhas (Figura 10).

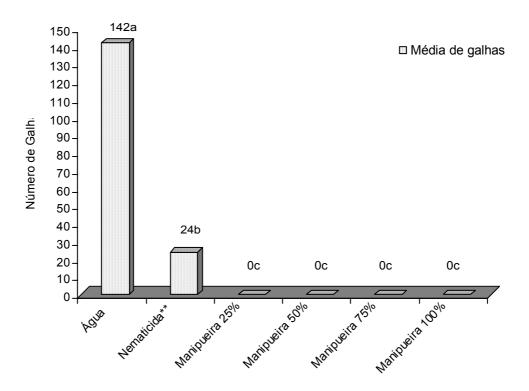


Figura 10. Efeito da inoculação de J2 de *Meloidogyne incognita* raça 3, previamente tratados *in vitro*, em tomateiro. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. **Nematicida - Carbofuran a 50 mg i.a. L⁻¹

Com relação à dosagem mínima letal *in vitro* (Figura 11), observou-se que diluições até 10%, partindo-se de uma concentração de cianeto de 40 ppm, foram efetivas na mortalidade de 100% dos J2 testados. Porém, em diluições maiores

como a 8% houve a morte de apenas 41,5% dos J2, sendo que em dosagens mais baixas (6, 4 e 2%) a percentagem de nematóides vivos e mortos não diferiu da testemunha água.

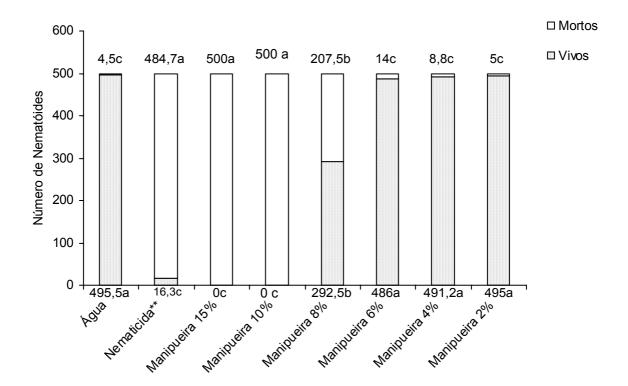


Figura 11. Mortalidade e sobrevivência de nematóides tratados com nematóides e manipueira na determinação da dosagem mínima letal de manipueira no controle de *Meloidogyne incognita in vitro*. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. **Nematicida - Carbofuran a 50 mg i.a. L⁻¹.

Testes *in vitro* são de fundamental importância no estudo da ação de compostos ou moléculas químicas sobre nematóides ou microorganismos em geral, auxiliando na seleção das dosagens a serem aplicadas em vasos e a campo.

Os resultados obtidos para *M. incognita* raça 3 nos ensaios *in vitro* estão de acordo com os encontrados por Grabowski et al. (2007) para o controle *in vitro* de *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello, que apresentou 100% de mortalidade nas

dosagens de 100, 75, 50, 25, 10 e 8% de manipueira, tendo-se partido de uma concentração inicial de cianeto de 40 mg L⁻¹.

Alves et al. (2006) utilizando manipueira nas concentrações de 100, 80, 60, 40, 20 e 0% em ensaios *in vitro*, no controle do nematóide *Scutellonema bradys,* constataram que após 48 horas os tratamentos com manipueira, em dosagem igual ou superior a 40%, proporcionaram 100% de mortalidade. Desta forma, mesmo manipueira a 20% teve um desempenho superior à dosagem nematicida testada.

4.3 EFEITO DE MANIPUEIRA NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM TOMATEIROS PLANTADOS EM SOLO PREVIAMENTE INFESTADO EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

4.3.1 Número de Galhas

De acordo com a Figura 12, os tratamentos com manipueira 10%, manipueira 25% e o nematicida Carbofuran apresentaram resultados semelhantes, não diferindo estatisticamente entre si, mas sim da testemunha e do tratamento manipueira 50%.

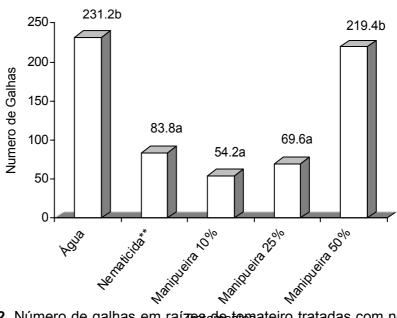


Figura 12. Número de galhas em raízea de temateiro tratadas com nematicida e com manipueira em diferentes concentrações. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** Carbofuran 2 g por vaso.

Entre os tratamentos com manipueira, ocorreu aumento do número de galhas com o aumento da concentração de manipueira utilizada, sendo que o tratamento com manipueira a 50% não diferiu estatisticamente do controle água (Figuras 12 e 13). No entanto, as galhas formadas em raízes de tomateiro com aplicação de manipueira a 50% foram inferiores em tamanho às encontradas na testemunha com água. Além disso, tratamentos com manipueira proporcionaram aumento de massa radicular das plantas em relação à testemunha água, sendo que o maior acúmulo de massa radicular ocorreu com o tratamento manipueira 50% (Figura 14).

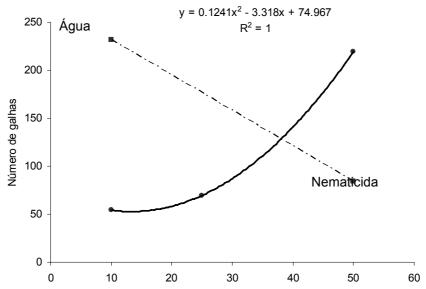


Figura 13. Relação entre números galhas e doses de manipueira.

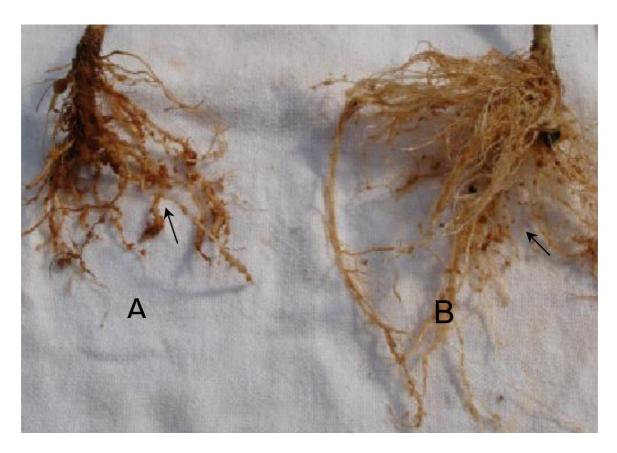


Figura 14. Diferenças entre os tratamentos água (A) e manipueira 50% (B), quanto ao tamanho das galhas e volume do sistema radicular de tomateiros inoculados com *Meloidogyne incognita*. Fonte: o autor

O aumento do volume do sistema radicular de plantas de tomateiro tratadas com concentrações maiores de manipueira pode ser explicado pela maior concentração de nutrientes disponibilizada às plantas, favorecendo a formação de raízes secundárias, o que contribuiu para um melhor desenvolvimento do sistema radicular e uma maior infecção e formação de galhas (Figura 15).

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

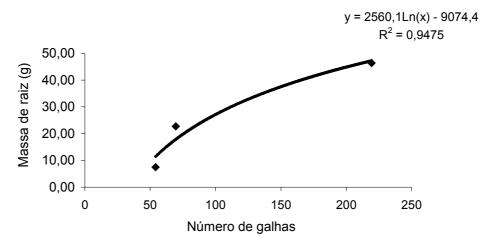


Figura 15. Relação entre médias de massa fresca de raiz (g) e médias do número de galhas formadas em raízes de tomateiro inoculadas com *Meloidogyne incognita* raça 3.

4.3.2 Número de Ovos de *Meloidogyne incognita* em Raízes de Tomateiro

De acordo com a Figura 16, todos os tratamentos diferiram estatisticamente do controle com água, o qual apresentou o maior número de ovos por sistema radicular. Os tratamentos manipueira 50%, 10% e nematicida não diferiram estatisticamente entre si. O menor número de ovos por sistema radicular foi obtido em manipueira 25% com 85% menos ovos que a testemunha água, sendo que os tratamentos a 25 e 10% não diferiram estatisticamente ente si. Menor número de ovos por sistema radicular foi encontrado em dosagens menores que 50% de manipueira (Figura 17). A redução do número de ovos de *M. incognita* por raiz de tomateiro em concentrações menores de manipueira pode estar relacionada ao menor desenvolvimento do sistema radicular ou à maior facilidade de penetração da manipueira em solos argilosos, havendo uma maior interação do CN⁻ com formas J2 no solo.

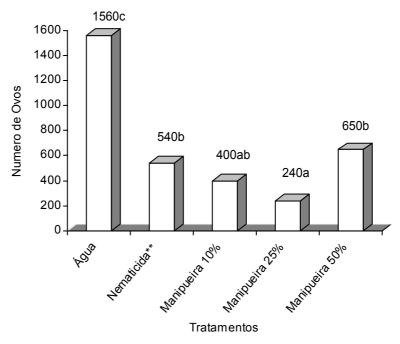


Figura 16. Número de ovos de *Meloidogyne incognita* por sistema radicular em raízes de tomateiro tratados com manipueira. **Nematicida - Carbofuran 2 g por vaso.

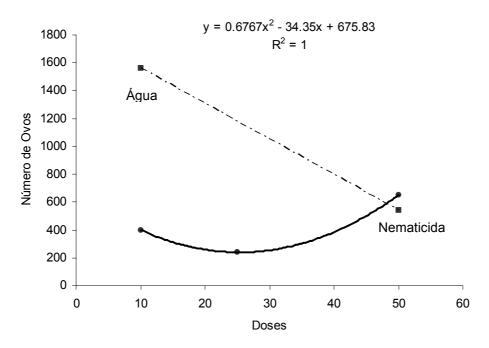


Figura 17. Relação entre médias de ovos produzidos por *Meloidogyne incognita* por raiz de tomateiro frente a diferentes doses de manipueira.

4.3.3 Fator de Reprodução (FR)

Dentre os tratamentos, manipueira 25% foi o que obteve o menor fator de reprodução (FR = 5) e a testemunha água o maior (FR = 33). O FR em manipueira a 10% foi 7, em solução nematicida 12 e manipueira 50% 13 (Figura 18). O FR é um dos critérios mais importantes para a avaliação da resistência de genótipos de plantas a nematóides de galha, sendo muito mais confiável que avaliações baseadas no número de galhas (CARNEIRO et al., 2005; ZANELLA et al., 2005; PIRES, 2007).

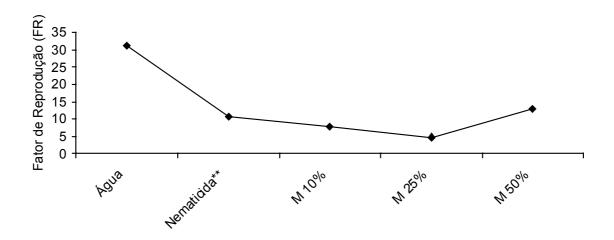


Figura 18. Fator de reprodução de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomateiro sob diferentes tratamentos. **Nematicida- Carbofuran 2 g por vaso.

4.3.4 Altura de Plantas e Comprimento de Raízes de Tomateiros Inoculados com *Meloidogyne incognita* em vasos e Tratados com Manipueira

Com relação à altura da parte aérea, o tratamento manipueira a 50% foi o que apresentou resultados mais representativos, com altura média de plantas de 31,62 cm, 70,5% mais alta que a média obtida para a testemunha com água. Os tratamentos com manipueira a 25% e 10% e o controle com água não diferenciaram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. Já o tratamento nematicida foi

superior apenas à testemunha e inferior somente ao tratamento com manipueira a 50% (Figura 19).

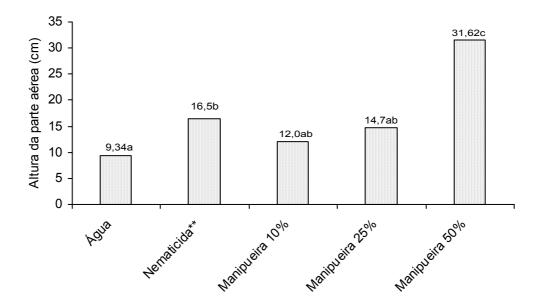


Figura 19. Altura da parte aérea de plantas de tomate inoculados com *Meloidogyne incognita* sob diferentes doses de manipueira. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** Carbofuran 2 g por vaso.

As plantas-controle regadas com água apresentaram um alto nível de infecção por *M. incognita*, causando a redução do sistema radicular e da parte aérea. No entanto, tratamentos com manipueira a 10 e 25% não diferiram estatisticamente da testemunha apesar do baixo nível de infecção apresentado (Figura 20). O pobre desenvolvimento de plantas tratadas com manipueira a 10 e 25% pode ser explicado pela menor concentração de nutrientes disponibilizada às plantas em dosagens inferiores a 50%.

O tratamento manipueira 50%, mesmo tendo apresentado plantas com o maior número de galhas dentre os tratamentos com manipueira, foi o que obteve a maior massa de raiz. Isso provavelmente ocorreu devido à maior disponibilidade de nutrientes às plantas, como demonstrado anteriormente por ARAGÃO & PONTE (1995).

Franco et al. (1990), verificaram incremento da parte aérea e de raízes de tomateiro em solo tratado com manipueira a 50%, extraída das cultivares Bajá, Mato-Gato e Cruvela, classificadas como bravas. No presente ensaio, o comprimento das raízes seguiu a mesma tendência da altura da parte aérea.

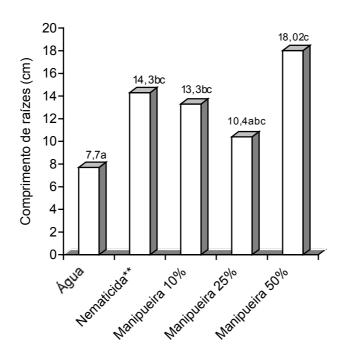


Figura 20. Comprimento de raízes de plantas de tomate inoculados com *Meloidogyne incognita* sob diferentes doses de manipueira. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. **Nematicida- Carbofuran 2 g por vaso.

4.4 EFEITO DE MANIPUEIRA NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* A CAMPO

4.4.1 Número de Galhas

Para o ensaio a campo, não houve diferença estatística para a variável número de galhas entre os tratamentos com manipueira, os quais diferiram estatisticamente da testemunha água (Figura 21). De acordo com a Figura 22, há

uma tendência de aumento do número de galhas em concentrações de manipueira superiores a 10%. O aumento do número de galhas em dosagens de manipueira superiores a 10% pode ser explicado pelo aumento na disponibilidade de nutrientes às plantas levando a um melhor desenvolvimento do sistema radicular e maior nível de infecção.

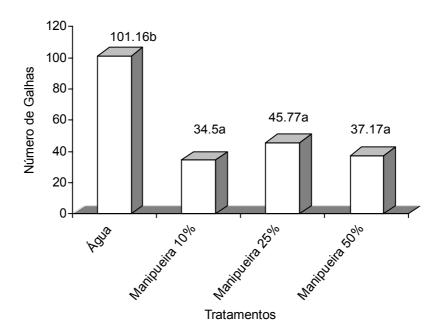


Figura 21. Número de galhas em raízes de tomateiro inoculadas com *Meloidogyne incognita* em condições de campo. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ponte et al. (1987) avaliaram o efeito de manipueira a campo para o controle de *M. incognita* e *M. javanica*. Segundo esses autores, dois litros de manipueira pura por m² não apresentaram diferença estatística em relação ao controle com água, sendo que a dosagem de 4 Lm⁻² de manipueira diluída em água a 50% foi estatisticamente superior à testemunha com relação ao número de galhas.

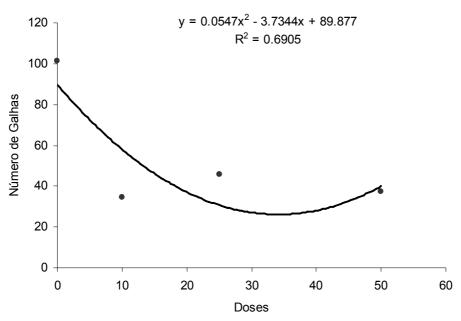


Figura 22. Relação entre número de galhas em raízes de tomateiro inoculadas e dosagens de manipueira a campo.

Franco et al. (1990), testaram manipueira no controle de *M. incognita* a campo nas dosagens de 4,0 Lm⁻², 6,0 L m⁻² e 8,0 L m⁻² diluída a 50% em água. Os autores verificaram que o volume de calda mais eficiente foi 4,0 Lm⁻². No mesmo estudo, manipueira a 50% contribuiu para uma significativa redução no número de galhas em raízes de tomateiro em relação à testemunha.

Os resultados acima estão de acordo com os obtidos neste trabalho, onde a dosagem 4,0 L m⁻² foi eficiente no controle de *M. incognita* a campo para todas as dosagens testadas, sendo que manipueira a 10% causou redução no número de galhas de 76,42% em relação à testemunha com água.

Dados da literatura (Ponte, 1992; Ponte & Franco, 1981) são omissos no que tange a utilização de concentrações inferiores a 50% de manipueira no controle de nematóides a campo. Estudos envolvendo concentrações menores deste resíduo, como os realizados neste trabalho, são de fundamental importância para viabilizar a aplicação de manipueira em larga escala a campo.

4.4.2 Número de Ovos de *Meloidogyne incognita* em Raízes de Tomateiro a Campo

Quanto ao número de ovos/raiz de tomateiro, todos os tratamentos com manipueira diferiram estatisticamente do controle com água. No entanto, o aumento na concentração de manipueira proporcionou aumento no número de ovos por sistema radicular (Figura 23).

Dentre os tratamentos com manipueira, as concentrações a 10% e 25% não diferiram estatisticamente entre si, sendo o tratamento a 10% o único que apresentou diferença estatística para manipueira a 50% (Figura 24).

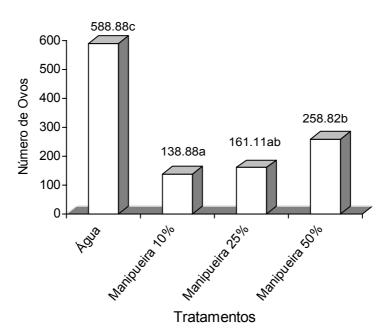


Figura 23. Número de ovos de *Meloidogyne incognita* extraídos de raízes de tomateiro a campo sob diferentes concentrações de manipueira. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

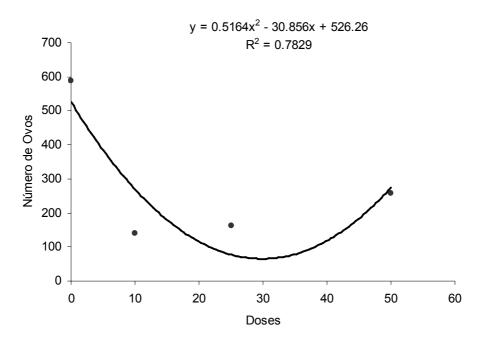


Figura 24. Relação entre número de ovos de *Meloidogyne incognita* em raízes de tomateiro tratadas com diferentes doses de manipueira.

4.4.3 Quantificação de J2 de *Meloidogyne incognita* em 100 cc de solo

A quantificação de J2 em solo mostrou que a população inicial de *M. incognita* a campo era homogênea entre as parcelas e que os tratamentos com manipueira diferiram estatisticamente da testemunha com água em relação à população final de J2, mas não entre si, indicando um controle efetivo dos tratamentos com manipueira sobre a população de J2 no solo (Figura 25).

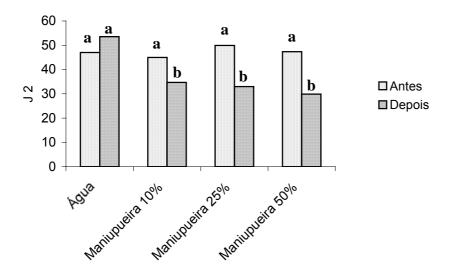


Figura 25. Concentração de J2 de *Meloidogyne incognita* por 100 cc de solo antes e após duas aplicações de manipueira no solo. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.4.4 Altura e Massa Seca da Parte aérea de Plantas de Tomate em Campo Naturalmente Infestado com *Meloidogyne incognita*

Não houve diferença estatística para o parâmetro altura de plantas entre os tratamentos com manipueira e a testemunha com água, sendo que a altura média das plantas de tomate foi de 1,92m (Figura 26). A variável altura de plantas é uma das mais eficientes na diferenciação de plantas infectadas e não infectadas por nematóides.

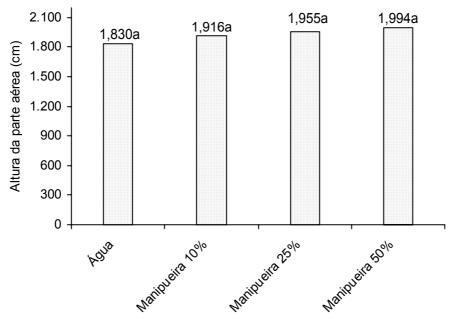


Figura 26. Médias de altura da parte aérea de plantas de tomate tratadas com manipueira, em campo naturalmente infestado com *Meloidogyne incognita*. *Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Neste ensaio de inverno, as temperaturas mínimas e médias mais baixas podem ter minimizado a ação de *M. incognita*, contribuindo para um crescimento equilibrado das plantas (Figura 27). Em temperaturas mais baixas, formas infectantes J2 podem sofrer injúrias, prejudicando a infecção. Além disso, em temperaturas mais baixas é freqüente o prolongamento do ciclo de vida desse nematóide. No entanto, um maior acúmulo de massa seca foi observado em plantas tratadas com manipueira em relação à testemunha com água. Para a variável massa seca, manipueira a 50% foi estatisticamente superior a manipueira a 10%, mas não em relação a manipueira a 25% (Figura 28).

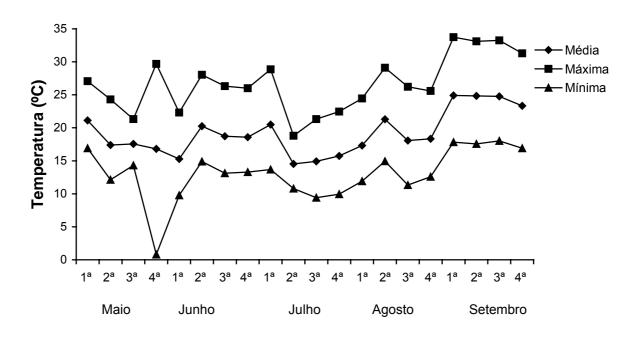


Figura 27. Médias, mínimas e máximas de temperatura semanais ocorridas de maio a agosto de 2007, no Oeste Paranaense.

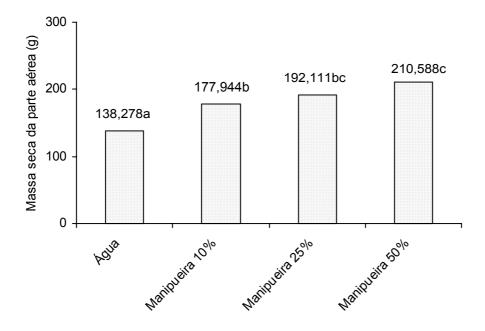


Figura 28. Massa seca da parte aérea de plantas de tomate tratadas com manipueira em campo naturalmente infestado com *Meloidogyne incognita*. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.4.5 Massa de Frutos de Tomateiros Plantados em Campo Naturalmente Infestado com *Meloidogyne incognita*, Tratado com Manipueira

Com relação à massa de frutos, os tratamentos com manipueira foram estatisticamente superiores à testemunha com água, não diferindo estatisticamente entre si (Figura 29).

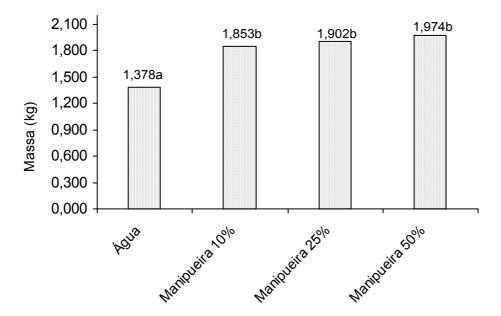


Figura 29. Massa total de todas as repetições dos frutos de tomateiros em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne incognita* sob diferentes doses de manipueira. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os frutos de plantas tratadas com manipueira apresentaram maior tamanho e rigidez que os frutos de plantas não tratadas (Figura 30). O aumento na rigidez da parede dos frutos pode ter ocorrido devido ao acúmulo de cálcio, já que este elemento é sempre presente em manipueira e de grande importância para a cultura do tomateiro. A sua deficiência em plantas acarreta o aparecimento de doença abiótica conhecida como podridão apical (LOPES & SANTOS, 1994).

Os tomateiros tratados com manipueira apresentaram uma produção superior à testemunha com água que variou de 25% para manipueira diluída a 10% e 30% para manipueira diluída a 50% (Figura 29).

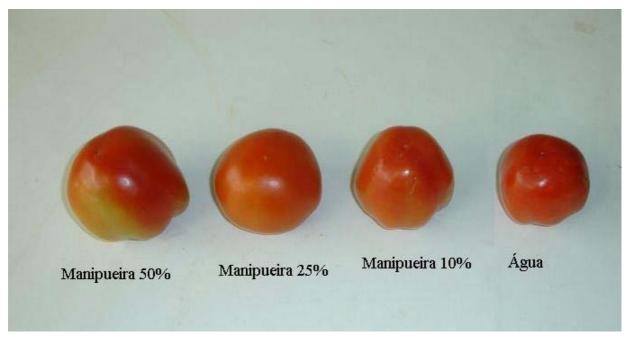


Figura 30. Frutos de tomateiro tratados com manipueira, a diferentes concentrações, em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne incognita*. Fonte: o autor.

Aragão & Ponte (1995), utilizando manipueira a diferentes concentrações como adubo foliar em quiabeiro, verificaram similaridade estatística entre tratamentos com manipueira, os quais proporcionaram um aumento na produção de frutos em relação à testemunha com água.

Vieites (1998) verificou que o uso de 108 m³ ha⁻¹ de manipueira contribuiu para aumentar o rendimento, diâmetro e comprimento de frutos de tomateiro. Por outro lado, Fioretto (1994) ao estudar o efeito de cinco doses de manipueira (0, 80, 160 e 200 m³ ha⁻¹) na produtividade da cultura da mandioca, verificou que todos os tratamentos produziram menos que a testemunha.

A produtividade alcançada nas diferentes concentrações de manipueira testadas comprovou o potencial da mesma para uso agrícola, atuando não somente como nematicida, mas também como fonte de nutrientes ao tomateiro.

Segundo Ferreira et al. (2001), a manipueira pode ser recomendada como fonte de nutrientes para plantas cultivadas em solos de baixa fertilidade, possibilitando a obtenção de produtividades semelhantes às obtidas em tratamentos com adubação química, além de possibilitar a realização de cultivos sucessivos em uma mesma área.

De acordo com os resultados obtidos em testes *in vitro*, em vasos e a campo, não houve diferença estatística entre os tratamentos com manipueira para a maioria das variáveis testadas. Manipueira a 50%, proporcionou um melhor desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea de plantas de tomateiro, além de um incremento na produção por pé de tomate. No entanto, dosagens menores podem ser uma alternativa para a aplicação de manipueira em larga escala.

Sendo assim, sugere-se que outros ensaios a campo sejam realizados em cultivo de tomate de verão, para que o potencial nematicida da manipueira possa ser melhor avaliado.

5. CONCLUSÕES

- ✓ A manipueira produzida no Oeste do Paraná apresenta características químicas que viabilizam a sua aplicação, em pequena ou larga escala, em áreas de produção agrícola desta região;
- ✓ A composição química das amostras de manipueira analisadas apresentou valores de pH que variaram de 6,0 a 6,6, DBO de 1.600 a 1.986 mg L⁻¹ e teores de cianeto entre 25 e 40 mg L⁻¹.
- ✓ Os nutrientes encontrados, em ordem decrescente de concentração, em manipueira caseira foram potássio, cálcio, magnésio, nitrogênio, fósforo, ferro e manganês.
- ✓ Os nutrientes encontrados, em ordem decrescente de concentração, em manipueira industrial foram cálcio, nitrogênio, magnésio, potássio, fósforo, ferro e manganês.
- ✓ Em um contexto geral, manipueira a 10%, partindo-se de uma concentração inicial de cianeto livre de 40 ppm, foi o tratamento mais efetivo no controle de *M. incognita* em tomateiro.
- ✓ Manipueira a 50% foi mais efetiva como fonte nutricional a tomateiro que tratamentos em concentrações mais baixas.
- ✓ Ensaio de verão deve ser realizado no sentido de se confirmar o potencial nematicida da manipueira evidenciado em cultivo de inverno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 4thed. San Diego: Academic Press: 1997. 635 p.

ALMEIDA, N.S.; CARMO, D.O.; SOUZA, J.T.; SOARES, A.C.F. Efeito da manipueira no controle de *Scutellonema bradys* e na germinação de túberas de inhame. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.234, 2007. Suplemento.

ALVES, E.C.; SANTIAGO, A.D.; ELOY, A.P.; AMORIM, E.P.da R. Efeito tóxico da manipueira sobre *Scutellonema bradys*, causador da "casca-preta" no inhame (*Dioscorea cayennensis*). **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.349, 2006. Suplemento.

AMARAL, L. do; JAIGOBIND, A.G.A; JAISINGH, S. Dossiê Técnico. Processamento da mandioca. Instituto de Tecnologia do Paraná. Serviço Brasileiro de Resposta Técnica – SBRT, 2007. Disponível em: www.sbrt.ibict.br>. Acesso em: 10 out. 2007.

ARAGÃO, M. do L. & PONTE, J. da. O uso da manipueira - extrato líquido das raízes da mandioca – como adubo foliar. **Ciência Agronômica**, v. 26, n. 1/2, p. 45-48. 1995.

ASMUS, G.L. Danos causados à cultura da soja por nematóides do gênero *Meloidogyne*. In: Relações parasito-hopedeiro nas meloidoginoses da soja. FERRAZ, LC.C.B.; ASMUS, G.L.; CARNEIRO, R.G.; MAZAFERRA, P.; SILVA, J.F.V. **Embrapa Soja**, Londrina, PR, p. 39-56, 2001.

BARCELOS, F.F, Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes de Mucuna aterrima – Viçosa: UFV, Dissertação (Mestrado), 93p,1997.

BITENCOURT, L.F. População de *Meloidogyne javanica* efeito de extratos vegetais. Londrina, 1999, 35p. Disssertação (Mestrado), Universidade Estadual de Londrina – Agronomia. /Resumo/.

CAGNON, J.R.; CEREDA, M.P.; PANTAROTO, S. Glicosídeos cianogênicos da mandioca: biossíntese, distribuição, destoxificação e métodos de dosagem. In: CEREDA, M.P (coord): **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. vol II. São Paulo: Fundação CARGIL, p, 83 – 99, 2002.

- CAIRES, P. L. & CARDOSO, E.M.R. Cultivo da mandioca para o estado do Pará. Cruz das Almas, 2003. EMBRAPA-CNPMF, Sistemas de Produção. Disponível em: http://www.cnpmf.embrapa.br/mandioca.htm> Acesso em 04 abr., 2006.
- CAMPOS, V.P.; CAMPOS, J.R.; SILVA, L.H.C.P.; DUTRA, M.R. Manejo de nematóides em hortaliças. In: SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. **Manejo integrado**: doenças e pragas em hortaliças. Lavras: UFLA, 2001. p.125-158.
- CAMPOS, V.P. **Doenças causadas por nematóides em tomate**. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA, H. (Ed) Controle de doenças de plantas hortaliças. Viçosa: UFV, Cap.23, p.801-841, 2000.
- CAMPOS, A.T.; RODRIGUES E. E.; FRANZENER, G.; SUGUIY, M. M.; SYPERRECK. V.L.G. Tratamento de águas residuárias de fecularia por meio de lagoas de estabilização. **Engenharia Agrícola**, v.26 no.1 Jaboticabal. 2006
- CARDOSO, E. Uso de manipueira como biofertilizante no cultivo do milho: avaliação do efeito no solo, nas águas subterrâneas e na produtividade do milho. Criciúma SC, 2005, 53p. Dissertação (Mestrado) Universidade do Extremo Sul Catarinense.
- CARNEIRO, R.M.D.G; NEVES, D.I.; FALCÃO, R.; PAES, N.S.; CIA, E.; SÁ, M.F.G. Resistência de Genótipos de Algodoeiros a *Meloidogyne incognita* Raça 3. **Reprodução e Histologia**, v. 1, p.29, 2005.
- CARVALHO, F.C. Disponibilidade de resíduos agroindustriais e do beneficiamento de produtos agrícolas. Informações Econômicas. p. 20, 1992.
- CEREDA, M.P. Caracterização dos Subprodutos da Industrialização da Mandioca. In: CEREDA, M.P. (coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas). São Paulo: Cargill, v. 4, p.13-37, 2001.
- CEREDA, M.P.; FIORETTO, A.M.C. Potencial de água residual de fecularia. In: **Congresso Brasileiro de Mandioca**. Embrapa CNPMF. Resumo. Cruz das Almas, BA, p.147-183, 1981.
- CEREDA, M.P; MATTOS, M.C.Y. Linamarin the toxic compound of cassava. **Journal of Venomous Animals and Toxins**. v. 2, n1, p. 1-4, 1996.
- COIMBRA, J.L.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M. S.; SOUSA, C.S.; RIBEIRO, F.L.B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária brasileira.** v. 41, n.7, 2006.
- CONAB COMPAHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Produção**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=73&NSN=548, Acesso em, 03/01/2008

- CUNHA, F. R. da. Atividade nematicida de isolados bacterianos e de extratos vegetais e purificação de alguns desses extratos. Lavras-MG, 2002. 54p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras, 2002.
- CUZIN, N. & LABAT, M. Reduction of cyanide levels during anaerobic digestion of cassava. **International Journal of Food Science and Technology** v. *27*, p.329-336, 1992.
- DALLAQUA, M.A. de M.; CORAL, D.J. Morfoanatomia. In: CEREDA, M. P. (coord): **Agricultura: Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, v. II. São Paulo: Fundação CARGILL, p. 48-65, 2002.
- DERAL/IBGE— Departamento de Economia Rural. Safra Paranaense.Disponível em http://www. Seab.pr.gov.br. Acesso em 22/11/2007.
- FERRAZ, L.C.C.B.; CHURATA-MASCA, M.G.C. Comportamento de cultivares de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*, Mill) de crescimento determinado em relação ao nematóide *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. **Científica**, São Paulo, v.11, n.1, p.87-91, 1983.
- FERRAZ, L.C.C.B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: FERRAZ, LC.C.B.; ASMUS, G.L.; CARNEIRO, R.G.; MAZAFERRA, P. & SILVA, J.F.V. Relações parasito-hopedeiro nas meloidoginoses da soja. Embrapa Soja, Londrina, PR, p. 15-38, 2001.
- FERRAZ, L.C.C.B. & MONTEIRO, A.R. Nematóides. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. **Manual de Fitopatologia** v. 1, 3^a ed., São Paulo, Agronômica Ceres, p. 168-201, 2005.
- FERRAZ, S.; VALLE, L.A. **Controle de fitonematóide por plantas antagônicas**. Viçosa MG: UFV, 2001. 73p. Cadernos Didáticos
- FERREIRA, D.F. Programa Sisvar, exe. Sistema de análise de variância, Versão 4.6. Lavras-UFLA, 1999.
- FERREIRA, W.A.; BOTELHO, S. M.; CARDOSO, E. M. R.; POLTRONIERI, M. C. **Manipueira: Um adubo orgânico em potencial**. Documento 107 Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2001.
- FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de oleicultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: Editora UFV, 2000. 402p.
- FIORETTO, R.A. Manipueira na fertirrigação: efeitos sobre a germinação e produção de algodão (*Gossipium hirsutum* var *hirsutum* L.) e milho (*Zea mays* L.). **Semina**, v. 8, n.1, p.17-20, 1987.
- FIORETTO, R.A. Uso direto da manipueira em fertirrigação. In: CEREDA, M.P. **Industrialização da mandioca no Brasil**. São Paulo: Paulicéia, p.51-80, 1994.

- FIORETTO, R.A. Uso direto da manipueira em fertirrigação. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas). São Paulo: Cargill, v.4, p.13-37, 2001.
- FIORETTO, R.A. e BRINHOLI, O. Possibilidade de controle das plantas invasoras com a aplicação de manipueira. **Energia na Agricultura**, v. 2, p. 3-9,1985.
- FRANCO, A.; PONTE, J.J.; SILVA, R.S.; SANTOS, F.A. M. Dosagem de manipueira para tratamento de solo infestado por *Meloidogyne*: Segundo experimento. **Nematologia Brasileira**, v. 15, p. 25-32, 1990.
- FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A.S.; STANGARLIN, J.R.; FURLANETTO, C. & SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira.** v. 31, n1, p. 27-36, 2007.
- FRANZENER, G.; UNFRIED, J.R.; STANGARLIN, J.R. & FURLANETTO, C. Nematóides formadores de galha e de cisto patogênicos à cultura da soja em municípios do Oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira.** v. 29, n2, p. 261-265, 2005.
- FREIRE, F. das C.O. Uso da Manipueira no controle do oídio na cerigueleira: resultados preliminares. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Comunicado Técnico** n. 70. Fortaleza-CE. 2001.
- FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.; FERRAZ, S.. Introdução a nematologia. Viçosa: Editora UFV, 84p, 2001.
- GODOY, A.V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO C. L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L.E.A. REZENDE J.A.M. **Manual de Fitopatologia**. v2. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. Capítulo 17, p.184-200: Doenças do cafeeiro (*Coffea arábica* L.).
- GOMMERS, F.J. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. **Helminthological Abstracts**. v. 50, p. 9-21, 1981.
- GRABOWSKI, M.M.S. Efeito *in vitro* da manipueira produzida na região Oeste do Paraná sobre o nematóide *Tubixaba tuxaua* e estudo da sua composição química. Marechal Cândido Rondon-PR, 2007, p.33. (Monografia) Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
- GRABOWSKI, M.M.S.; DAVI, J.J.S.; NASU, E.G.C.; LAYTER, N.A.; SEIFERT, K.E. & FURLANETTO, C. Efeito da manipueira, produzida na região Oeste do Paraná, no controle do nematóide *Tubixaba tuxaua*. **Nematologia Brasileira**. v. 32 (Resumo), p. 178, 2007.

IBGE – INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal, 2007.** Disponível em http://www.ibge.gov.br. Acesso em 10/01/2008.

KAKES, P. Properties and functions of the cyanogenic system in higher plants. **Euphytica**, v.48, p.25-43, 1990.

LEONEL, M. & CEREDA, M.P. Manipueira como substrato na biossíntese de ácido cítrico por *Aspergillus niger*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n2, p. 299-304, 1995.

LOPES, C.A. & SANTOS, J.R.M. Doenças do tomateiro. **EMBRAPA**. Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. Brasília, 67p, 1994.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. São Paulo: Nobel, 1981. 314p.

MACIEL, S. L.; FERAZ, L. C. C. B. Reprodução de *Meloidogyne incognita* Raça 2 *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agrícola**, v.53, n 2-3, Piracicaba, maio/dez. 1996.

MCMAHON JM, WHITE WLB AND SAYRE RT. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **J Expt Bot**, v.46, p. 731-741, 1995.

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 209-244,1997.

NAHRSTEDT, A. Cyanogenic compounds as protecting agents for organisms. **Plant Systematic Evolution**, v. 150, p. 35–47, 1985.

NASU, E.G.C.; PIRES, E.; SANTANA, H.; FORMENTINI, H. & FURLANETTO, C. Efeito da manipueira, produzida no Oeste do Paraná, no controle de *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32 (Resumo), p. 178, 2007.

PANTAROTO, S.; CEREDA, M.P. Linamarina e sua decomposição no ambiente. *In*: CEREDA, M. P. **Manejo Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. Fundação Cargill — São Paulo, 2001. Cap. 5, p. 80-95: Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante.

PIRES, E. Levantamento de *Meloidogyne incognita* em lavouras de algodão no noroeste do Paraná e seleção de genótipos de algodoeiro com resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3. Dissertação (Mestrado) — Universidade Estadual do Oeste do Paraná Marechal Cândido Rondon-PR, p. 50, 2007.

PLUMBLY, R.A; RICKARD, J.E. Post-harvest deteriotion of cassava. **Tropical Science**, v.31, p.295-303,1991.

- PONTE, J. J. da. Uso da Manipueira Como Insumo Agrícola: Defensivo e fertilizante. *In.* Cereda, M. P. **Manejo uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. Fundação Cargill São Paulo, 2001. Cap. 5, p. 80-95: Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante.
- PONTE, J.J. da. Histórico das pesquisas sobre a utilização da manipueira (extrato líquido de raízes de mandioca) como defensivo agrícola. **Fitopatologia Venezuelana,** v. 5, n.2, p.2-5, 1992.
- PONTE, J.J. da. FRANCO, A. Manipueira, um nematicida não convencional de comprovada potencialidade. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, Piracicaba, v.5, p.25-33, 1981.
- PONTE, J.J. da. FRANCO, A.; PONTES, A.E.L. Estudo sobre a utilização da manipueira, como nematicida, em condições de campo. **Nematologia Brasileira**, v.11, p.42-47, 1987.
- PONTE, J.J. da; CAVADA, B.S. & SILVEIRA-FILHO, J. Teste com lectina no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 489-491, 1996.
- PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G. BALBI-PEÑA, M.I. & FURLANETTO, C. *Meloidogyne* spp. associadas à cafeicultura em municípios do Oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira.** v.30, n.1, p. 23-27, 2006.
- SELMAR, D.; GROCHOLEWSKI, S.; SEIGLER, D.S. Cyanogenic lipids: utilization during seedling development of *Ungnadia speciosa*. **Plant Physiology,** v.93, p.631-636, 1990.
- SENA, E.S. & PONTE, J.J. A manipueira no controle da meloidoginose da cenoura. **Revista da Sociedade Brasileira de Nematologia**, v. 6, p. 95-98, 1992.
- SILVA, G. S. S.; SOUZA, I. M. R.; CUTRIM, F. A. Efeito da incorporação de sementes trituradas de feijão de porco ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogine incognita* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27 n4, julho/agosto. p 13-14, 2002.
- SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; DUTRA, M.R.; CAMPOS, V.P. Aumento da resistência de cultivares de tomate *a Meloidogyne incognita* com aplicações do Acibenzolar-S-Metil. **Nematologia Brasileira**, v. 28, p. 1999-206, 2004.
- SILVA, M. O. S. A. Análises Físico-Químicas **CETESB**, 241p., 1998.
- TAKAHASHI, M. Aproveitamento da manipueira e de resíduos do processamento da mandioca. **Informe Agropecuário**, v.13, n.145, p.83-87, 1987.

TAKAHASHI, M.; CEREDA, M.P. Métodos de avaliação do rendimento de manipueira na produção de metano. In: **Congresso Brasileiro de Mandioca 4**., Balneário Camboriú,1986.

TEDESCO, M.J.; WOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre: UFRGS, **Boletim técnico** 5, 188 p., 1995.

TIHOHOD, D. Nematologia Agrícola Aplicada. 1 Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.

VIEITES, R.L. Efeitos da adubação com manipueira sobre o rendimento e qualidade dos frutos de tomate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 8, 1998.

VIEITES, R. L. BRINHOLI, O. Efeitos da aplicação da manipueira na conservação pós colheita da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Energia na Agricultura**, v. 10, n.1, 1995.

ZANELLA, C. S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CARVALHO, F. C. . Resistência de Cultivares de algodoeiro ao Nematóide das Galhas. **Acta Scientiarum**, v. 27, n. 4, p. 655-659, 2005.