

Efeitos de *Solanum sisymbriifolium* Lam. e *S. nigrum* L.
sobre o nemátode-das-lesões-radiculares
(*Pratylenchus goodeyi* (Cobb) Sher & Allen, 1953)
parasita da bananeira (*Musa acuminata* Colla)

Margarida Cristina Camacho Pestana Correia

**Tese Submetida para obtenção
do Grau de Mestre em Ciências da
Terra e da Vida**



Orientação Professora Doutora Manuela Gouveia e
Professora Doutora Isabel Abrantes



Efeitos de *Solanum sisymbriifolium* Lam. e *S. nigrum* L.
sobre o nemátode-das-lesões-radiculares
(*Pratylenchus goodeyi* (Cobb) Sher & Allen, 1953)
parasita da bananeira (*Musa acuminata* Colla)

Margarida Cristina Camacho Pestana Correia

**Tese Submetida para obtenção
do Grau de Mestre em Ciências da
Terra e da Vida**

Orientação Professora Doutora Manuela Gouveia e
Professora Doutora Isabel Abrantes



UNIAO EUROPEIA

Fundos Estruturais

Agradecimentos

Gostaria de expressar os meus sinceros agradecimentos à Professora Doutora Manuela Gouveia e à Professora Doutora Isabel Abrantes pela orientação do presente trabalho de dissertação e por todo o apoio, confiança e conhecimentos transmitidos durante a realização do mesmo.

À Secretaria Regional do Ambiente e Recursos Naturais, mais concretamente à Direcção Regional de Agricultura e Desenvolvimento Rural, Laboratório de Qualidade Agrícola, pela aceitação do trabalho de dissertação.

Ao Doutor Nicolas Vovlas do “ Istituto per la Protezione delle Piante, Sezione di Bari, Itália, pela identificação dos isolados de *Pratylenchus* sp.

Aos colegas do Laboratório de Qualidade Agrícola (Divisão de Protecção das Culturas e Núcleo de Garantia e Gestão da Qualidade), do Centro de Floricultura e do Centro de Bananicultura pelo bom ambiente de trabalho, apoio e espírito de inter-ajuda.

Ao técnico Adriano Jaques, do Núcleo de Nematologia, um agradecimento especial por toda a colaboração prestada durante a realização das actividades experimentais.

Finalmente agradeço à minha família a ajuda, amizade, paciência e grande incentivo e a todos aqueles que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a concretização deste trabalho.

Resumo

A cultura da bananeira é de grande importância económica para a Ilha da Madeira. A procura de formas de agricultura mais sustentáveis, como é o caso da agricultura biológica, tem levado ao desenvolvimento de estratégias alternativas aos produtos fitofarmacêuticos que possam ser utilizadas pelos agricultores.

O objectivo geral deste trabalho foi o contribuir para a agricultura da Madeira desenvolvendo uma estratégia de luta contra o nemátode-das-lesões-radiculares, *Pratylenchus goodeyi*, utilizando *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* como cultura armadilha ou como biofumigante.

Os isolados de *P. goodeyi* foram obtidos a partir da cultura *in vitro* em discos de cenoura e de raízes de bananeira infectadas pelo nemátode. Apesar de *P. goodeyi* se ter reproduzido nas plantas de *S. sisymbriifolium* e de *S. nigrum*, os factores de reprodução foram muito baixos (0,001), podendo estas plantas serem consideradas como resistentes ou, pelo menos, hospedeiros fracos. Os efeitos da incorporação, de diferentes partes de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* (raízes, raízes+parte aérea e parte aérea), no solo com plantas de bananeira, infectadas com *P. goodeyi*, foram avaliados em relação ao crescimento das plantas de bananeira e à reprodução do nemátode. Verificou-se que qualquer uma das espécies de *Solanum* influenciou o crescimento das plantas de bananeira, principalmente daquelas em que as raízes foram incorporadas no solo. A reprodução de *P. goodeyi* nas plantas de bananeira, apenas infectadas com o nemátode, foi superior à sua reprodução nas plantas em que ocorreu incorporação no solo.

Relativamente aos efeitos dos extractos aquosos das plantas de *Solanum* na mortalidade de *P. goodeyi* concluiu-se que os extractos de *S. sisymbriifolium* foram os mais eficazes, principalmente na concentração de 250 mg/ml.

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que as plantas *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* poderão ser utilizadas como biofumigante e como adubo verde, contribuindo para melhorar a qualidade e a quantidade das produções, eliminando os efeitos negativos, de produtos de origem química, sobre a saúde e o ambiente.

Palavras Chave: adubo verde, bananeira, biofumigação, nemátode-das-lesões-radiculares, *Solanum sisymbriifolium*, *S. nigrum*.

Abstract

The search for sustainable forms of agriculture has led to the implementation by farmers of alternative pest management strategies to the traditional use of pesticides. Bananas are one of the most economically important crops on the Island of Madeira and the main goal of the present research was to help devise a more sustainable banana production system by developing a control strategy for the root-lesion nematode, *Pratylenchus goodeyi*, using *Solanum sisymbriifolium* and *S. nigrum* as trap crops or biofumigants.

The isolates of *Pratylenchus goodeyi* were obtained from *in vitro* culture on carrot discs and from infected banana roots. Although *P. goodeyi* did reproduce on *S. sisymbriifolium* and *S. nigrum*, the reproduction factors (0.001) were sufficiently low to designate these plants as resistant or poor hosts. The effects of plant parts of *S. sisymbriifolium* and *S. nigrum* (roots, roots + leaves + stems, or leaves + stems), added to soil with banana plants infected with *P. goodeyi*, on banana growth and nematode reproduction were evaluated. The addition of both *Solanum* species influenced banana plant growth, with the greatest effects where roots of *S. sisymbriifolium* and *S. nigrum* were added to the soil. The reproduction of *P. goodeyi* was greatest on banana plants to which no *Solanum* species plant parts were added.

Water extracts of *S. sisymbriifolium* and *S. nigrum* were tested for their effects on *P. goodeyi* mortality. *Solanum sisymbriifolium* extracts were the most effective, mainly at the higher concentration (250 mg/ml).

From the results obtained, *S. sisymbriifolium* and *S. nigrum* could be used as biofumigants and as green manure, both contributing to better production and representing promising alternatives to chemical nematicides. Such a strategy would remove the negative implications on health and the environment of using products of chemical origin.

Key words: green manure, banana, biofumigation, root-lesion nematode, *Solanum sisymbriifolium*, *S. nigrum*

Índice

| | |
|---|-----|
| Agradecimentos | III |
| Resumo | IV |
| Abstract | V |
| Lista de Tabelas | 3 |
| Lista de Figuras | 5 |
| 1.Introdução | 7 |
| 2.Materiais e métodos | 14 |
| 2.1. Material vegetal | 14 |
| 2.1.1. <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 14 |
| 2.1.2. <i>Musa acuminata</i> Colla (bananeira) | 14 |
| 2.1.3.Transferência das plântulas de bananeira para o solo..... | 14 |
| 2.2. Obtenção e caracterização do solo | 15 |
| 2.3. Obtenção, identificação e multiplicação do nemátode-das-lesões-radiculares, <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 15 |
| 2.3.1.Obtenção e identificação de isolados de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 15 |
| 2.3.2. Multiplicação dos isolados de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 17 |
| 2.3.2.1. Preparação dos discos de cenoura..... | 17 |
| 2.3.2.2. Esterilização dos nemátodes..... | 18 |
| 2.3.2.3. Extracção dos nemátodes dos discos de cenoura | 19 |
| 2.3.3. Extracção de <i>Pratylenchus goodeyi</i> de raízes de bananeira infectadas..... | 19 |
| 2.4. Patogenicidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> a <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 20 |
| 2.5Incorporação de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> em bananeiras envasadas inoculadas com <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 21 |
| 2.6. Obtenção dos extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 22 |
| 2.6.1.Determinação da mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nos extractos de <i>Solanum</i> <i>sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 23 |
| 2.7.Análise estatística | 23 |
| 2.7.1. Incorporação de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> em bananeiras com <i>Pratylenchus</i> <i>goodeyi</i> | 23 |
| 2.7.2.Mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> em extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 24 |

| | |
|--|----|
| 3.Resultados | 25 |
| 3.1. <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 25 |
| 3.2.Caracterização do solo | 26 |
| 3.3.Identificação dos isolados de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 27 |
| 3.4. Multiplicação dos isolados de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 28 |
| 3.5.Patogenicidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> a <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 28 |
| 3.6.Efeito da incorporação de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> no solo em vasos de bananeira com <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 31 |
| 3.6.1. <i>Solanum sisymbriifolium</i> | 31 |
| 3.6.2. <i>Solanum nigrum</i> | 33 |
| 3.7 Efeito dos extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 35 |
| 3.7.1. <i>Solanum sisymbriifolium</i> | 35 |
| 3.7.2. <i>Solanum nigrum</i> | 41 |
| 4.Discussão | 48 |
| 4.1. Obtenção e caracterização do solo | 48 |
| 4.2. Obtenção e identificação dos isolados de <i>Pratylenchus</i> | 48 |
| 4.3. Multiplicação dos isolados de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 48 |
| 4.4. Patogenicidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> a <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 50 |
| 4.5. Efeitos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> sobre <i>Pratylenchus goodeyi</i> em ensaios em vasos com bananeira | 50 |
| 4.6. Efeitos dos extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 51 |
| 4.7. Efeito de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> como adubo verde | 52 |
| 4.8. Efeito de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> como biofumigante | 53 |
| 4.8.1.Condições gerais de aplicação de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> como biofumigante | 53 |
| 4.8.2. Factores que influenciam a eficácia da biofumigação | 54 |
| 5.Conclusões | 56 |
| 6.Bibliografia | 58 |
| 7.Anexo 1 | 66 |
| 8.Apêndice 1 | 67 |
| 9.Apêndice 2 | 72 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Número de isolados de <i>Pratylenchus goodeyi</i> obtidos a partir de 28 amostras de solo e raízes de bananeira. | 17 |
| Tabela 2- Factor de reprodução (Rf) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> em <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> , 40 dias após a inoculação com uma densidade populacional inicial (Pi) de 4088 jovens e adultos do nemátode/planta. | 29 |
| Tabela 3- Efeito de <i>Solanum sisymbriifolium</i> no crescimento das plantas de bananeira 4 meses após a inoculação de 2000 <i>Pratylenchus goodeyi</i> /planta. | 32 |
| Tabela 4- Efeito de <i>Solanum nigrum</i> no crescimento das plantas de bananeira 4 meses após a inoculação de 2000 <i>Pratylenchus goodeyi</i> /planta. | 33 |
| Tabela 5- Efeito do extracto aquoso de raízes+parte aérea de <i>Solanum sisymbriifolium</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 35 |
| Tabela 6- Efeito do extracto aquoso da parte aérea de <i>Solanum sisymbriifolium</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 36 |
| Tabela 7- Efeito do extracto aquoso das raízes de <i>S. sisymbriifolium</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 37 |
| Tabela 8- Determinação da normalidade dos dados da mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> em extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> (dados não transformados). | 39 |
| Tabela 9- Resultados da ANOVA (a um factor) para a mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nos diferentes extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> (dados transformados)..... | 39 |
| Tabela 10- Resultados do teste de Tukey para a mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nos diferentes extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> ao longo do tempo (30 dias). .. | 40 |
| Tabela 11- Efeito do extracto aquoso das raízes+parte aérea de <i>Solanum nigrum</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 41 |

| | |
|--|----|
| Tabela 12- Efeito do extracto aquoso da parte aérea de <i>Solanum nigrum</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 42 |
| Tabela 13- Efeito do extracto aquoso das raízes de <i>Solanum nigrum</i> na mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 44 |
| Tabela 14- Determinação da normalidade dos dados da mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> em extractos de <i>Solanum nigrum</i> (dados não transformados)..... | 46 |
| Tabela 15- Resultados da ANOVA (a um factor) para a mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nos extractos de <i>Solanum nigrum</i> (dados transformados)..... | 46 |
| Tabela 16- Resultados do teste de Tukey para a mortalidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nos diferentes extractos de <i>Solanum nigrum</i> ao longo de tempo (30 dias)..... | 47 |

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1- Locais de colheita das amostras de solo e raízes de bananeira. | 16 |
| Figura 2- Disco de cenoura após inoculação de <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 18 |
| Figura 3-Inoculação de 4088 jovens e adultos de <i>Pratylenchus goodeyi</i> em <i>S. nigrum</i> | 20 |
| Figura 4- Incorporação no solo de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> em bananeiras em vaso inoculadas com <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 22 |
| Figura 5- Aparecimento de sintomatologia de doença em <i>Solanum sisymbriifolium</i> | 26 |
| Figura 6- Identificação dos isolados de <i>Pratylenchus</i> sp. | 27 |
| Figura 7- Multiplicação de <i>Pratylenchus goodeyi</i> em discos de cenoura. | 28 |
| Figura 8- Patogenicidade de <i>Pratylenchus goodeyi</i> a <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> | 30 |
| Figura 9- Efeito da incorporação de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> no solo de vasos de bananeira inoculados com <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 31 |
| Figura 10– Factor de reprodução (Rf) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nas plantas de bananeira, em que <i>Solanum sisymbriifolium</i> foi incorporada no solo, 4 meses após a inoculação com uma densidade populacional inicial de 2000 nemátodes/planta. Tratamentos: 2 Testemunha (planta+nemátode); 3 Planta+nemátode+raízes; 4 Planta+nemátode+parte aérea e 5 Planta+nemátode+parte aérea e raízes (n=5, p < 0,05)..... | 33 |
| Figura 11– Factor de reprodução (Rf) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> nas plantas de bananeira, em que <i>Solanum nigrum</i> foi incorporada no solo, 4 meses após a inoculação com uma densidade populacional inicial de 2000 nemátodes/planta. Tratamentos: 2 Testemunha (planta+nemátode); 6 Planta+nemátode+raízes; 7 Planta+nemátode+parte aérea e 8 Planta+nemátode+parte aérea e raízes (n=5, p < 0,05). | 34 |

| | |
|---|----|
| Figura 12- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> , durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso de raízes+parte aérea de <i>Solanum sisymbriifolium</i> | 36 |
| Figura 13- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> , durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso da parte aérea de <i>Solanum sisymbriifolium</i> | 37 |
| Figura 14- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> , durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso das raízes de <i>Solanum sisymbriifolium</i> | 38 |
| Figura 15- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> , durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso das raízes+parte aérea de <i>Solanum nigrum</i> | 42 |
| Figura 16- Extractos de <i>Solanum sisymbriifolium</i> e <i>S. nigrum</i> com <i>Pratylenchus goodeyi</i> | 43 |
| Figura 17- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> , durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso da parte aérea de <i>Solanum nigrum</i> | 44 |
| Figura 18- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de <i>Pratylenchus goodeyi</i> , durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso das raízes de <i>Solanum nigrum</i> | 45 |

1. Introdução

A cultura da bananeira (*Musa acuminata* Colla) é de grande importância económica para a Ilha da Madeira, onde toda a produção de banana é realizada ao ar livre (Ribeiro & Silva, 1998). Esta cultura envolve muitos recursos humanos e representa mais de 1/3 do valor total das exportações efectuadas pela Ilha. Actualmente, de acordo com a informação do Centro de Bananicultura da Direcção Regional de Agricultura e Desenvolvimento Rural, os campos de bananeira ocupam cerca de 640 ha, 11 % da Superfície Agrícola Útil, e constituem aproximadamente 20 % do produto agrícola bruto da Região Autónoma da Madeira.

O sector da banana, além de ter uma grande importância na economia da Região pelo impacto que tem ao nível do emprego, contribui para uma paisagem que, pelas suas características particulares de diversidade, é de grande relevância como recurso natural e turístico. Contudo, verifica-se uma diminuição acentuada da área dedicada à bananicultura, resultado da crise que o sector tem vindo a atravessar e que levou ao abandono de muitos campos. Por outro lado, o desenvolvimento económico que se tem registado na Ilha da Madeira conduziu a uma apetência natural pelos terrenos localizados a cotas mais baixas e mais expostos da vertente Sul, correspondendo exactamente aos mais indicados para a prática da bananicultura, o que contribuiu para uma valorização comercial exagerada desses terrenos para o ramo imobiliário, aumento este difícil de superar com os lucros obtidos na agricultura.

Tendo em conta a importância socio-económica e paisagística que a cultura da bananeira tem para a Madeira, é fundamental encontrar alternativas de produção mais rentáveis para o agricultor e equilibradas do ponto de vista ambiental. Nestes últimos anos, tem-se assistido ao desenvolvimento de outras formas de agricultura, na qual se inclui a agricultura biológica, através da utilização de adubos verdes, rotações culturais, resíduos de culturas e compostagem, que permitem uma agricultura menos dependente de factores de produção externos (e.g. fertilizantes e produtos fitofarmacêuticos) e mais sustentável. Na agricultura biológica, o solo é considerado um sistema vivo, cuja actividade biológica é imprescindível manter e melhorar de modo a aumentar a fertilidade e a qualidade de produção sem recorrer a produtos químicos (Ferreira, 1999).

Em qualquer solo agrícola, os organismos aí existentes podem tornar-se dominantes quando as condições são favoráveis ao seu desenvolvimento, crescimento, actividade e reprodução. Na agricultura convencional, os organismos patogénicos presentes habitualmente no solo, como fungos e nemátodes, podem aumentar rapidamente, em número, com efeitos devastadores para as culturas. A agricultura intensiva aumenta consideravelmente a probabilidade de organismos prejudiciais se desenvolverem, provocando doenças e tornando-se dominantes no solo que fica assim em desequilíbrio.

Deste modo, é urgente mudar as práticas agrícolas, tornando-as menos agressivas para o

ambiente, valorizando a segurança alimentar e a qualidade dos produtos, aspectos importantes para os consumidores cada vez mais informados e exigentes. Por isso, é necessário desenvolver estratégias alternativas aos produtos fitofarmacêuticos, para que possam ser utilizadas pelos agricultores. Esta necessidade de encontrar vias alternativas ao controlo químico, para combater os principais problemas associados à bananeira, mais viáveis em termos económicos e mais ecológicas, fez com que o Governo Regional da Madeira, através da Direcção Regional de Agricultura e Desenvolvimento Rural/Centro de Bananicultura, fomentasse, em 1996, o desenvolvimento da agricultura biológica e da produção biológica de banana promovendo estudos de implementação de um conjunto de técnicas culturais e de factores de produção com a finalidade de substituir os utilizados convencionalmente. Esta medida levou ao aumento da área de conversão, para este modo de produção.

As alterações mais significativas no modo de produção biológico registam-se ao nível da fertilização e combate às pragas e doenças. Na fertilização, além da incorporação de composto, para uma adequada nutrição da planta, devem ser utilizados outros fertilizantes como a matéria orgânica líquida. Relativamente ao combate de pragas e doenças é dada grande importância a medidas preventivas como: densidade de plantação adequada e limpeza correcta das plantas para promover o arejamento e, conseqüentemente, evitar o aparecimento de pragas e doenças; aumento da matéria orgânica através da aplicação de composto; utilização de produtos à base de organismos benéficos que promovem o equilíbrio biológico do solo; e aplicação de armadilhas ou de atractivos. O controlo das infestantes é efectuado por meio da distribuição dos resíduos da cultura no solo ou através da instalação de uma cobertura vegetal permanente nas entrelinhas como, por exemplo, de uma leguminosa (trevo violeta). Estas plantas competem com as infestantes pela água, luz e nutrientes e, em simultâneo, fertilizam o solo através da fixação do azoto. As soluções apresentadas, segundo os trabalhos efectuados no Centro de Bananicultura, permitem obter uma produção com qualidade e quantidade comparáveis à produção convencional mas aliada a uma maior segurança alimentar.

Na Madeira, os problemas mais importantes para a cultura da bananeira são causados por trips (*Thrips exilicornis* Hood) (Aguiar, com. pess.) e aranha vermelha (*Tetranychus urticae* Koch.) que atacam essencialmente os frutos, alimentando-se da sua epiderme e provocando perda de qualidade (Aguiar, 1999).

São igualmente relevantes os problemas causados pelo bicho da bananeira ou gorgulho (*Cosmopolites sordidus* Germar) (Aguiar, 1999) e por alguns nemátodes que debilitam a planta, traduzindo-se em grandes perdas de produção. Estes animais, em conjunto, afectam as raízes e o pseudocaule da planta, danificando o tecido vascular, impedindo a absorção da água e dos nutrientes, logo, enfraquecendo a planta. O controlo destes problemas é extremamente difícil de concretizar. Uma medida importante, e amplamente utilizada na Região, tem incidido na utilização de bananeiras provenientes de cultura de tecidos, ou seja, isentas de doenças. No entanto, estas plantas produzidas *in vitro* são rapidamente afectadas por gorgulho e por

nemátodes, quando colocadas nos solos infestados (Dubois *et al.*, 2004).

Nemátodes dos géneros *Helicotylenchus*, *Pratylenchus* e *Rotylenchulus* são muito comuns em bananais da Região, principalmente *Pratylenchus*, ocorrendo, muitas vezes, misturas de espécies destes géneros que podem originar problemas muito graves, nomeadamente queda das plantas, diminuição da produção e da qualidade, sobretudo nos anos mais ventosos (Pestana & Cravo, 1999).

Para a realização de experiências com vista ao desenvolvimento de estratégias de luta contra os principais nemátodes, que parasitam a bananeira, menos prejudiciais à saúde e ao ambiente é essencial que os isolados de *Pratylenchus* sejam identificados até à espécie. Contudo, a identificação das espécies de *Pratylenchus*, com base em caracteres morfométricos e morfológicos, é particularmente complexa porque muitos desses caracteres, além de serem difíceis de observar, apresentam uma grande variabilidade intra-específica. A precisão da identificação aumenta quando, aos caracteres morfobiométricos, adicionam-se outros, sobretudo de natureza bioquímica e molecular. Os caracteres bioquímicos e moleculares, que têm sido utilizados na diferenciação das espécies deste género, ainda não são conhecidos para todas as espécies. Por isso, a sua identificação continua a ser baseada nos caracteres morfológicos e morfométricos (De Waele & Elsen, 2002).

A espécie *P. goodeyi* (Cobb) Sher & Allen (1953) tem sido considerada como a mais prejudicial à cultura da bananeira, tendo sido referida como um grande problema para a cultura da bananeira nas Ilhas Canárias, em Chipre, em Creta e em Taiwan (Gowen & Quénehervé, 1990; Stover & Simmonds, 1991). Este nemátode foi detectado pela primeira vez em raízes de bananeira nas Ilhas Canárias, Espanha e, posteriormente, no Quénia, na Tanzânia, nos Camarões, na Grécia e na Madeira, Portugal (De Guiran & Vilardebo, 1962; Gichure & Ondieki, 1977; Walker *et al.*, 1983; Gowen & Quénehervé, 1990; Waudou *et al.*, 1990; Sakwe & Geraert, 1994; Vovlas *et al.*, 1994; Prasad *et al.*, 1995; Troccoli *et al.*, 1996). O nemátode *P. goodeyi* parece ser comum em climas subtropicais mais ou menos frios e ambientes montanhosos, principalmente, da África Central e de Leste (Bridge, 1988).

Estes nemátodes produzem lesões necróticas ao nível das raízes e do pseudocaule. Alimentam-se, multiplicam-se e migram no interior dos tecidos, causando necroses e apodrecimento geral com conseqüente redução do sistema radicular. Um sistema radicular debilitado afecta o mecanismo de fixação e ancoragem da bananeira ao solo, provocando a sua queda, principalmente quando as plantas possuem o cacho em fase de enchimento ou quando predominam ventos mais ou menos fortes. Nas bananeiras infectadas por estes nemátodes, as perdas de produção resultam de uma diminuição do crescimento e desenvolvimento da planta, redução no tamanho do cacho, aumento do período vegetativo, diminuição da vitalidade, queda das plantas e diminuição na longevidade (Stoffelen *et al.*, 1999; Speijer *et al.*, 1999; Gold *et al.*, 2004).

Estes problemas, muitas vezes, são agravados com a presença de outros microrganismos

no solo que, juntamente com os nemátodes, constituem complexos de doença que vão potenciar os seus efeitos nas culturas. A presença de fungos fitopatogénicos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Sm) Snyder & Hans. causador da doença conhecida por mal-do-Panamá, em solos infestados com *P. goodeyi*, é frequente em bananais com foco de incidência no concelho do Funchal (Rodrigues & Sardinha, 1999). Numa tentativa de eliminar estes organismos, tem sido prática recorrente proceder a desinfecções profundas de solo com produtos fumigantes que, além de provocarem a destruição da biodiversidade dos organismos do solo, importantes para manter o equilíbrio biológico, deixam resíduos perigosos que vão contaminar o solo, a água superficial e a água de aquíferos.

Apesar dos nematodocidas serem considerados perigosos, tóxicos e dispendiosos, a luta química tem sido um dos meios mais comuns para manter as densidades populacionais de nemátodes baixas de modo a não prejudicarem as culturas (De Waele & Elson, 2002). Químicos como fenaminfos, etoprofos e oxamil são utilizados frequentemente na Região como preventivos contra nemátodes, com aplicações sistemáticas e frequentes que contribuem para o aumento da biodegradação, resultante do uso repetido destes químicos, provocando desequilíbrios difíceis de solucionar. Além disso, o combate aos nemátodes com nematodocidas representa um risco muito grande para outros organismos não prejudiciais e um risco ainda maior para o ambiente (Shaukat *et al.*, 2004). Sendo assim, é urgente desenvolver novos meios de luta eficazes e avaliar a sua aplicabilidade no campo.

As práticas agrícolas actuais, e com perspectivas para o futuro, estão focalizadas numa preocupação ambiental, visando reduzir a aplicação de produtos fitofarmacêuticos e assim garantir uma melhor qualidade alimentar aliada a medidas mais protectoras do ambiente e dos ecossistemas em geral. As tendências das políticas ambientais vão no sentido de reduzir o uso, em grande escala, de desinfectantes do solo para controlo de nemátodes e fungos. Por isso, a procura de métodos alternativos para combater as pragas e doenças é, actualmente, uma área de investigação muito atractiva.

A adição de correcções orgânicas que estimulem o crescimento de microrganismos antagonistas, ou que libertem toxinas durante a decomposição, tem sido defendida como forma alternativa de combater os nemátodes fitoparasitas, através do estabelecimento e manutenção do equilíbrio biológico do solo (Badra *et al.*, 1979; Bradow, 1991). Este manuseamento biológico do solo deverá ser a base para a agricultura sustentável juntamente com um conjunto de estratégias e de medidas nas quais se incluem a rotação das culturas com plantas resistentes ou pouco susceptíveis, a utilização de plantas com propriedades nematodocidas e de plantas com a capacidade de atrair ou de repelir nemátodes como adubo verde ou como cultura armadilha e a biofumigação, entre outras.

Uma das possíveis soluções consiste na utilização da luta cultural através da implantação de novas culturas nos esquemas das rotações. As rotações podem aumentar a fertilidade do solo e deverão ser utilizadas sempre que possível no combate aos nemátodes (Whitehead,

2002). Contudo, a utilização de determinadas plantas como rotação numa tentativa de combater os nemátodes fitoparasitas, implica que estas sejam resistentes ou pouco susceptíveis aos nemátodes. Este tipo de medida pode ser ambientalmente atractivo mas é complicado de aplicar quando estão presentes mais de uma espécie de nemátodes, podendo a planta ser resistente a uma espécie mas não a outra, ou, quando estão presentes nemátodes fitoparasitas com uma vasta gama de plantas hospedeiras, como é o caso de *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. Assim, para determinar se a introdução de uma nova planta é susceptível aos nemátodes é essencial realizar ensaios para avaliar o grau de susceptibilidade/resistência dessa planta àqueles organismos (Kok *et al.*, 1994). Outra forma de luta contra alguns nemátodes fitoparasitas consiste em utilizar plantas armadilha. Estas plantas são capazes de atrair os nemátodes e funcionar como armadilha para aqueles que invadem as suas raízes. No entanto, devem ser destruídas antes do nemátode completar o seu ciclo de vida (Whitehead, 2002). Várias plantas têm sido e estão a ser investigadas, com o objectivo de encontrar propriedades antagonistas aos nemátodes fitoparasitas, de modo a serem utilizadas como culturas armadilha ou como adubo verde (Shaukat *et al.*, 2004). A exploração do potencial nematocida de plantas e a sua aplicação constitui também uma área de investigação em desenvolvimento e diferentes partes de plantas têm sido testadas para identificar a possível origem das substâncias nematocidas (Musabyimana & Saxena, 1999; Rahman & Somers, 2005).

A identificação e estudo de substâncias químicas libertadas pelas plantas, como resposta a interacções nemátode-planta, é certamente uma das áreas mais promissoras e em franco progresso. É sabido que os exsudatos das raízes de certas plantas actuam como atractivos para alguns nemátodes, estimulando a eclosão (Scholte, 2000 b; Kushida *et al.*, 2003). Por outro lado, algumas plantas são capazes de causar a morte ou repelir determinadas espécies de nemátodes, interrompendo o seu ciclo de vida ou impedindo a sua alimentação (Musabyimana & Saxena, 1999; Pandey *et al.*, 2001; Khurma & Mangotra, 2004). Estas propriedades podem representar um papel importante no desenvolvimento de novos materiais e novas formas de proteger as plantas hospedeiras, na medida em que oferecem a possibilidade de obter atractivos, repelentes ou nematocidas ambientalmente mais seguros e ecológicos, que são baseados nas respostas naturais das plantas aos estádios do ciclo de vida dos nemátodes mais prejudiciais para as plantas. A selecção de variedades ou a engenharia genética podem também ser usadas para produzir plantas menos atractivas para os nemátodes (De Waele & Elsen, 2002).

Recentemente, estão a ser desenvolvidas novas metodologias, como a biofumigação que se fundamenta no manuseamento dos processos de biodecomposição da matéria orgânica para produzir substâncias voláteis que, ao ficarem retidas no solo, permitam regular as populações de organismos parasitas de plantas, evitando o aparecimento de pragas e doenças. As bases científicas da biofumigação estão estabelecidas diferenciando-a da simples utilização de matéria orgânica como correctivo (Bello *et al.*, 2002). Esta medida de luta cultural apresenta como vantagem, em relação à solarização do solo, o facto de não exigir temperaturas superiores

a 30° C, podendo ser aplicada em qualquer época do ano e em qualquer local com temperaturas mais baixas, o que é importante para a região da Madeira. Além disso, a biofumigação actua em profundidade resolvendo, no caso dos nemátodes, os problemas de dinâmica vertical resultantes da sua mobilidade.

A acção biofumigante é indicada como sendo uma propriedade geral da matéria orgânica, de origem animal, restos agro-industriais ou mesmo da adubação em verde dependendo a sua eficácia das características, da dose e do método de aplicação do biofumigante (Bello *et al.*, 2000). A eficácia da biofumigação pode ser comparada aos fumigantes convencionais, mas contribui para a melhoria das propriedades químicas e das características físicas e biológicas do solo. A biofumigação, ao contrário da fumigação química que conduz à esterilização quase total do solo, eliminando grande parte dos organismos úteis aí presentes, não provoca desequilíbrios na fauna e flora do solo.

Esta acção dos gases, libertados pela decomposição da matéria orgânica, tem sido estudada para poder ser aplicada na luta contra os nemátodes fitoparasitas e de outros organismos patogénicos presentes no solo. Neste âmbito várias crucíferas (*Brassica* spp.), entre outras, têm sido testadas como potenciais supressoras de nemátodes, na medida em que contêm compostos biologicamente activos designados por glucosinolatos. Estes compostos originam isotiocianatos e outros químicos durante os processos de decomposição no solo (Kirkegaard *et al.*, 2000). Foi demonstrado que adubações em verde com culturas de *Brassica* spp. têm actividade nematodocida, devido à produção de isotiocianatos tóxicos durante os processos de decomposição (Walker, 1997; Kirkegaard *et al.*, 2000). Estes compostos são considerados muito eficazes na supressão de patogénios do solo (Kirkegaard *et al.*, 1996; Brown & Morra, 1997). A diminuição do número de nemátodes fitoparasitas presentes no solo através da aplicação de crucíferas, como adubação em verde ou como rotação, foi demonstrada em batateira e em citrinos (Mojtahedi *et al.*, 1993; Al-Rehiyani *et al.*, 1999; Walker & Morey, 1999). O cultivo destas plantas nas entrelinhas das plantações e a sua utilização como biofumigante são, cada vez mais, práticas comuns em diversos países (Walker, 2004; Rahman & Somers, 2005).

Tal como no caso de algumas crucíferas, a utilização de certas plantas em verde ou secas, como adubo verde para aplicação no combate aos nemátodes fitoparasitas da bananeira, tem sido também avaliada. Os extractos vegetais de determinadas plantas podem funcionar como nematodocidas imobilizando jovens ou mesmo reduzindo a eclosão (Costa *et al.*, 2003). Extractos foliares de *Gliricidia maculata* H.B. & K., *Ricinus communis* L., *Crotalaria juncea* L., *Glycosmis pentaphylla* Retz., *Azadirachta indica* A. Juss., *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers., *Piper betle* L. e *Moringa oleifera* Lam. são mesmo considerados letais para alguns nemátodes como *Radopholus similis* (Cobb) Thorne, (Jasy & Koshy, 1992; Charles & Venkitesan, 1993).

Vários estudos demonstram que muitas plantas da família Solanaceae apresentam elevada resistência a nemátodes-de-quisto da batateira e ainda a capacidade de produzir compostos promotores da eclosão (Scholte, 2000 a). Estes factos fazem com que as Solanaceae tenham

potencial para serem utilizadas como cultura armadilha, estimulando a eclosão dos jovens que invadem as suas raízes e reduzindo o nível de infestação dos nemátodes no solo.

A espécie *Solanum sisymbriifolium* Lam. é originária de climas quentes temperados da América do Sul, nativa em algumas regiões da África e da Ásia e não existe na Madeira (Deb, 1979; Symon, 1981; Velayudhan & Upadhyay, 1994; Olckers & Hulley, 1995). *Solanum nigrum* L. é uma espécie eurasiática, mas encontra-se agora distribuída por todo o Mundo com excepção da América do Sul (Edmonds, 1979). Vulgarmente conhecida por erva-de-santa-maria ou erva-moira, é uma planta anual e que floresce durante todo o ano sendo considerada muito vulgar (Franco, 1984). Esta planta é abundante na Madeira em terrenos cultivados ou não, nas paredes e ao longo das estradas (0-1500 m) (Press & Short, 1994), aparecendo espontaneamente em alguns bananais entre as bananeiras.

A escolha destas plantas deve-se ao facto de se ter demonstrado que estas espécies libertam exsudatos que actuam como agentes promotores da eclosão dos jovens de segundo estágio (J2) de alguns nemátodes que formam quistos. Apesar destas plantas serem resistentes aos nemátodes-de-quisto da batateira, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens e *G. pallida* (Stone), os J2 invadem as raízes em grande número, (Scholte, 2000 a, b). Estas características indiciam que *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* podem ser usadas como cultura armadilha, na medida em que combinam um forte efeito de estimulação da eclosão com a resistência sobretudo aos nemátodes-de-quisto da batateira (Scholte, 2000 a).

Com o presente trabalho de investigação pretende-se avaliar os efeitos das plantas *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* sobre *P. goodeyi*. Este estudo comparativo dos efeitos das duas plantas permitirá verificar a possibilidade de utilizar apenas *S. nigrum*, existente já na Região, evitando a introdução de uma nova espécie.

Com este trabalho pretende-se igualmente contribuir para o desenvolvimento de uma estratégia alternativa à aplicação de nematodocidas, na luta contra as populações do nemátode-das-lesões-radiculares, *P. goodeyi*, pela utilização de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* como cultura armadilha ou como adubo verde, inseridas num esquema de rotação cultural ou cultivadas em simultâneo no caso dos bananais mais abertos e expostos.

Os objectivos específicos foram os seguintes:

- 1) avaliar o grau de resistência/susceptibilidade de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* a *P. goodeyi*;
- 2) conhecer os efeitos das duas espécies de *Solanum* sobre *P. goodeyi* em ensaios em vaso com bananeiras obtidas por cultura *in vitro*;
- 3) estimar a acção de extractos das plantas (raízes, parte aérea e raízes + parte aérea) sobre a mortalidade de *P. goodeyi*.

2. Materiais e Métodos

2.1 Material vegetal

2.1.1 *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

Sementes de *S. sisymbriifolium* Lam. cv. “Pion” foram cedidas por “Vandijke Semo Seed & Services”, Holanda. Plantas de *S. nigrum* L. foram colhidas, com sistema radicular, na Serra de Água, Ribeira Brava e transportadas para o Laboratório de Qualidade Agrícola, Camacha, onde foram mantidas para produção de frutos e sementes.

As sementeiras de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* foram efectuadas no Centro de Floricultura, Lugar de Baixo, Ponta do Sol, em turfa esterilizada e as plantas mantidas em viveiro até à sua utilização nas seguintes condições de crescimento: temperatura entre 18° C (noite) e 35° C (dia) e humidade relativa aproximada de 70 %.

2.1.2 *Musa acuminata* Colla (bananeira)

As plantas de bananeira cv. “Grande Anã” foram produzidas por cultura *in vitro*, no Microlab Madeira, Direcção Regional de Agricultura e Desenvolvimento Rural, e cedidas pelo Centro de Bananicultura, Lugar de Baixo, Ponta do Sol.

2.1.3 Transferência das plântulas de bananeira para o solo

As plântulas com 1,5 a 2 cm foram, cuidadosamente, retiradas dos tubos de cultura e transferidas para tabuleiros com turfa e perlite permanecendo na bancada em estufa, até atingir 10 cm, nas seguintes condições de crescimento: luz natural; temperatura entre 16° C e 30° C e humidade relativa aproximada de 70 %. A seguir, as plantas foram colocadas em vasos de plástico com 2 litros de capacidade contendo turfa, ficando em viveiro durante mais algumas semanas. Posteriormente, as plantas, com cerca de 15 cm de altura, foram transplantadas para vasos de plástico com 30 litros de capacidade com solo franco-argiloso esterilizado (ver 2.2) e colocadas ao ar livre.

2.2. Obtenção e caracterização do solo

O solo foi colhido num campo de bananeiras (Lugar de Baixo, Ponta do Sol), de forma a ser representativo das condições usuais da cultura na Região, e esterilizado por meio de calor seco, durante 3 a 4 horas, utilizando um esterilizador térmico a 80-90° C.

No mesmo local foi colhida uma amostra de solo que foi enviada para a Divisão de Protecção das Culturas, Núcleo de Análise de Terras do Laboratório de Qualidade Agrícola, com o objectivo de obter a sua composição física e química e a estrutura e tipo de solo, classificado como um solo franco-argiloso (Anexo 1).

2.3. Obtenção, identificação e multiplicação do nemátode-das-lesões-radiculares, *Pratylenchus goodeyi*

2.3.1 Obtenção e identificação de isolados de *Pratylenchus goodeyi*

Foram colhidas na parte Sul da Ilha da Madeira 28 amostras de solo e raízes de bananeira (Fig. 1), das quais se obteve 79 isolados de nemátodes-das-lesões-radiculares, *Pratylenchus* spp. (Tabela 1).

Os nemátodes foram extraídos do solo através do método da flutuação centrífuga em sacarose (Jenkins, 1964; Abrantes *et al.*, 1976). Uma amostra de 250 cm³ de solo, previamente limpo de pedras e com eventuais torrões desfeitos, foi colocada num passador de cozinha e lavada para um recipiente de plástico com cerca de 5,5 litros de capacidade. O recipiente foi cheio com água e a suspensão agitada com uma vareta de vidro. Após 30 segundos, o sobrenadante foi decantado através de um crivo de 45 µm (325 malhas/polegada). Encheu-se de novo o recipiente com água e repetiu-se o processo anterior. O material retido no crivo foi recolhido num copo de vidro e transferido para tubos de centrífuga de 50 ml que foram centrifugados a 1800 g durante 3 a 3,5 minutos. Após eliminar o sobrenadante adicionou-se uma solução de sacarose 1,42 M e após a homogeneização voltou-se a centrifugar a 1800 g durante 2 a 2,5 minutos. O sobrenadante foi transferido para um crivo de 45 µm, lavado com água corrente, para retirar o excesso de sacarose, e colocado numa siracusa ou copo de precipitação para posterior observação.

Os nemátodes foram extraídos das raízes através do método de maceração e crivagem (Abrantes *et al.*, 1976; Hooper, 1986). As raízes foram cortadas em pedaços de aproximadamente 0,5 cm e trituradas num copo misturador, com 100 ml de água, durante 20 segundos. A suspensão foi transferida para um pequeno crivo de aproximadamente 45 µm colocado numa placa de Petri onde ficou no mínimo 48 horas. A seguir, a suspensão foi vertida para um crivo de 38 µm (400

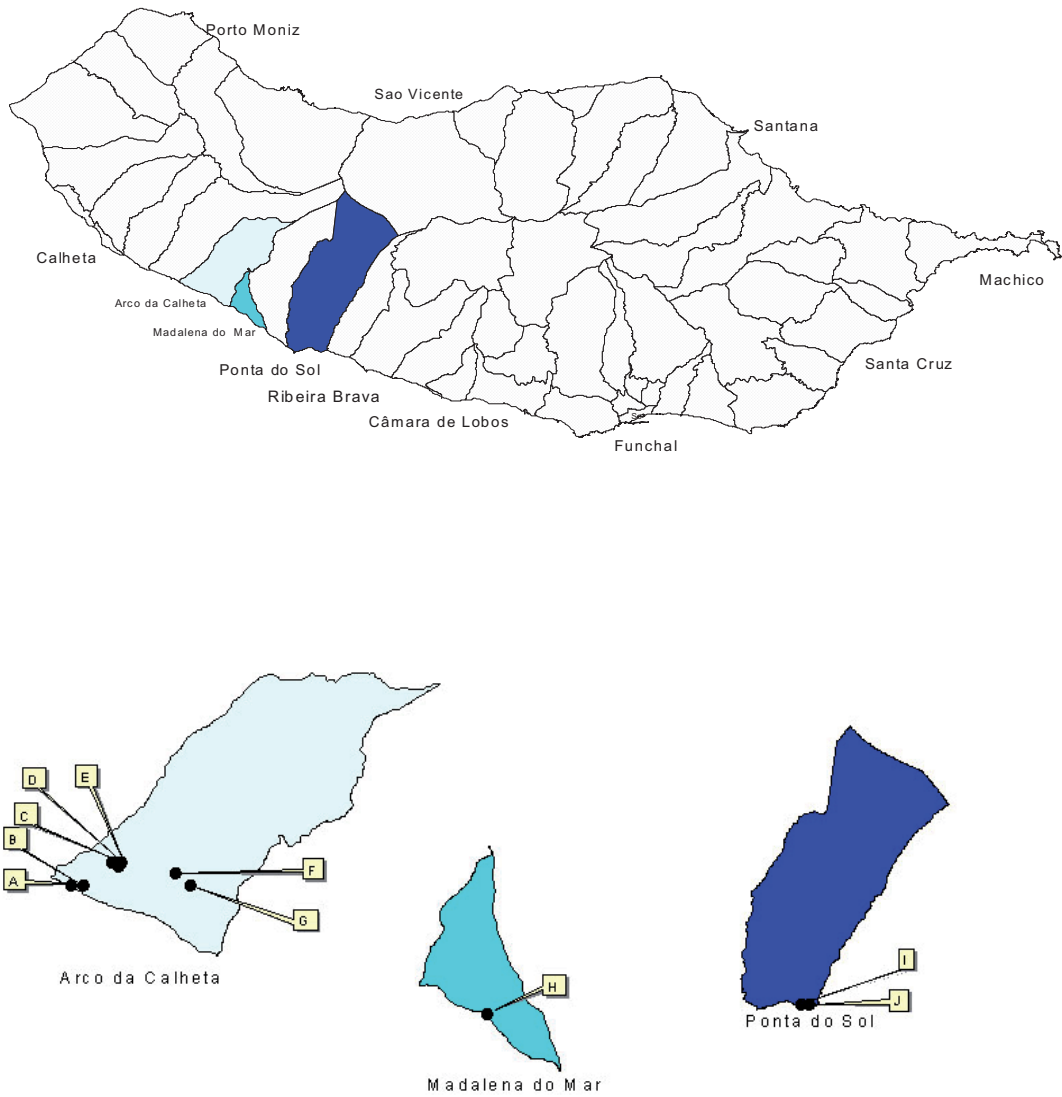


Figura 1- Locais de colheita das amostras de solo e raízes de bananeira. Mapa Ilha da Madeira (Escala 1:6500); Arco da Calheta (Escala 1:1000); Madalena do Mar (Escala 1:700) e Ponta do Sol (Escala 1:800). Fonte: ArcView.

- A. B16;
- B. B17, B18, B19;
- C. B08, B09, B10, B11;
- D. B12, B13, B14, B15;
- E. B25, B26, B27;
- F. B20, B21, B22, B23;
- G. B24;
- H. B28;
- I. B04, B05, B06, B07;
- J. B01, B02, B03.

malhas/polegada), lavada com água corrente e os resíduos retidos no crivo transferidos para um copo de precipitação. Posteriormente, a suspensão foi observada, numa placa de Doncaster, ao microscópio estereoscópico.

A identificação dos isolados foi feita no “Istituto per la Protezione delle Piante, sezione di Bari”, Itália.

Tabela 1- Número de isolados de *Pratylenchus goodeyi* obtidos a partir de 28 amostras de solo e raízes de bananeira.

| Amostra | Local colheita | Cultivar | Nº de Isolados | | | |
|--------------------|-------------------------------|-----------------|----------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | 1ª colheita | 2ª colheita | 3ª colheita | 4ª colheita |
| B01, B02, B03 | Lugar de Baixo, Ponta do Sol | Grande anã | 1 | 4 | 1* | |
| B04, B05, B06, B07 | Lugar de Baixo, Ponta do Sol | Gruesa + Ricasa | 1 | 1 | 6 | 4* |
| B08, B09, B10, B11 | Massapez, Arco da Calheta | Grande anã | 2 | 3 | 4 | 4* |
| B12, B13, B14, B15 | Massapez, Arco da Calheta | Grande anã | 2 | 1 | 2 | 5* |
| B16 | Arco da Calheta | Grande anã | 2 | | | |
| B17, B18, B19 | Arco da Calheta | Grande anã | 2 | 4 | 4 | |
| B20, B21, B22, B23 | Corujeira, Arco da Calheta | Grande anã | 2 | 1 | 1 | 2* |
| B24 | Arco da Calheta | Grande anã | 1 | | | |
| B25, B26, B27 | Massapez, Arco da Calheta | Grande anã | 5 | 5 | 3* | |
| B28 | Madalena do Mar, Ponta do Sol | Grande anã | 6 | | | |

* Isolados em que os nemátodes foram esterilizados com antibiótico (estreptomicina sulfato).

2.3.2 Multiplicação dos isolados de *Pratylenchus goodeyi*

Dos isolados de *P. goodeyi* obtidos (Tabela 1), 19 foram multiplicados em laboratório em discos de cenoura (*Daucus carota* L.), de acordo com o descrito por De Waele e Elsen (2002). A preparação dos discos de cenoura e a esterilização dos nemátodes, foi executada numa câmara de fluxo laminar vertical, de modo a prevenir possíveis contaminações. Usou-se água destilada esterilizada e todo o material utilizado foi desinfetado com álcool a 70 % ou autoclavado.

2.3.2.1 Preparação dos discos de cenoura

Os discos de cenoura foram obtidos a partir de uma cenoura grande e sã. A cenoura, depois de lavada em água corrente e sabão, foi mergulhada em álcool a 90 %, durante 15 a 20 minutos. A seguir, foi passada à chama de uma lamparina e a epiderme retirada, tendo o cuidado

de flamejar a faca após cada corte. A cenoura foi cortada em discos, com 4 a 5 cm de diâmetro e 0,5 cm de espessura, que foram colocados em placas de Petri esterilizadas e seladas com parafilme. Em seguida, as placas de Petri com um disco de cenoura por placa foram colocadas em caixas de plástico hermeticamente fechadas, na estufa de incubação refrigerada a 10° C, até serem inoculadas com os nemátodes (Fig. 2).

Uma vez que a percentagem de contaminação dos discos de cenoura inoculados com os nemátodes foi de início muito elevada constatou-se a necessidade de proceder à esterilização dos nemátodes.

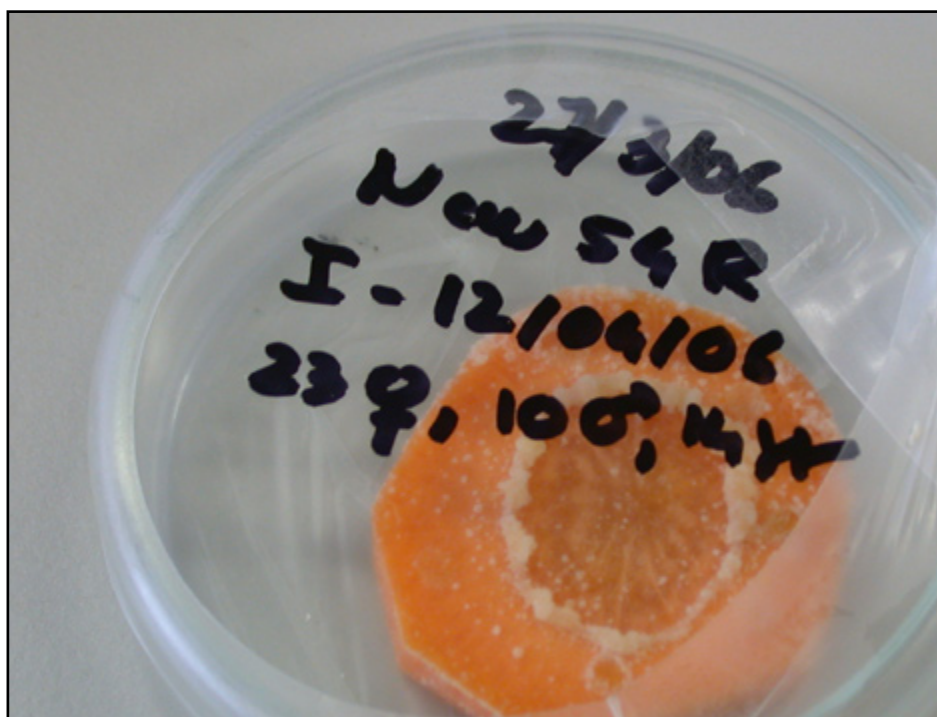


Figura 2- Disco de cenoura após a inoculação de *Pratylenchus goodeyi*.

2.3.2.2 Esterilização dos nemátodes

Os nemátodes foram esterilizados apenas com o antibiótico estreptomicina sulfato (6 mg/ml) na tentativa de não os sujeitar a uma pressão muito elevada.

Dos nemátodes obtidos em 2.3.1, seleccionaram-se aproximadamente 80 fêmeas por isolado que foram transferidas, uma a uma, primeiro para uma siracusa com 2 ml de água destilada esterilizada e depois para um tubo de ensaio esterilizado com tampa com 2 ml de água destilada esterilizada (De Waele & Elsen, 2002).

Num tubo de ensaio esterilizado preparou-se uma solução aquosa de estreptomicina sulfato (6 mg/ml), e adicionou-se 1 ml desta solução aos tubos de ensaio que continham os nemátodes (Peng & Moens, 1999). Esta solução actuou toda a noite sobre os nemátodes.

No dia seguinte, com a ajuda de uma micropipeta esterilizada, retirou-se o sobrenadante. O sedimento constituído pelos nemátodes foi lavado duas a três vezes com água destilada esterilizada. Os nemátodes foram transferidos, com uma micropipeta esterilizada, do tubo de ensaio para uma siracusa e colocados, com uma microseringa esterilizada, na margem de um disco de cenoura. As placas de Petri foram seladas com parafilme e colocadas em caixas de plástico hermeticamente fechadas, para evitar contaminações, numa estufa de incubação, a uma temperatura de 25°-26° C, durante 2 a 3 meses.

2.3.2.3 Extracção dos nemátodes dos discos de cenoura

Após o período de incubação (2 a 3 meses), alguns dos nemátodes foram extraídos adicionando 5ml de água destilada esterilizada a cada placa de Petri. Os nemátodes migraram do disco para a água, tendo sido colhidos após 24 horas. Os que permaneceram no interior dos tecidos vegetais foram extraídos utilizando a técnica da maceração e crivagem (Abrantes *et al.*, 1976; Hooper, 1986), em 30 segundos, divididos por períodos de 10 segundos, com 5 segundos de intervalo entre cada período (De Waele & Elsen, 2002). A suspensão obtida foi passada por um crivo de 75 µm (200 malhas/polegadas) e duas vezes por um de 38 µm, previamente esterilizados com álcool a 70 %. Os resíduos do disco de cenoura ficaram retidos no primeiro crivo e foram eliminados. Os nemátodes retidos no crivo de 38 µm foram transferidos para um copo esterilizado. O número de nemátodes foi determinado a partir da observação, ao microscópio estereoscópico, em 6 ml de suspensão total (150 ml) (Pinochet *et al.*, 1995).

Em virtude do número de nemátodes, obtidos nas culturas em discos de cenoura, não ter sido suficiente para realizar os ensaios e devido às limitações de tempo, optou-se por utilizar, como fonte de inóculo, *P. goodeyi* extraídos de raízes de bananeiras infectadas, colhidas nos campos do Centro de Bananicultura onde esta espécie foi identificada.

2.3.3 Extracção de *Pratylenchus goodeyi* de raízes de bananeira infectadas

Os nemátodes utilizados como inóculo, para as diferentes experiências, foram então extraídos de raízes de bananeiras infectadas segundo o método da maceração e crivagem (Abrantes *et al.*, 1976; Hooper, 1986), utilizando a maior quantidade possível de raízes, até a mistura nemátodes e água destilada esterilizada atingir o volume total de 150 ml procedendo-se depois à contagem dos nemátodes (ver 2.3.1).

2.4. Patogenicidade de *Pratylenchus goodeyi* a *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

Plantas de *S. sisymbriifolium* (n=10) e de *S. nigrum* (n=10) com cerca de 15 cm de altura obtidas a partir de sementes (ver 2.1.1), foram transferidas para vasos de plástico, com 2 litros de capacidade, com substrato esterilizado composto por turfa, areão e aparas de madeira decompostas, na proporção 1:1:1, ao qual foi adicionado adubo Floranid permanente na dose de 2 g/l. A seguir, 5 plantas de *S. sisymbriifolium* e 5 plantas de *S. nigrum* foram inoculadas com 4088 jovens e adultos de *P. goodeyi*/vaso (Fig. 3). Cinco plantas de cada espécie não foram inoculadas, a fim de se verificar a esterilidade do substrato. As plantas foram colocadas numa câmara de crescimento e germinação com temperatura entre 19-25° C, fotoperíodo de 14 horas e humidade relativa estabilizada a $\pm 50\%$. As plantas foram regadas, sempre que necessário.



Figura 3- Inoculação de 4088 jovens e adultos de *Pratylenchus goodeyi* em *Solanum nigrum*.

Quarenta dias após a inoculação, tomou-se a decisão de encurtar o ensaio, previsto inicialmente para dois meses, devido ao aparecimento dos fungos *Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp. no substrato e nas raízes das plantas. As plantas foram desvasadas, as raízes lavadas e pesadas. Para a determinação da população final, procedeu-se à extracção e contagem dos nemátodes do substrato (250 cm³) e das raízes como descrito anteriormente (ver 2.3.1). O factor de reprodução (Rf) foi calculado a partir da expressão $Rf = Pf/Pi$ em que Pf corresponde à

população final de jovens, machos e fêmeas e P_i à população inicial (Nico *et al.*, 2003). O peso da parte aérea e das raízes das plantas foi também registrado.

2.5 Incorporação de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* em bananeiras envasadas inoculadas com *Pratylenchus goodeyi*

As bananeiras obtidas por cultura *in vitro* (ver 2.1.2.), colocadas nos vasos de plástico com 30 litros de capacidade com solo franco-argiloso esterilizado, foram mantidas ao ar livre no Centro de Bananicultura, adubadas com Guanito (6-15-3), uma vez no Verão, na dose aproximada de 0,357 Kg/m² e regadas sempre que necessário.

Foram avaliados oito tratamentos com cinco repetições por tratamento:

1. Testemunha-Planta; 2. Testemunha-Planta+Nemátode; 3. Planta+Nemátode+*S. sisymbriifolium* (raízes); 4. Planta+Nemátode+*S. sisymbriifolium* (parte aérea); 5. Planta+Nemátode+*S. sisymbriifolium* (raízes e parte aérea); 6. Planta+Nemátode+*S. nigrum* (raízes); 7. Planta+Nemátode+*S. nigrum* (parte aérea); 8. Planta+Nemátode+*S. nigrum* (raízes e parte aérea).

A testemunha-Planta (tratamento 1) permitiu avaliar a esterilidade do substrato e a testemunha-Planta+Nemátode (tratamento 2) a viabilidade do inóculo.

As plantas dos tratamentos 2 a 8 foram inoculadas com jovens e adultos de *P. goodeyi* uma vez por semana, durante quatro semanas, num total de 2000 nemátodes/vaso (Fig. 4 A). Por cada inoculação de nemátodes o volume adicionado foi de 10 ml, adicionando também 10 ml de água destilada esterilizada às plantas do tratamento 1 (plantas que não foram inoculadas com nemátodes). Os poucos nemátodes obtidos dos discos de cenoura foram inoculados todos na mesma réplica da testemunha com nemátodes (tratamento 2).

A incorporação das partes vegetativas das plantas de *S. sisymbriifolium* e de *S. nigrum* no solo ocorreu, aproximadamente, dois meses depois da inoculação dos nemátodes. Após a determinação do peso das plantas e da proporção raiz/parte aérea/planta, o material foi triturado e incorporado no solo, previamente humedecido, nas quantidades seguintes: 85 g de raízes; 573 g de parte aérea (Fig. 4 B); e 480 g de raízes+parte aérea. Em relação à mistura raízes+parte aérea, 10 % do peso total correspondia ao peso de raízes. Nos primeiros dias, após a incorporação do material vegetal no solo, as plantas de bananeira foram regadas abundantemente de modo a evitar a libertação dos gases tóxicos, essenciais para a eficácia do método. Dois meses após a incorporação do material vegetal de *Solanum*, as plantas de bananeira foram removidas com cuidado. Os parâmetros de crescimento, incluindo a altura da planta, largura ao nível do pseudocaule, peso fresco da parte aérea e das raízes, foram registados.

A seguir, as raízes foram lavadas, cortadas em fragmentos com cerca de 1 cm e os nemátodes extraídos de uma amostra de 15 g de raízes, num volume de 150 ml de água (De Waele & Elsen, 2002) e quantificados (ver 2.3.3). Algumas raízes foram coradas com fucsina

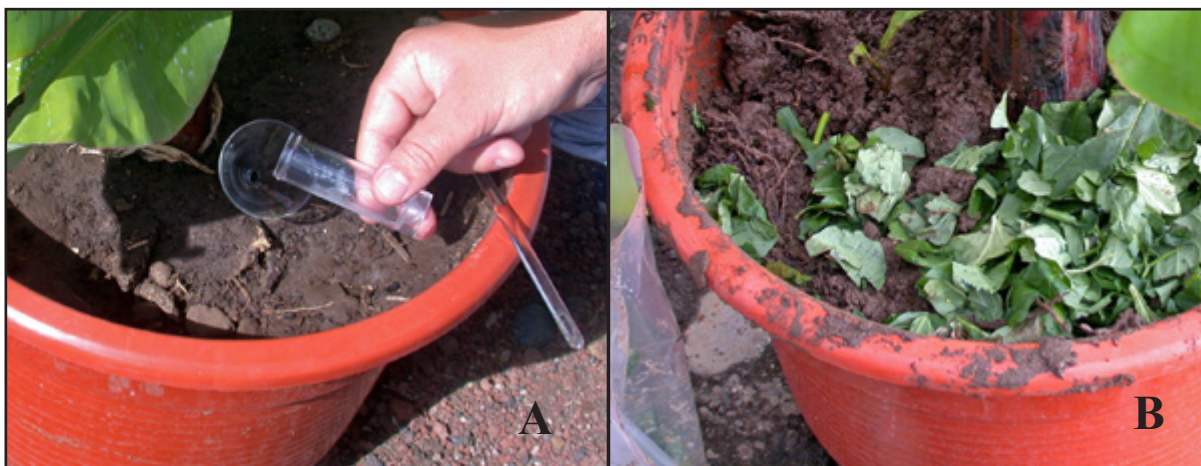


Figura 4- Incorporação no solo de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* em bananeiras em vaso inoculadas com *Pratylenchus goodeyi*.

A. Inoculação de 2000 jovens e adultos de *P. goodeyi*;

B. Incorporação de parte aérea de *S. sisymbriifolium* 60 dias após a inoculação do nemátode.

ácida para detectar *P. goodeyi* (Byrd *et al.*, 1983). O número de nemátodes presentes no solo (ver 2.3.1) foi também calculado a partir de uma amostra de solo de 250 cm³/vaso para um volume de 25 ml e quantificado pela observação de alíquotas de 1 ml numa lâmina de contagem de Peters.

2.6 Obtenção dos extractos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

As plantas de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* foram obtidas a partir de sementes (ver 2.1.1.). As diferentes partes das plantas (raízes, parte aérea e raízes+parte aérea) foram lavadas e, cada uma destas partes foi submetida, separadamente, ao procedimento que a seguir se descreve. As diferentes partes foram cortadas em pedaços de 0,5 a 1 cm. Posteriormente, adicionou-se 100 ml de água destilada a 25 g de cada parte, deixando ficar à temperatura ambiente, durante 24 horas, tempo considerado suficiente para que os princípios activos tenham solubilizado, após o que foram homogeneizadas. As soluções resultantes foram consideradas como contendo 100 % da parte vegetal (concentração de 250 mg/ml) e foram feitas diluições 1:10 e 1:20 obtendo-se as concentrações 25 mg/ml e 12,5 mg/ml, respectivamente, pela adição de água destilada esterilizada (Khurma & Mangotra, 2004). As soluções foram centrifugadas, durante 10 minutos, a 2400 g e filtradas por meio de papel de filtro Whatman n.º1. As soluções foram mantidas a -20° C até à sua utilização.

2.6.1. Determinação da mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* nos extractos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

Com o auxílio de uma pestana, colocada na extremidade de um estilete, transferiram-se 15 nemátodes para cada siracusa com 1 ml das diferentes concentrações dos extractos das raízes+parte aérea, ou da parte aérea, ou das raízes de *S. sisymbriifolium* e de *S. nigrum*. A água destilada serviu como testemunha. Foram feitas 5 repetições das concentrações de cada um dos extractos e da testemunha (Insunza *et al.*, 2001). As siracusas foram colocadas no escuro, à temperatura ambiente. As contagens do número de nemátodes mortos foram efectuadas, ao microscópio estereoscópico, todos os dias, durante 30 dias. Os nemátodes foram considerados mortos se, após estimulação por toque, não apresentavam qualquer movimento e se mantinham imóveis durante 2 horas. Uma vez por semana adicionou-se, a cada siracusa, 1 ml da respectiva solução conservada numa câmara de refrigeração aproximadamente a 10° C.

A mortalidade registada foi convertida em mortalidade cumulativa e corrigida pela Fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

$$\text{Mortalidade cumulativa (\%)} = \frac{\text{Me} - \text{Mt}}{100 - \text{Mt}} \times 100,$$

em que Me representa a percentagem de mortalidade ocorrida nas diferentes concentrações do extracto e Mt a percentagem de mortalidade ocorrida na testemunha.

2.7 Análise estatística

2.7.1 Incorporação de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* em bananeiras com *Pratylenchus goodeyi*

Os valores obtidos da incorporação de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* no solo em vasos com bananeiras inoculadas com *P. goodeyi* foram analisados estatisticamente através do programa “SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 14.0 for Windows”, constatando-se a presença de um conjunto de dados normais pelo teste de Levene, utilizado por ser um dos testes mais potentes para verificar a homogeneidade de variâncias, sendo particularmente robusto a desvios da normalidade (Maroco, 2003). Foi aplicada uma ANOVA para verificar a existência de diferenças entre tratamentos e as médias dos valores obtidos foram comparadas através do teste de Fisher-LSD (Least Significant Differences) para um nível de significância $p < 0,05$.

2.7.2 Mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* em extractos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

Os valores obtidos para a mortalidade (médias de cinco valores) foram sujeitos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk, para verificar se a distribuição dos dados era normal através do programa “SPSS 14.0 for Windows”. Constatando-se a presença de dados não normais, os valores foram transformados em $\log(x+1)$ de modo a normalizar a distribuição e homogeneizar as variâncias (Maroco, 2003). Posteriormente, foi feita uma ANOVA para determinar a existência de diferenças significativas entre tratamentos e realizado o teste de Tukey para comparação múltipla de médias e determinar as que eram significativamente diferentes para um nível de significância $p < 0,05$ (Maroco, 2003).

3. Resultados

3.1 *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

A sementeira e posterior desenvolvimento das plantas de *S. sisymbriifolium* foram uniformes, o mesmo não aconteceu com as plantas de *S. nigrum* que apresentaram uma germinação e um desenvolvimento mais irregulares, como seria de esperar, uma vez que não provieram de sementes seleccionadas. No entanto, após as primeiras fases de crescimento, as plantas de *S. nigrum* tornaram-se mais vigorosas e iniciaram a floração rapidamente.

As plantas de *S. sisymbriifolium* começaram a apresentar sintomatologia nas folhas, semelhante à provocada por fungos e em alguns casos, umas descolorações, anéis, mosaicos e enrolamento das folhas que fizeram suspeitar da presença de um vírus (Fig. 5 A e B). Foram feitas análises laboratoriais pela Divisão de Protecção das Culturas do Laboratório de Qualidade Agrícola para determinar a origem do problema, mas os resultados para vírus, bactérias e fungos não foram conclusivos.

A sintomatologia continuou a espalhar-se nas plantas de *S. sisymbriifolium*, em estufa, verificando-se a existência de sintomas na página inferior e superior das folhas muito semelhantes aos causados pela presença de fungos fitopatogénicos, nomeadamente oídio (Fig. 5 C). Uma vez que o problema não diminuía de intensidade, optou-se por fazer uma aplicação por pulverização de enxofre molhável na dose 200-400 g/hl indicado como preventivo e curativo para oídio em tomateiro. No entanto, a repetição das análises micológicas efectuadas pela Divisão de Protecção das Culturas do Laboratório de Qualidade Agrícola deu resultado negativo. Posteriormente, como as plantas não recuperaram, foram transferidas para o Laboratório de Qualidade Agrícola, uma vez que no final do Verão de 2006 as temperaturas elevadas verificadas tornaram-se incompatíveis com o desenvolvimento saudável das plantas nas estufas do centro de Floricultura (Fig. 5 D).

Desta forma, conseguiu-se controlar o aparecimento da sintomatologia referida anteriormente, mas algumas plantas tiveram de ser eliminadas, assim como todas as folhas com sintomas, perdendo-se biomassa que foi determinante na quantidade de material vegetal incorporado nos vasos com bananeiras (ver 2.5).

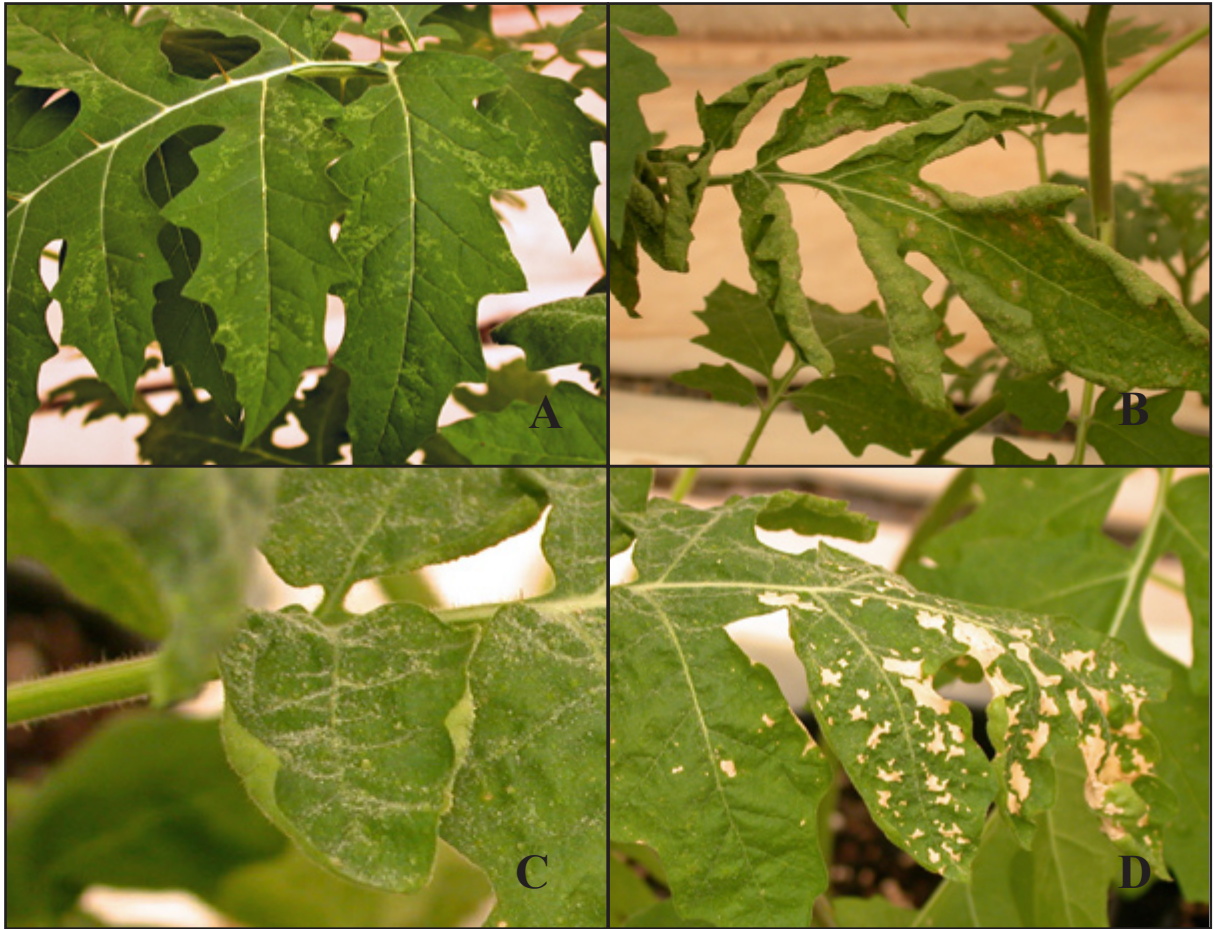


Figura 5- Aparecimento de sintomatologia de doença em *Solanum sisymbriifolium*.

- A. Mosaicos nas folhas semelhantes aos provocados por vírus;
- B. Enrolamento das folhas semelhante ao provocado por alguns vírus;
- C. Micélio branco na página superior das folhas de *S. sisymbriifolium*;
- D. Morte dos tecidos mais afectados.

3.2 Caracterização do solo

A análise efectuada ao solo (Anexo 1) mostrou que o pH era 7,5 com teor médio/alto em matéria orgânica (6,36 %) e os valores de fósforo e potássio assimilável eram altos, 1740 ppm e 1848 ppm, respectivamente. A partir da análise textural verificou-se que o solo tinha 41,0 % de areia, 26,0 % de limo e 33,0 % de argila, sendo classificado como um solo franco-argiloso. Em relação ao conteúdo de azoto constatou-se que continha 30 ppm de nitratos e 4,5 ppm de azoto na forma amoniacal significando, *à priori*, que existia mais azoto na forma nítrica e, por isso, mais disponível para as plantas, mas simultaneamente de mais fácil lixiviação, quando comparado com o conteúdo de azoto na forma amoniacal, de menor disponibilidade para as plantas mas com maior capacidade de permanecer armazenado.

3.3 Identificação dos isolados de *Pratylenchus goodeyi*

Os isolados obtidos em 2.3.1, foram identificados como pertencentes à espécie *Pratylenchus goodeyi* (Cobb) Sher & Allen (1953) já detectada na região (Troccoli *et al.*, 1996). Nesta espécie, as fêmeas, com um comprimento de cerca de 650 μm (Fig.6 A), apresentam uma região labial alta com quatro anéis, estilete com cerca de 17 μm de comprimento (Fig. 6 B), espermateca oblonga, comprimento do saco pós-uterino igual à largura do corpo da fêmea na região da vulva (Fig. 6 C), terminação da cauda suave, dorsalmente sinuosa, terminus da cauda liso e arredondado (Fig. 6 D). Os machos são comuns (Loof, 1991).

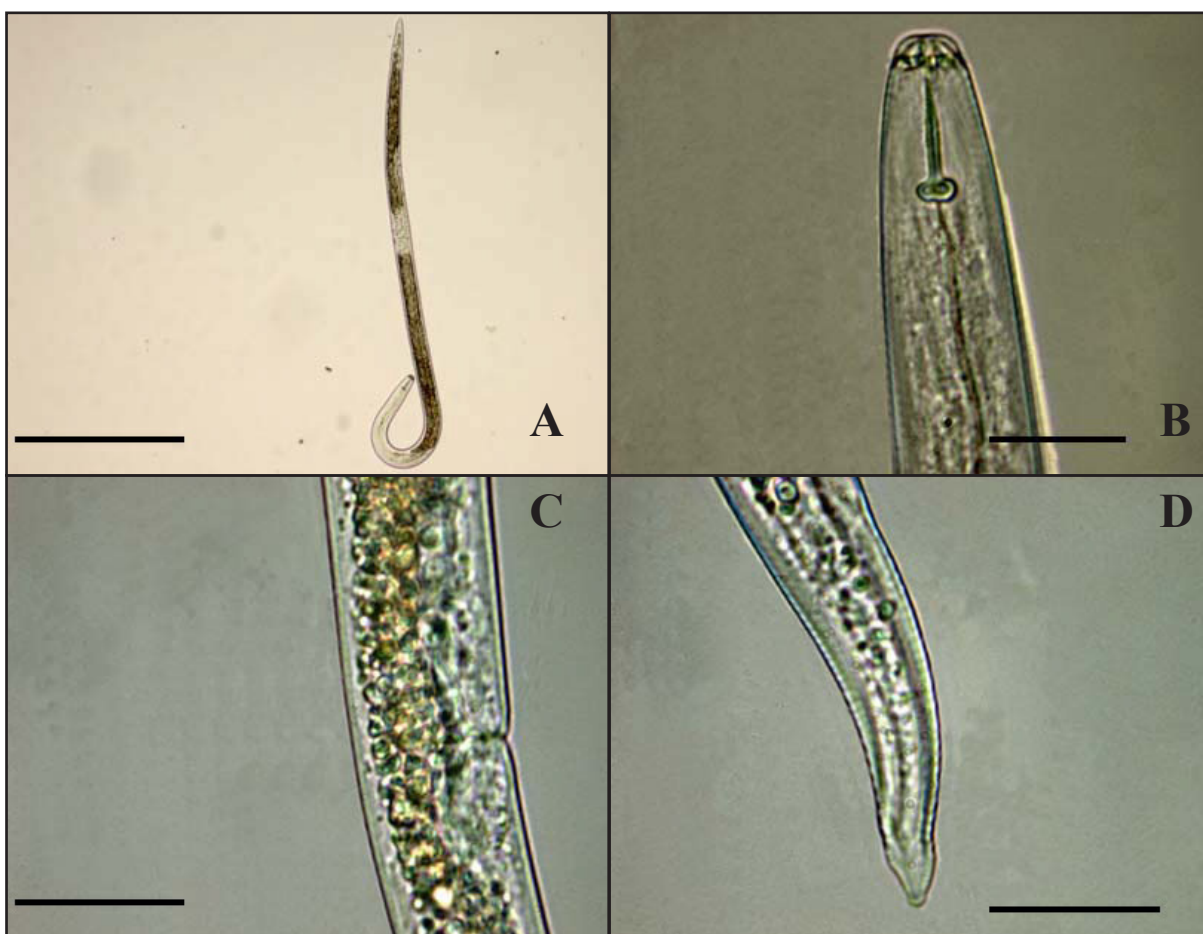


Figura 6- Fêmea de *Pratylenchus goodeyi*.

- A. Fêmea, barra= 300 μm ;
- B. Cabeça, região labial e estilete, barra= 20 μm ;
- C. Região vulvar, barra= 20 μm ;
- D. Cauda , barra= 15 μm

3.4 Multiplicação dos isolados de *Pratylenchus goodeyi*

Os discos de cenoura inoculados com *P. goodeyi* apresentaram de início uma percentagem de contaminação muito elevada, causada por bactérias *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Berger *et al.* (Fig.7 A) e fungos *Penicillium* sp. Algumas placas de Petri apresentaram discos com os tecidos desidratados e após extracção verificou-se que não continham nemátodes. Apenas alguns nemátodes provenientes da primeira inoculação nos discos foram re-inoculados em novos discos até serem transferidos para as plantas de bananeira. Os nemátodes extraídos de discos de cenoura, em tempo de poderem ser inoculados nas plantas de bananeira, foram em número reduzido e, por isso, colocados numa única réplica do tratamento testemunha com nemátodes, num total de 243 nemátodes, entre jovens e adultos. Os restantes nemátodes foram obtidos de extracções directas das raízes (ver 2.3.3). Das culturas efectuadas (ver 2.3.1), quinze discos de cenoura encontram-se ainda na estufa de incubação (Fig. 7 B).

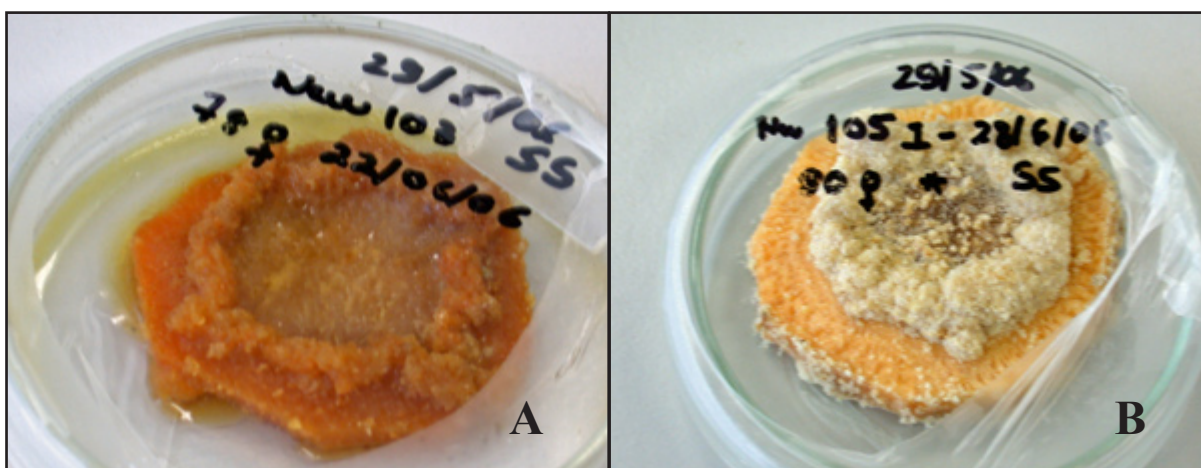


Figura 7- Multiplicação de *Pratylenchus goodeyi* em discos de cenoura.

- A. Contaminação do disco de cenoura por bactérias *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* aproximadamente 60 dias após a inoculação do nemátode;
- B. Aspecto de um disco de cenoura aproximadamente 120 dias após inoculação de 80 fêmeas esterilizadas com estreptomicina sulfato.

3.5 Patogenicidade de *Pratylenchus goodeyi* a *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

Em relação à determinação da reacção de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* ao nemátode *P. goodeyi*, verificou-se que não existiram diferenças para o factor de reprodução do nemátode. Os valores do factor de reprodução foram muito baixos para ambas as espécies ($R_f=0,001\pm 0,001$) (R_f médio \pm DP, para $n=5$) o que poderá ser um indicativo da não susceptibilidade destas plantas a *P. goodeyi* (Tabela 2). Assim, existem fortes indicações para o facto destas plantas não serem hospedeiras do nemátode, ou pelo menos, serem hospedeiros pobres.

Relativamente ao peso da parte aérea e das raízes e à altura de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum*, não se observaram grandes diferenças entre as plantas inoculadas com *P. goodeyi* e as plantas não inoculadas devido aos sintomas que surgiram resultantes da infecção por fungos e que não permitiram estabelecer qualquer relação (Fig. 8).

Tabela 2- Factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi* em *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*, 40 dias após a inoculação com uma densidade populacional inicial (Pi) de 4088 jovens e adultos do nemátode/planta.

| Planta | Rf | | | | | | Média | DP |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | | | |
| <i>S. sisymbriifolium</i> | 0,0018 | 0,0000 | 0,0015 | 0,0012 | 0,0007 | 0,0010 | 0,0006 | |
| <i>S. nigrum</i> | 0,0020 | 0,0012 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0024 | 0,0014 | 0,0007 | |

Rf = Pf/Pi (População final/população inicial)

R- Repetições

DP- desvio padrão



Figura 8- Patogenicidade de *Pratylenchus goodeyi* a *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*.

- A. Cloroses e murchidão visíveis na parte aérea de *S. nigrum* 40 dias após a inoculação de *P. goodeyi* que determinaram o encurtamento do ensaio;
- B. Ausência de lesões necróticas nas raízes de *S. nigrum* 40 dias após a inoculação de *P. goodeyi*, a) planta infectada por *Phythophora* sp. e *Fusarium* sp.;
- C. Ausência de lesões necróticas nas raízes de *S. sisymbriifolium* 40 dias após a inoculação de *P. goodeyi*.

3.6 Efeito da incorporação de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* no solo em vasos de bananeira com *Pratylenchus goodeyi*

Como resultado da incorporação das espécies de *Solanum* nos vasos de bananeira verificou-se que o desenvolvimento apresentado pelas plantas de bananeiras, previamente inoculadas com *P. goodeyi* e nas quais foi incorporada no solo *S. sisymbriifolium* (tratamentos 3, 4 e 5) não diferia muito do encontrado nas plantas cujo o solo foi incorporado com *S. nigrum* (tratamentos 6, 7 e 8) nem das testemunhas-planta+nemátodes (tratamento 2) e planta sem nemátodes (tratamento 1). A maior diferença foi observada a nível radicular, em que não foram detectadas necroses nas raízes das plantas do tratamento 1 ao contrário dos outros tratamentos (Fig. 9). Nas suspensões, obtidas a partir das amostras do solo e das raízes das plantas do tratamento 1 também não foram detectados nemátodes fitoparasitas.



Figura 9- Efeito da incorporação de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* no solo de vasos de bananeira inoculados com *Pratylenchus goodeyi*.

- A. Raízes de bananeira com algumas lesões necróticas causadas por *P. goodeyi*;
- B. *P. goodeyi* em raízes de bananeira coradas com fucsina ácida, barra= 50 µm.

3.6.1 *Solanum sisymbriifolium*

O teste de Levene realizado para os parâmetros de crescimento e factor de reprodução resultantes dos tratamentos em que houve incorporação de *S. sisymbriifolium* mostrou a presença de um conjunto homogêneo de dados para $p > 0,05$ (Apêndice 1- Tabela 1).

A ANOVA a um factor aplicada aos valores do crescimento das plantas de bananeira, em que o solo foi incorporado com *S. sisymbriifolium*, mostrou não existirem diferenças significativas entre o peso da parte aérea e o das raízes (Tabela 3) (Apêndice 1- Tabela 2).

Tabela 3 – Efeito de *Solanum sisymbriifolium* no crescimento das plantas de bananeira 4 meses após a inoculação de 2000 *Pratylenchus goodeyi*/planta.

| Tratamento | Bananeira | | | |
|--|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | Peso parte aérea (g) | Peso raiz (g) | Altura (cm) | Largura (cm) |
| 1 Testemunha-planta | 894 ^a | 1896,0 ^a | 46,8 ^{ac} | 7,02 ^{ab} |
| 2 Testemunha-planta+nemátode | 1022 ^a | 1823,6 ^a | 42,1 ^a | 6,70 ^b |
| 3 Planta+nemátode+raízes | 1174 ^a | 1794,0 ^a | 52,8 ^b | 7,56 ^a |
| 4 Planta+nemátode+parte aérea | 1124 ^a | 1710,0 ^a | 49,8 ^{bc} | 7,52 ^a |
| 5 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1022 ^a | 1786,0 ^a | 46,0 ^{ac} | 7,46 ^a |

Os valores são médias de 5 repetições.

Valores na mesma coluna seguidos com a mesma letra não diferem significativamente segundo teste de Fisher (LSD) para um nível de significância $p < 0,05$.

Relativamente à altura das plantas o Teste de Fisher LSD permitiu encontrar diferenças significativas (Tabela 3) (Apêndice 1- Tabela 3), para um nível de significância $p < 0,05$, entre: a testemunha com *P. goodeyi* (tratamento 2) e as plantas de bananeira em que as raízes ou a parte aérea foram incorporadas no solo (tratamentos 3 e 4); as plantas de bananeira em que as raízes+parte aérea foram incorporadas no solo (tratamento 5) e aquelas em que as raízes foram incorporadas no solo; e estas últimas e a testemunha sem nemátodes (tratamento 1). As plantas da testemunha com *P. goodeyi* (tratamento 2) foram em média mais pequenas que as dos restantes tratamentos enquanto as do tratamento 3 (raízes de *S. sisymbriifolium* incorporadas no solo) foram as que atingiram a maior altura (Tabela 3).

Também a análise da largura ao nível do pseudocaule mostrou haver diferenças significativas entre a testemunha com *P. goodeyi* (tratamento 2) e as plantas de bananeira em que as raízes+parte aérea ou a parte aérea ou as raízes foram incorporadas no solo (Apêndice 1- Tabela 4).

Os valores do factor de reprodução (Rf) do nemátode foram inferiores a 1 em todos os tratamentos, tendo sido superior na testemunha com nemátodes (tratamento 2) (Fig. 10) (Apêndice 1- Tabela 5). Foram detectadas diferenças significativas entre as plantas inoculadas com *P. goodeyi* (tratamento 2) e as plantas em que *S. sisymbriifolium* foi incorporado no solo (tratamentos 3, 4 e 5). No tratamento 1 (planta sem nemátodes) não foi detectada a presença de nemátodes e, por isso, este tratamento não foi incluído no tratamento estatístico do Rf.

O teste de Fisher LDS mostrou não existirem diferenças significativas entre o peso da parte aérea e das raízes das bananeiras em que o solo foi incorporado com raízes, parte aérea e parte aérea+raízes e as testemunhas (Apêndice 1- Tabelas 6 e 7).

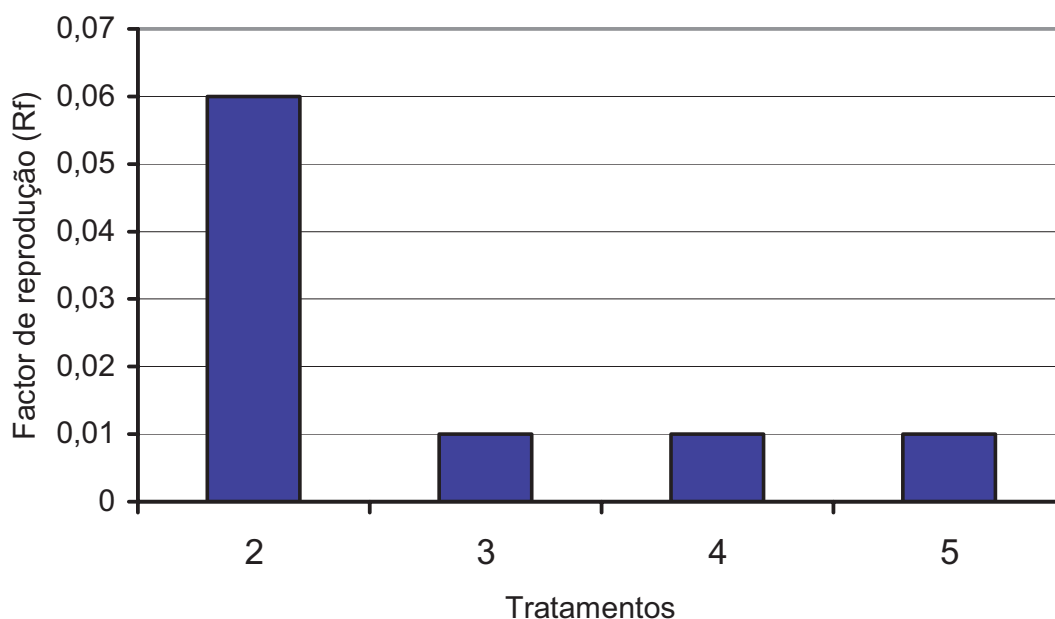


Figura 10- Factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi* nas plantas de bananeira, em que *Solanum sisymbriifolium* foi incorporada no solo, 4 meses após a inoculação com uma densidade populacional inicial de 2000 nemátodes/planta. Tratamentos: 2 Testemunha (planta+nemátode); 3 Planta+nemátode+raízes; 4 Planta+nemátode+parte aérea e 5 Planta+nemátode+parte aérea e raízes (n=5, p < 0,05).

3.6.2 *Solanum nigrum*

Os dados dos parâmetros de crescimento das plantas de *S. nigrum* encontram-se resumidos na Tabela 4. Pelo teste de Levene concluiu-se que os dados obtidos são normais para $p > 0,05$ (Apêndice 2- Tabela 1). A ANOVA a um factor mostrou existirem diferenças significativas apenas para a altura da planta (Tabela 4) (Apêndice 2-Tabela 2).

Tabela 4– Efeito de *Solanum nigrum* no crescimento das plantas de bananeira 4 meses após a inoculação de 2000 *Pratylenchus goodeyi*/planta.

| Tratamento | Bananeira | | | |
|--|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | Peso parte aérea (g) | Peso raiz (g) | Altura (cm) | Largura (cm) |
| 1 Testemunha-planta | 894 ^a | 1894,0 ^a | 46,8 ^{ab} | 7,02 ^{ab} |
| 2 Testemunha-planta+nemátode | 1022 ^a | 1823,6 ^a | 42,1 ^b | 6,70 ^b |
| 6 Planta+nemátode+raízes | 1040 ^a | 1921,6 ^a | 52,6 ^c | 7,36 ^a |
| 7 Planta+nemátode+parte aérea | 1064 ^a | 1674,0 ^a | 51,2 ^{ac} | 7,46 ^a |
| 8 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 939 ^a | 1874,0 ^a | 50,0 ^{ac} | 7,00 ^{ab} |

Os valores são médias de 5 repetições

Valores na mesma coluna seguidos com a mesma letra não diferem significativamente segundo teste de Fisher (LSD) para um nível de significância $p < 0,05$.

Dentro de cada grupo, a análise efectuada através do Teste de Fisher LSD mostrou algumas diferenças significativas entre a altura das plantas de bananeira da testemunha com nemátodes (tratamento 2) e as plantas em que o solo foi incorporado com as diferentes partes de *S. nigrum* (tratamentos 6, 7 e 8). Foram ainda encontradas diferenças entre o tratamento 1 (testemunha sem nemátodes) e as plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com as raízes de *S. nigrum* (tratamento 6) (Apêndice 2- Tabela 3). Também neste caso, as plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com as raízes foram aquelas que atingiram maior altura (Tabela 4). Em relação à largura ao nível do pseudocaule verificou-se existirem diferenças pelo Teste de Fisher LSD, não detectadas pela ANOVA, apenas entre a testemunha com nemátodes e as plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com a parte aérea ou com as raízes (Tabela 4, Apêndice 2- Tabelas 2 e 4).

O factor de reprodução (Rf) de *P. goodeyi* nas plantas em que o solo foi incorporado com *S. nigrum* foi superior no tratamento 2 (testemunha com nemátodes) em relação aos outros tratamentos (Fig. 11). No entanto, o tratamento estatístico só mostrou diferenças significativas entre a testemunha com nemátodes (tratamento 2) e as plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com raízes+parte aérea de *S. nigrum* (tratamento 8) (Apêndice 2- Tabela 5). Contudo, o número total de nemátodes encontrado nestas plantas foi semelhante ao detectado nas plantas em que o solo foi incorporado com *S. sisymbriifolium*.

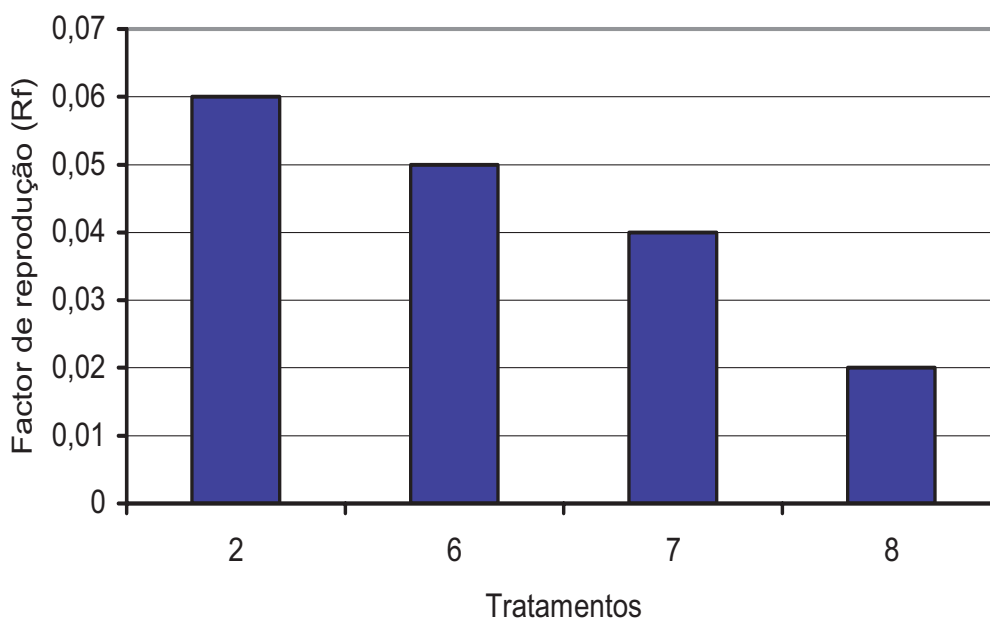


Figura 11– Factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi* nas plantas de bananeira, em que *Solanum nigrum* foi incorporada no solo, 4 meses após a inoculação com uma densidade populacional inicial de 2000 nemátodes/planta. Tratamentos: 2 Testemunha (planta+nemátode); 6 Planta+nemátode+raízes; 7 Planta+nemátode+parte aérea e 8 Planta+nemátode+parte aérea e raízes (n=5, p < 0,05).

Não foram encontradas diferenças significativas entre o peso da parte aérea e das raízes das plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com *S. nigrum* e os tratamentos 1 e 2 (Apêndice 2- Tabela 6 e 7).

3.7 Efeito dos extractos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*

3.7.1 *Solanum sisymbriifolium*

Ao fim de 10 dias os extractos aquosos de *S. sisymbriifolium* afectaram a mortalidade de *P. goodeyi* que atingiu valores entre 46,76 % para o extracto mais diluído e 100,00 % para o mais concentrado (Tabela 5). Após 20 dias, a mortalidade cumulativa foi superior em qualquer um dos extractos em relação à testemunha.

Tabela 5 – Efeito do extracto aquoso de raízes+parte aérea de *Solanum sisymbriifolium* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*.

| Extracto | Mortalidade cumulativa (%) | | | | | | |
|------------|----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Tempo (dias) | | | | | | |
| | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| Testemunha | 0,00±0,00 | 29,33±1,67 | 54,67±2,17 | 56,00±2,07 | 58,67±2,05 | 65,33±2,05 | 68,00±1,92 |
| 12,5 mg/ml | 2,67±0,55 | 30,67±1,67 | 46,67±2,34 | 50,67±1,67 | 66,67±0,71 | 69,33±0,55 | 76,00±1,14 |
| 25 mg/ml | 1,33±0,44 | 30,67±2,30 | 52,00±3,03 | 53,33±2,74 | 69,33±1,14 | 70,66±1,14 | 80,00±1,87 |
| 250 mg/ml | 1,33±0,45 | 30,67±2,79 | 100,00±0,00 | 100,00±,000 | 100,00±0,00 | 100,00±0,00 | 100,00±0,00 |

Os resultados são médias de 5 repetições±DP.

A eficiência dos extractos na mortalidade de *P. goodeyi* em relação à testemunha é dada pela mortalidade cumulativa corrigida pela fórmula de Abbott, sendo o extracto mais concentrado das raízes+parte aérea de *S. sisymbriifolium* o mais eficaz (Fig. 12).

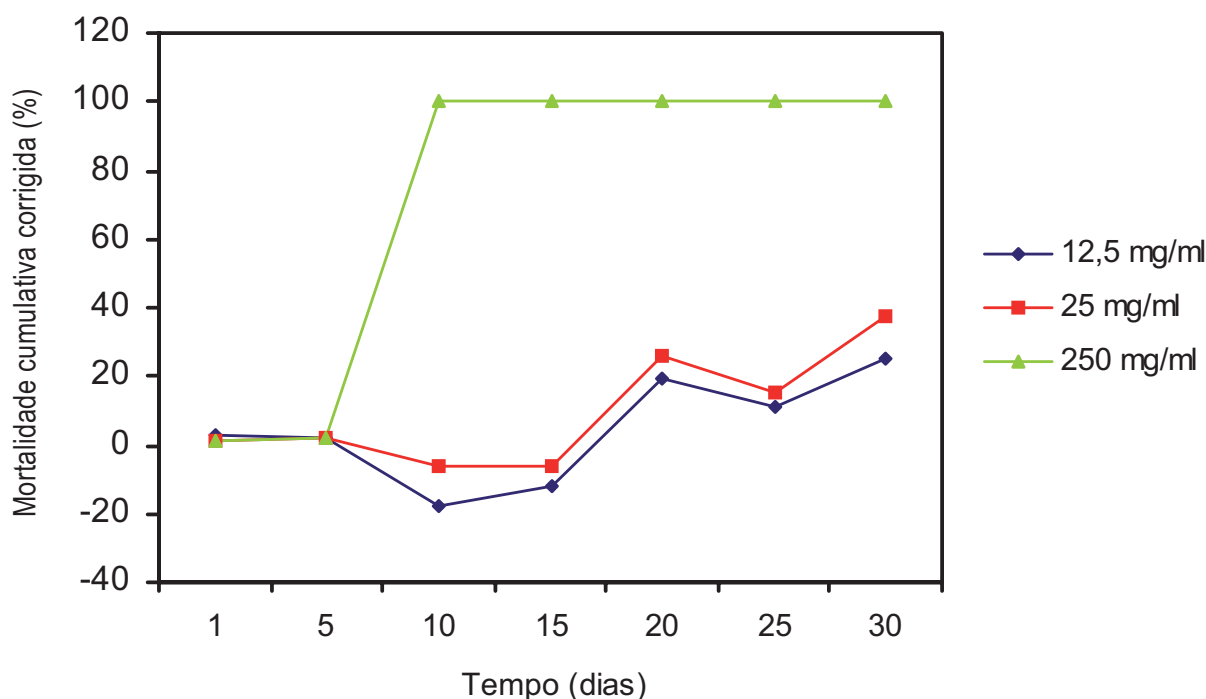


Figura 12- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de *Pratylenchus goodeyi*, durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso de raízes+parte aérea de *Solanum sisymbriifolium*.

A mortalidade cumulativa de *P. goodeyi* no extracto aquoso da parte aérea de *S. sisymbriifolium* foi superior na concentração 250 mg/ml relativamente à testemunha, atingindo 100,00 % ao fim de 10 dias. No entanto, após 30 dias, a mortalidade cumulativa de *P. goodeyi* foi superior na testemunha em relação às concentrações 12,5 mg/ml e 25 mg/ml (Tabela 6).

Tabela 6 – Efeito do extracto aquoso da parte aérea de *Solanum sisymbriifolium* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*.

| Extracto | Mortalidade cumulativa (%) | | | | | | |
|------------|----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Tempo (dias) | | | | | | |
| | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| Testemunha | 0,00±0,00 | 29,33±1,67 | 54,67±2,17 | 56,00±2,07 | 58,67±2,05 | 65,33±2,05 | 68,00±1,92 |
| 12,5 mg/ml | 0,00±0,00 | 25,33±1,64 | 37,33±1,67 | 45,33±1,30 | 53,33±1,00 | 56,00±0,89 | 57,33±1,14 |
| 25 mg/ml | 1,33±0,45 | 34,67±2,28 | 48,00±2,49 | 54,67±1,48 | 54,67±1,48 | 61,33±1,30 | 66,67±1,87 |
| 250 mg/ml | 8,00±0,84 | 37,33±0,55 | 100,00±0,00 | 100,00±0,00 | 100,00±0,00 | 100,00±0,00 | 100,00±0,00 |

Os resultados são médias de 5 repetições±DP.

A mortalidade cumulativa corrigida pela fórmula de Abbott de *P. goodeyi* nos extractos aquosos da parte aérea de *S. sisymbriifolium* mostrou que o extracto 250 mg/ml foi o mais eficaz (Fig. 13).

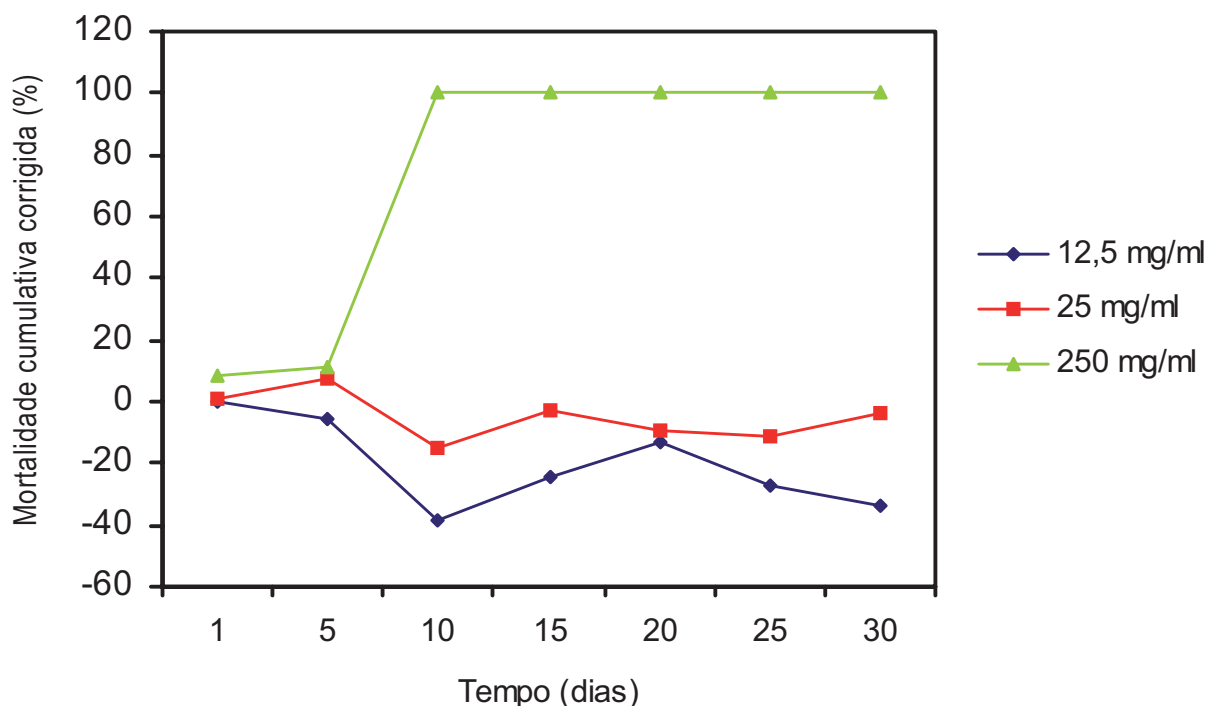


Figura 13- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de *Pratylenchus goodeyi*, durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso da parte aérea de *Solanum sisymbriifolium*.

A mortalidade cumulativa de *P. goodeyi* nos extractos das raízes de *S. sisymbriifolium* foi também mais elevada na concentração de 250 mg/ml quando comparada com a testemunha. Após 10 dias de exposição, a mortalidade do nemátode foi de 88,00 % e no final dos 30 dias de 92,00 %, valores inferiores aos verificados nos extractos das raízes+parte aérea e parte aérea para a mesma concentração (250 mg/ml) (Tabela 7).

Tabela 7 – Efeito do extracto aquoso das raízes de *S. sisymbriifolium* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*Os

| Extracto | Mortalidade cumulativa (%) | | | | | | |
|------------|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Tempo (dias) | | | | | | |
| | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| Testemunha | 0,00±0,00 | 29,33±1,67 | 54,67±2,17 | 56,00±2,07 | 58,67±2,05 | 65,33±2,05 | 68,00±1,92 |
| 12,5 mg/ml | 2,67±0,55 | 32,00±0,84 | 57,33±0,89 | 60,00±0,71 | 62,67±1,14 | 65,33±0,84 | 68,00±0,84 |
| 25 mg/ml | 5,33±0,45 | 35,00±2,36 | 56,67±3,78 | 60,00±2,83 | 63,33±2,56 | 68,33±2,06 | 76,67±2,30 |
| 250 mg/ml | 1,33±0,45 | 36,99±1,14 | 88,00±1,64 | 88,00±1,64 | 89,33±1,52 | 89,33±1,52 | 92,00±1,30 |

resultados são médias de 5 repetições±DP.

A eficácia do extracto mais concentrado das raízes de *S. sisymbriifolium*, na mortalidade de *P. goodeyi*, evidenciada pela mortalidade cumulativa corrigida pela fórmula de Abbott, foi superior quando comparada com a das concentrações 12,5 e 25 mg/ml (Fig. 14).

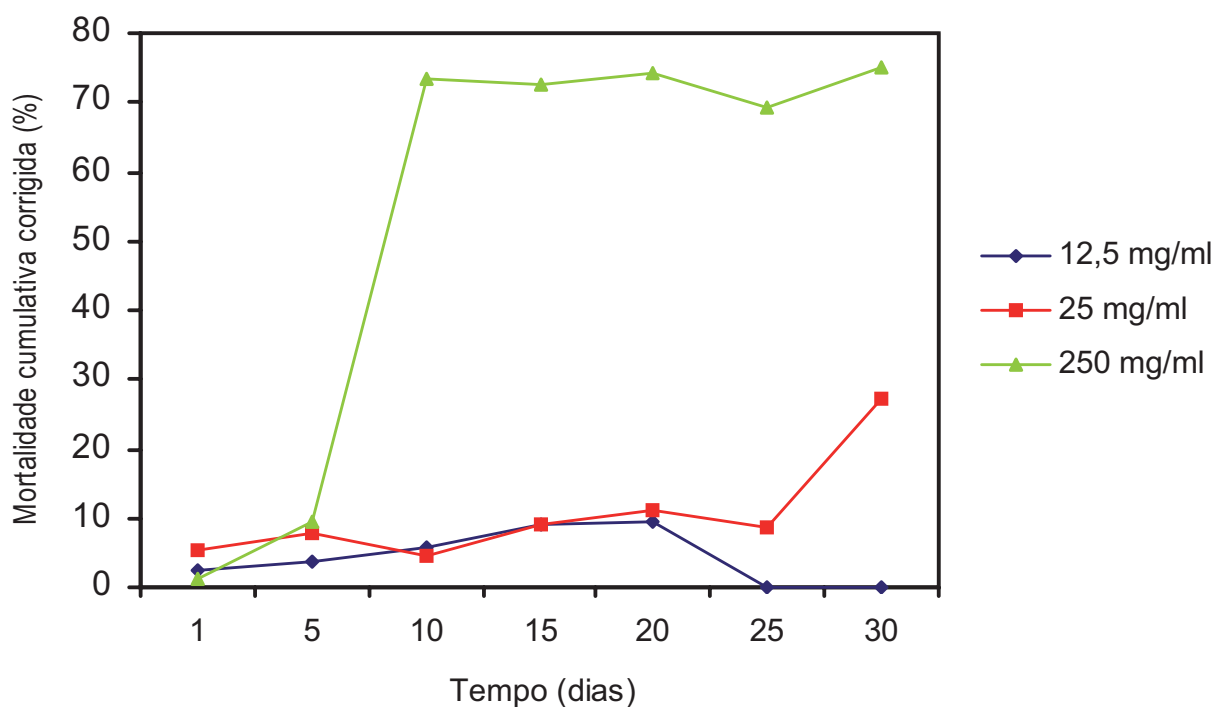


Figura 14- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de *Pratylenchus goodeyi*, durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso das raízes de *Solanum sisymbriifolium*.

Os valores obtidos para a mortalidade de *P. goodeyi* sujeitos a diferentes concentrações de extractos das raízes+parte aérea, da parte aérea e das raízes de *S. sisymbriifolium* não têm uma distribuição normal ($p < 0,05$) pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de Shapiro-Wilk produzido pelo SPSS (Tabela 8). Por este facto, os valores foram transformados em $\log(x+1)$, devido à elevada dispersão dos valores e de alguns deles serem iguais a zero, tendo sido realizada uma ANOVA a um factor para um nível de significância $p < 0,05$ (Tabela 9). Deste tratamento verificou-se que existem diferenças significativas da mortalidade cumulativa entre as diferentes partes das plantas testadas.

Tabela 8- Determinação da normalidade dos dados da mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* em extractos de *Solanum sisymbriifolium* (dados não transformados).

| <i>S.sisymbriifolium</i> | | Dados não transformados | |
|--------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|
| | | Teste de Normalidade | |
| Extracto | Concentração mg/ml | Kolmogorov-Smirnov (Sig.) | Shapiro-Wilk (Sig.) |
| Raízes+parte aérea | 12,5 | 0,024 | 0,006 |
| | 25 | 0,000 | 0,003 |
| | 250 | 0,000 | 0,000 |
| | Testemunha | 0,000 | 0,000 |
| Parte aérea | 12,5 | 0,005 | 0,002 |
| | 25 | 0,001 | 0,000 |
| | 250 | 0,000 | 0,000 |
| | Testemunha | 0,000 | 0,000 |
| Raízes | 12,5 | 0,000 | 0,000 |
| | 25 | 0,000 | 0,000 |
| | 250 | 0,000 | 0,000 |
| | Testemunha | 0,000 | 0,000 |

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses.

Dados normais para $p > 0,05$

Tabela 9- Resultados da ANOVA (a um factor) para a mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* nos diferentes extractos de *Solanum sisymbriifolium* (dados transformados).

| Extracto | gl | Valor de F | Sig. |
|--------------------|----|------------|-------|
| Raízes+parte aérea | 3 | 3,842 | 0,012 |
| Parte aérea | 3 | 9,578 | 0,000 |
| Raízes | 3 | 3,285 | 0,023 |

gl- Graus de liberdade

F- Estatística do teste ANOVA para o conjunto de dados

Sig.- Probabilidade de significância de cada conjunto de hipóteses

Diferenças significativas para $p < 0,05$

O Teste de Tukey foi aplicado aos valores transformados, a um nível de significância $p < 0,05$, para as diferentes partes da planta, de modo a determinar entre que concentrações dos extractos é que se verificam diferenças.

Neste tempo de observação, verificaram-se diferenças significativas entre a mortalidade cumulativa ocorrida na concentração 250 mg/ml do extracto raízes+parte aérea e as mortalidades ocorridas na testemunha e na concentração 12,5 mg/ml (Tabela 10). Relativamente aos extractos da parte aérea encontraram-se diferenças significativas entre a mortalidade ocorrida no extracto mais concentrado (250 mg/ml) e as mortalidades ocorridas nas outras duas concentrações e

na testemunha. Em relação aos extractos das raízes apenas se detectaram diferenças entre mortalidade na concentração 250 mg/ml e na testemunha (Tabela 10).

Tabela 10- Resultados do teste de Tukey para a mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* nos diferentes extractos de *Solanum sisymbriifolium* ao longo do tempo (30 dias).

| Extracto | Var I (Tratamento) | Var J (Tratamento) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|-------|
| Raízes+parte aérea | Testemunha | 12,5 | 0,0022 | 1,000 |
| | | 25 | -0,1807 | 0,992 |
| | | 250 | -0,1807* | 0,027 |
| | 12,5 | Testemunha | -0,0220 | 1,000 |
| | | 25 | -0,0203 | 0,989 |
| | | 250 | -0,1829* | 0,024 |
| | 25 | Testemunha | 0,0181 | 0,992 |
| | | 12,5 | 0,0203 | 0,989 |
| | | 250 | -0,1626 | 0,057 |
| | 250 | Testemunha | 0,1807* | 0,027 |
| | | 12,5 | 0,1829* | 0,024 |
| | | 25 | 0,1626 | 0,057 |
| Parte aérea | Testemunha | 12,5 | 0,0810 | 0,489 |
| | | 25 | 0,0131 | 0,996 |
| | | 250 | -0,2076* | 0,002 |
| | 12,5 | Testemunha | -0,0810 | 0,489 |
| | | 25 | -0,0679 | 0,633 |
| | | 250 | -0,2886* | 0,000 |
| | 25 | Testemunha | -0,0131 | 0,996 |
| | | 12,5 | 0,0679 | 0,633 |
| | | 250 | -0,2207* | 0,001 |
| | 250 | Testemunha | 0,2076* | 0,002 |
| | | 12,5 | 0,2886* | 0,000 |
| | | 25 | 0,2207* | 0,001 |
| Raízes | Testemunha | 12,5 | -0,0225 | 0,978 |
| | | 25 | -0,0416 | 0,879 |
| | | 250 | -0,1609* | 0,025 |
| | 12,5 | Testemunha | 0,0226 | 0,978 |
| | | 25 | -0,1907 | 0,986 |
| | | 250 | -0,1383 | 0,070 |
| | 25 | Testemunha | 0,0416 | 0,879 |
| | | 12,5 | 0,0191 | 0,986 |
| | | 250 | -0,1193 | 0,150 |
| | 250 | Testemunha | 0,1609* | 0,025 |
| | | 12,5 | 0,1383 | 0,070 |
| | | 25 | 0,1193 | 0,150 |

*- A média da diferença é significativa para $p < 0,05$

Sig. - Probabilidade de significância de cada conjunto de hipóteses

A análise da Tabela 10 permite constatar que existem diferenças significativas na mortalidade de *P. goodeyi* para a concentração de 250 mg/ml, correspondente à dose 100 % e na testemunha em qualquer um dos extractos da planta.

3.7.2 *Solanum nigrum*

A mortalidade de *P. goodeyi* foi ligeiramente afectada pelos extractos de *S. nigrum*. Os resultados das contagens de *P. goodeyi* mortos quando colocados em diferentes concentrações de extractos das raízes+parte aérea encontram-se expressos na Tabela 11. Verificou-se que a mortalidade ao fim de 30 dias foi 62,67 % para o extracto mais concentrado sendo inferior ao da testemunha (68,00 %).

Tabela 11- Efeito do extracto aquoso das raízes+parte aérea de *Solanum nigrum* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*.

| Extracto | Mortalidade cumulativa (%) | | | | | | |
|-------------|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Tempo (dias) | | | | | | |
| | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| Testemunha | 0,00±0,00 | 29,33±1,67 | 54,67±2,17 | 56,00±2,07 | 58,67±2,05 | 65,33±2,05 | 68,00±1,92 |
| 12, 5 mg/ml | 1,33±0,45 | 4,00±11,34 | 9,33±2,07 | 24,00±2,07 | 33,33±2,00 | 41,33±1,48 | 48,00±1,64 |
| 25 mg/ml | 0,00±0,00 | 2,66±0,55 | 4,00±0,55 | 10,67±1,52 | 29,33±1,14 | 36,00±1,14 | 52,00±0,84 |
| 250 mg/ml | 1,33±0,45 | 52,00±1,31 | 54,66±1,31 | 57,33±1,14 | 58,67±1,31 | 60,00±1,58 | 62,67±2,07 |

Os resultados são médias de 5 repetições±DP.

A eficácia dos extractos das raízes+parte aérea de *S. nigrum* na mortalidade do nemátode *P. goodeyi*, dada pela mortalidade cumulativa corrigida pela fórmula de Abbott, não foi relevante em relação à testemunha (Fig. 15).

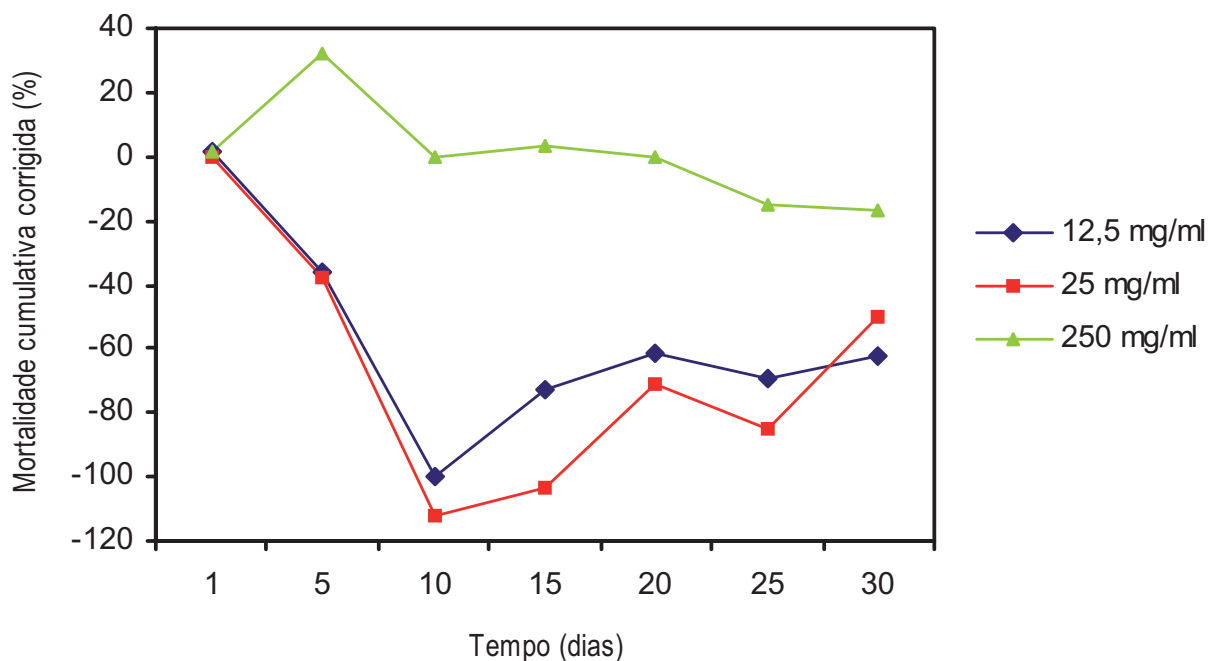


Figura 15- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de *Pratylenchus goodeyi*, durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso das raízes+parte aérea de *Solanum nigrum*.

A percentagem de mortalidade cumulativa encontrada na testemunha e nas concentrações 250 mg/ml, 12,5 mg/ml e 25 mg/ml dos extractos da parte aérea não diferem muito entre si ao fim de 30 dias (Tabela 12, Fig. 16).

Tabela 12- Efeito do extracto aquoso da parte aérea de *Solanum nigrum* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*.

| Extracto | Mortalidade cumulativa (%) | | | | | | |
|-------------|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Tempo (dias) | | | | | | |
| | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| Testemunha | 0,00±0,00 | 29,33±1,67 | 54,67±2,17 | 56,00±2,07 | 58,67±2,05 | 65,33±2,05 | 68,00±1,92 |
| 12, 5 mg/ml | 0,00±0,00 | 25,33±1,64 | 46,67±1,22 | 50,67±1,52 | 54,67±1,48 | 60,00±1,48 | 61,33±2,17 |
| 25 mg/ml | 1,33±0,45 | 32,00±1,30 | 34,67±1,48 | 42,67±1,67 | 49,33±1,52 | 54,67±0,84 | 64,00±0,89 |
| 250 mg/ml | 0,00±0,00 | 45,33±1,64 | 46,67±1,41 | 48,00±1,79 | 57,33±1,34 | 58,67±1,64 | 69,33±0,89 |

Os resultados são médias de 5 repetições±DP.

A mortalidade cumulativa corrigida pela fórmula de Abbott mostrou que os extractos da parte aérea de *S. nigrum* não foram eficazes em provocar a mortalidade do nemátode *P. goodeyi* (Figs. 16 e 17).

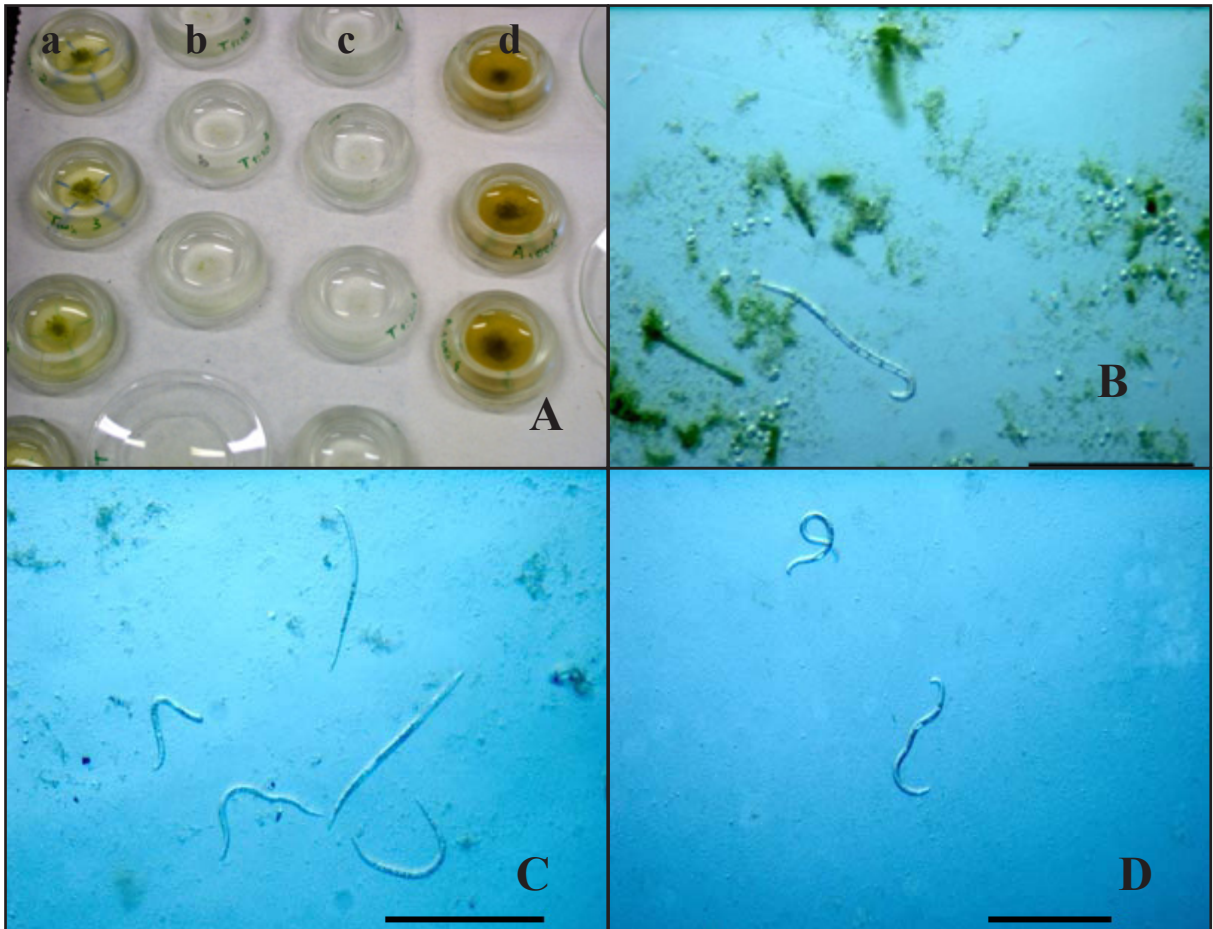


Figura 16- Extractos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* com *Pratylenchus goodeyi*.

- A. Extractos de raízes+parte aérea de *S. sisymbriifolium* nas concentrações: a) 250 mg/ml; b) 25 mg/ml; c) 12,5 mg/ml e d) extracto da parte aérea de *S. sisymbriifolium* 250 mg/ml;
- B. *P. goodeyi* em extracto da parte aérea de *S. nigrum* na concentração 250 mg/ml, barra= 500µm;
- C. *P. goodeyi* em extracto da parte aérea de *S. nigrum* na concentração 25 mg/ml, barra= 300 µm;
- D. *P. goodeyi* em extracto da parte aérea de *S. nigrum* na concentração 12,5 mg/ml, barra= 500µm.

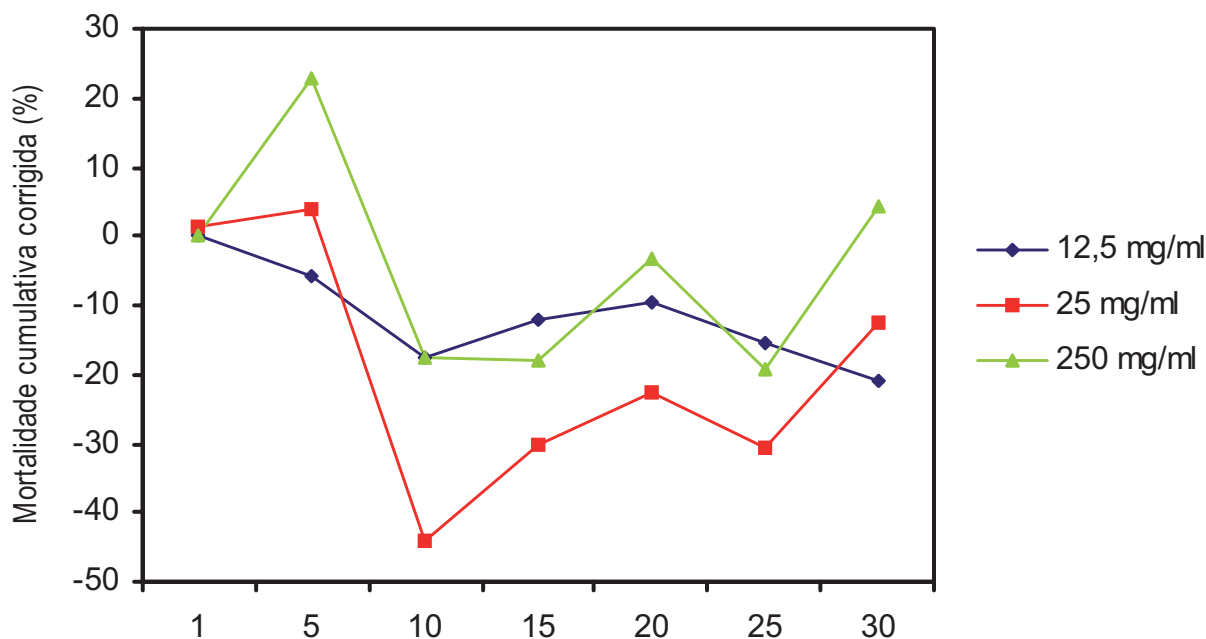


Figura 17- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de *Pratylenchus goodeyi*, durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso da parte aérea de *Solanum nigrum*.

A percentagem de mortalidade cumulativa ocorrida na testemunha foi superior à verificada nas concentrações dos extractos das raízes (Tabela 13) e a mortalidade cumulativa corrigida pela fórmula de Abbott evidenciou que os extractos das raízes de *S. nigrum* não foram eficazes em provocar a mortalidade do nemátode *P. goodeyi* (Fig. 18).

Tabela 13- Efeito do extracto aquoso das raízes de *Solanum nigrum* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*.

| Extracto | Mortalidade cumulativa (%) | | | | | | |
|-------------|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Tempo (dias) | | | | | | |
| | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| Testemunha | 0,00±0,00 | 29,33±1,67 | 54,67±2,17 | 56,00±2,07 | 58,67±2,05 | 65,33±2,05 | 68,00±1,92 |
| 12, 5 mg/ml | 1,33±0,45 | 33,33±1,22 | 42,67±1,52 | 46,67±0,71 | 50,67±0,89 | 52,00±0,84 | 53,33±1,00 |
| 25 mg/ml | 1,33±0,45 | 25,33±1,64 | 28,00±1,92 | 36,00±1,52 | 40,00±1,58 | 48,00±0,84 | 53,33±0,71 |
| 250 mg/ml | 1,33±0,45 | 9,33±0,55 | 17,33±1,34 | 34,67±1,92 | 42,67±1,14 | 48,00±1,30 | 49,33±1,14 |

Os resultados são médias de 5 repetições±DP

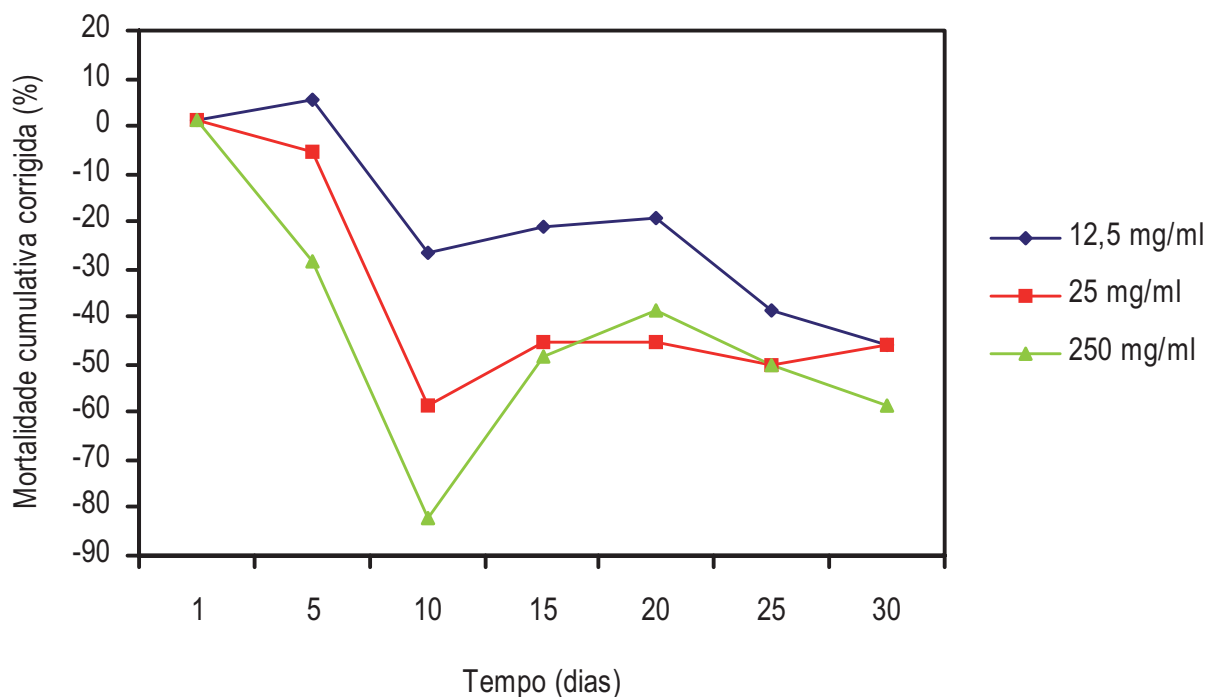


Figura 18- Mortalidade cumulativa (corrigida pela fórmula de Abbott) de *Pratylenchus goodeyi*, durante 30 dias de exposição ao extracto aquoso das raízes de *Solanum nigrum*.

O conjunto de dados obtidos da observação da mortalidade de *P. goodeyi*, sujeitos a diferentes concentrações de extractos das raízes+parte aérea, parte aérea e raízes de *S. nigrum*, não tinham uma distribuição normal ($p < 0,05$), pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de Shapiro-Wilk, para amostras com $n < 30$ (Tabela 14). Por este facto, os dados foram transformados em $\log(x+1)$ e foi realizada uma ANOVA a um factor a um nível de significância $p < 0,05$ (Tabela 15). Deste tratamento confirmou-se a existência de diferenças significativas para os extractos das raízes+parte aérea e das raízes mas não para os extractos da parte aérea.

Tabela 14- Determinação da normalidade dos dados da mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* em extractos de *Solanum nigrum* (dados não transformados).

| <i>S.nigrum</i> | Concentração mg/ml | Dados não transformados | |
|--------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|
| | | Teste de Normalidade | |
| Extracto | | Kolmogorov-Smirnov (Sig.) | Shapiro-Wilk (Sig.) |
| Raízes+parte aérea | 12,5 | 0,125 | 0,018 |
| | 25 | 0,001 | 0,001 |
| | 250 | 0,000 | 0,000 |
| | Testemunha | 0,000 | 0,000 |
| Parte aérea | 12,5 | 0,000 | 0,000 |
| | 25 | 0,006 | 0,006 |
| | 250 | 0,000 | 0,000 |
| | Testemunha | 0,000 | 0,000 |
| Raízes | 12,5 | 0,000 | 0,000 |
| | 25 | 0,174 | 0,039 |
| | 250 | 0,027 | 0,004 |
| | Testemunha | 0,000 | 0,000 |

Sig.- Probabilidade de significância de cada conjunto de hipóteses

Dados normais para $p > 0,05$

Tabela 15- Resultados da ANOVA (a um factor) para a mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* nos extractos de *Solanum nigrum* (dados transformados).

| Extractos | gl | Valor de F | Sig. |
|--------------------|----|------------|-------|
| Raízes+parte aérea | 3 | 19,306 | 0,000 |
| Parte aérea | 3 | 0,812 | 0,490 |
| Raízes | 3 | 4,770 | 0,004 |

gl- Graus de liberdade

F- Estatística do teste ANOVA para o conjunto de hipóteses

Sig.- Probabilidade de significância de cada conjunto de hipóteses

Diferenças significativas para $p < 0,05$

Aos dados transformados foi aplicado o Teste de Tukey, cujos resultados se encontram resumidos na Tabela 16 para um nível de significância $p < 0,05$. Nos extractos das diferentes partes da planta *S. nigrum*, foram detectadas diferenças significativas, principalmente nos extractos das raízes+parte aérea, na mortalidade ocorrida entre a testemunha e as concentrações de 12,5 e 25 mg/ml e entre cada uma destas e o extracto mais concentrado (250 mg/ml). Em relação à mortalidade ocorrida nos extractos da parte aérea não foram encontradas diferenças significativas (Tabela 16).

Relativamente aos extractos das raízes apenas se registaram diferenças significativas entre a testemunha e a concentração de 250 mg/ml.

Tabela 16- Resultados do teste de Tukey para a mortalidade de *Pratylenchus goodeyi* nos diferentes extractos de *Solanum nigrum* ao longo de tempo (30 dias).

| Extracto | Var I (Tratamento) | Var J (Tratamento) | Diferença de médias (I-J) | Sig. | |
|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|----------|-------|
| Raízes+parte aérea | Testemunha | 12,5 | 0,32656* | 0,000 | |
| | | 25 | 0,41909* | 0,000 | |
| | | 250 | -0,00312 | 1,000 | |
| | 12,5 | Testemunha | -0,32656* | 0,000 | |
| | | 25 | 0,9253 | 0,558 | |
| | | 250 | -0,32968* | 0,000 | |
| | 25 | Testemunha | -0,41909* | 0,000 | |
| | | 12,5 | -0,09253 | 0,558 | |
| | | 250 | -0,42221* | 0,000 | |
| | 250 | Testemunha | 0,00312 | 1,000 | |
| | | 12,5 | 0,32968* | 0,000 | |
| | | 25 | 0,4221* | 0,000 | |
| Parte aérea | Testemunha | 12,5 | 0,06182 | 0,774 | |
| | | 25 | 0,09617 | 0,447 | |
| | | 250 | 0,03168 | 0,961 | |
| | 25 | Testemunha | -0,9617 | 0,447 | |
| | | 12,5 | -0,03436 | 0,951 | |
| | | 250 | -0,06450 | 0,750 | |
| | 250 | Testemunha | -0,3168 | 0,961 | |
| | | 12,5 | 0,03014 | 0,966 | |
| | | 25 | 0,06450 | 0,750 | |
| | Raízes | Testemunha | 12,5 | 0,07705 | 0,572 |
| | | | 25 | 0,15357 | 0,055 |
| | | | 250 | 0,21240* | 0,003 |
| 12,5 | | Testemunha | -0,07705 | 0,572 | |
| | | 25 | 0,07653 | 0,577 | |
| | | 250 | 0,13535 | 0,112 | |
| 25 | | Testemunha | -0,15357 | 0,055 | |
| | | 12,5 | -0,07653 | 0,577 | |
| | | 250 | 0,05883 | 0,759 | |
| 250 | | Testemunha | -0,21240* | 0,003 | |
| | | 12,5 | -0,13535 | 0,112 | |
| | | 25 | -0,05883 | 0,759 | |

*- A média da diferença é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância de cada conjunto de hipóteses

4. Discussão

4.1 Obtenção e caracterização do solo

O solo utilizado neste tipo de ensaios deve representar o solo do local no qual as plantas são cultivadas e a rega e a fertilização devem ser próximas do óptimo para o desenvolvimento da planta (De Waele & Elsen, 2000). Por estas razões, o solo utilizado nas experiências foi colhido num campo de bananeiras e os vasos com as bananeiras colocados ao ar livre em condições semelhantes às naturais.

O facto do pH do solo ser neutro a tender para alcalino (ver 3.2) contraria a tendência dos solos da Madeira que, normalmente, são ácidos (Madeira *et al.*,1994). O pH neutro, provavelmente, resultou de correcções sucessivas do pH. O teor médio a alto em matéria orgânica, comum nos solos da Madeira, é de grande importância, do ponto de vista físico-químico, dado que contribui para a manutenção da estrutura do solo, melhora a infiltração e a retenção da água, aumenta a capacidade de troca catiónica e o teor em nutrientes, promove o equilíbrio biológico do solo contribuindo para o aumento da produtividade. A matéria orgânica presente no solo é, por isso, de grande relevância e deve ser mantida recorrendo a medidas como a incorporação de composto ou de outros resíduos, mobilização reduzida do solo, sementeira directa e introdução de prado com vista à sua conservação (Ferreira, 1999).

4.2 Obtenção e identificação dos isolados de *Pratylenchus*

A partir das amostras de solo e raízes de bananeira colhidas durante este trabalho verificou-se, em todas elas, a existência de nemátodes fitoparasitas. A identificação dos isolados de nemátodes do género *Pratylenchus*, efectuada em Itália, veio confirmar a presença da espécie *P. goodeyi* em campos de bananeira da Ilha da Madeira (Troccoli, *et al.*, 1996).

4.3 Multiplicação dos isolados de *Pratylenchus goodeyi*

As dificuldades encontradas na multiplicação de *P. goodeyi* estiveram inicialmente relacionadas com as elevadas percentagens de contaminação dos discos de cenoura, sobretudo por bactérias e fungos. As contaminações dos discos de cenouras por bactérias terão sido devidas ao facto destas terem permanecido, em forma latente, mesmo após a desinfecção da cenoura com álcool. Quando as condições se aproximaram das ideais para as bactérias, estes

microrganismos começaram a crescer de forma exponencial afectando os discos de cenoura, tendo sido responsáveis pelo aparecimento de um anel púrpuro à volta da parte central do disco de cenoura e, mais tarde, os tecidos que rodeavam o anel terem-se tornado castanhos desenvolvendo-se uma podridão mole (Moody *et al.*, 1973).

Devido às contaminações que foram detectadas e ainda ao facto de alguns discos, após algum tempo de incubação, não conterem nemátodes, foi feita a esterilização da superfície do corpo dos nemátodes com estreptomycina sulfato, uma vez que este antibiótico reduz a mobilidade do nemátode mas não afecta, de forma significativa, a mortalidade, a atracção e a penetração do mesmo (Peng & Moens, 1999). Após a esterilização dos nemátodes, a percentagem de contaminações diminuiu drasticamente e a multiplicação foi muito baixa, o que está em desacordo com os resultados obtidos por outros investigadores. Por exemplo, nalguns isolados, as densidades populacionais aumentaram 300 a 400 vezes, no espaço de três meses, quando colocados entre 24 e 26° C (Nico *et al.*, 1999).

Apesar de todos os cuidados e esterilizações, a multiplicação nos discos de cenoura manteve-se baixa, concluindo-se que outros factores deveriam estar a influenciar a reprodução dos nemátodes.

Um dos primeiros trabalhos que relacionou a “fitness” reprodutiva com a percentagem de fêmeas reprodutivas foi feito com vários isolados de *Radopholus similis* em discos de cenoura, a diferentes temperaturas, tendo-se verificado que a grande variabilidade de “fitness” reprodutiva, encontrada nos diferentes isolados, não era influenciada pela temperatura. A reprodução parece ser controlada por características intrínsecas à própria população. Os isolados em que o factor de reprodução era maior tinham também uma maior percentagem de fêmeas reprodutivas. Verificou-se ainda que a percentagem de fêmeas reprodutivas estava associada à percentagem de fêmeas existentes numa população. No entanto, a média de descendência por fêmea reprodutiva entre uma população com elevada percentagem de fêmeas reprodutivas e uma população com baixa percentagem de fêmeas reprodutivas era semelhante (Elbadri *et al.*, 2001). Embora a razão fêmeas/machos não tenha sido determinada neste trabalho verificou-se, em muitos dos isolados, que existia um equilíbrio entre o número de jovens, fêmeas e machos. Por isso, na multiplicação dos isolados, nos discos de cenoura, foram apenas utilizadas fêmeas como inóculo.

Por outro lado, noutros estudos foi demonstrado que a reprodução de *P. goodeyi* era maior a 21° C do que a 16° C, não tendo sido detectadas diferenças entre 21 e 25° C. Comparando com *P. coffeae* e *Radopholus similis*, as densidades populacionais de *P. goodeyi*, à mesma temperatura, eram inferiores às das outras duas espécies. Além disso, a densidade populacional baixa, obtida em *P. goodeyi*, poderá estar relacionada com o facto da temperatura óptima de desenvolvimento estar compreendida entre 17 e 20° C e entre 22 e 24° C (Pinochet *et al.*, 1995), valores estes que não foram atingidos durante o presente trabalho.

A baixa multiplicação, obtida neste ensaio, pode ser resultado de uma baixa “fitness”

reprodutiva dos isolados (fêmeas pouco reprodutivas), o que poderá estar relacionado com as características intrínsecas do nemátode *P. goodeyi*.

4.4 Patogenicidade de *Pratylenchus goodeyi* a *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum*

Ambas as plantas apresentaram valores do factor de reprodução (Rf) do nemátode muito baixos, o que mostrou que as duas espécies de *Solanum* não são susceptíveis ao nemátode, ou seja, *P. goodeyi* não se reproduziu nestas plantas como foi comprovado pelo baixo número de nemátodes encontrados no substrato e nas raízes e ausência de necroses nas raízes. As plantas que não foram inoculadas não apresentaram qualquer sinal de infecção. Assim, as plantas de *Solanum* não sendo hospedeiras de *P. goodeyi*, não contribuem para o aumento das suas populações. Deste modo, pensa-se que se pode afastar a hipótese de qualquer uma das plantas ter efeito como cultura armadilha, à semelhança do que acontece com os nemátodes-de-quisto do género *Globodera*, uma vez que não parecem atrair *P. goodeyi* para as suas raízes. No entanto, fica em aberto a possibilidade de serem usadas como adubo verde ou biofumigante. Contudo, será necessário realizar novas experiências utilizando um substrato esterilizado com a finalidade de confirmar os resultados obtidos.

4.5 Efeitos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* sobre *Pratylenchus goodeyi* em ensaios em vaso com bananeiras

As diferenças encontradas em relação aos parâmetros de crescimento, nomeadamente à altura das plantas e à largura do pseudocaule, mostraram que as plantas de bananeira inoculadas com o nemátode (tratamento 2), não cresceram tanto como as dos tratamentos em que partes de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* foram incorporadas no solo. Assim, qualquer uma das plantas de *Solanum* influenciou, de forma positiva, o crescimento das plantas de bananeira, principalmente aquelas em que o solo foi incorporado com as raízes de *S. sisymbriifolium* e de *S. nigrum*.

A incorporação no solo de raízes+parte aérea, parte aérea ou raízes de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* influenciou também o desenvolvimento e reprodução do nemátode. A reprodução do nemátode nas plantas de bananeira infectadas com nemátodes (tratamento 2) foi superior à dos nemátodes em que no solo das plantas foi incorporado partes de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum*. Apesar das plantas de bananeira terem crescido mais nos vasos, em que as raízes das duas plantas de *Solanum* foram incorporadas no solo, o factor de reprodução do nemátode não foi inferior nessas plantas relativamente às bananeiras dos outros tratamentos. Deste modo,

pode-se concluir que, possivelmente, algum componente da composição das plantas de *Solanum* que se encontra em maior quantidade na raiz, pode afectar o desenvolvimento das plantas de bananeira e, provavelmente, actuar, directa e indirectamente, sobre os nemátodes-das-lesões-radiculares.

Neste ensaio, os sintomas de eventuais danos nas plantas de bananeira não foram muito evidentes na parte aérea e nas raízes. Alguns trabalhos mostram que existe uma relação directa entre a “fitness” reprodutiva nos discos de cenoura e a patogenicidade dos nemátodes nas raízes da bananeira, ou seja, quanto mais alta a “fitness” reprodutiva nos discos de cenoura, maior a patogenicidade para a raiz da bananeira (Sarah *et al.*, 1993; Fallas *et al.*, 1995; Elbadri *et al.*, 2001). Esta relação parece estar de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho já que a baixa “fitness” reprodutiva obtida, pode correlacionar-se com a baixa patogenicidade evidenciada para as plantas de bananeira.

Devido aos problemas que ocorreram durante o crescimento das plantas de *S. sisymbriifolium* na estufa, a quantidade total de biomassa utilizada no ensaio foi um pouco inferior à desejável. Stirling e Potter (1998) sugeriram que pelo menos 2 toneladas de matéria orgânica seca/ha de *Brassica* deve ser produzida para ter um efeito nematocida significativo e Bello e colaboradores (2000) consideram que se deve incorporar entre 5 a 8 kg/m² de matéria verde. Pensa-se que os resultados poderiam ter sido ainda mais evidentes se uma quantidade mais próxima da sugerida por estes autores tivesse sido utilizada.

4.6 Efeitos dos extractos de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* na mortalidade de *Pratylenchus goodeyi*

Os extractos aquosos das plantas de *S. sisymbriifolium* mais eficientes na mortalidade de *P. goodeyi* foram os extractos mais concentrados (250 mg/ml), principalmente aqueles provenientes das raízes+parte aérea e das raízes. A parte aérea, só por si, não afectou tanto os nemátodes, o que parece estar em conformidade com os resultados do ensaio dos efeitos das plantas de *Solanum* no crescimento das bananeiras e reprodução do nemátode.

Em relação aos extractos aquosos de *S. nigrum*, os resultados mostraram que não existe grande diferença entre a mortalidade observada nos extractos das raízes+parte aérea, da parte aérea e das raízes e a registada na testemunha. Estes extractos não foram eficientes na mortalidade de *P. goodeyi* pelo menos para as concentrações utilizadas. No entanto, extractos aquosos de *S. nigrum* a uma concentração de 500 mg/ml causaram 100,00% de mortalidade de jovens do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* e 90,00% de *Heterodera* sp. Esta mortalidade diminuía com a diminuição da concentração do extracto para ambos os casos (Upadhyay *et al.*, 2003). Os resultados obtidos neste ensaio estão de acordo com os resultados obtidos no ensaio sobre os efeitos das plantas de *Solanum* no crescimento de bananeiras e reprodução de *P. goodeyi*.

4.7 Efeito de *Solanum sisymbriifolium* e de *S. nigrum* como adubo verde

A incorporação de correctivos orgânicos na forma de adubo verde tem efeitos benéficos sobre o desenvolvimento das culturas subsequentes contribuindo para a cobertura temporária do solo, protegendo-o da erosão, aumentando o conteúdo de matéria orgânica e melhorando a estrutura do solo e a capacidade de penetração de água no mesmo. A utilização de algumas leguminosas como adubo verde apresenta várias vantagens para as culturas seguintes devido à capacidade de fixarem o azoto atmosférico (Ferreira, 1999). Também algumas *Brassica* spp., quando são incorporadas no solo, são eficientes em captar o azoto mineral e impedir a lixiviação deixando este elemento disponível para a cultura seguinte (Mitidieri, 2005).

Os mecanismos biológicos como a estimulação de parasitas, predadores e antagonistas, frequentemente observados durante as correcções orgânicas, podem contribuir para a supressão dos nemátodes (Rahman & Somers, 2005). A adição de materiais orgânicos ao solo infestado com nemátodes parasitas de plantas tem-se revelado um método de luta satisfatório contra alguns tipos de nemátodes. A decomposição de algumas espécies de plantas liberta compostos, que incluem fenóis, taninos, azadiractinos e rícinos, que são tóxicos para os nemátodes (Saukat & Siddiqui, 2001). O efeito supressivo destas plantas pode ser relacionado directamente com a libertação de exsudatos tóxicos para os nemátodes fitoparasitas e indirectamente por alterarem a composição e estrutura microbiológica da rizosfera (Shaukat *et al.*, 2004).

Assim, algumas plantas que se conhece como não sendo hospedeiras, ou serem hospedeiras não preferenciais de certos nemátodes, podem ser utilizadas como cultura nas entrelinhas com uma cultura susceptível, contribuindo para tornar a rizosfera pouco favorável ao desenvolvimento e reprodução dos nemátodes. Sharma e Bajaj (1998) verificaram que utilizando o pimenteiro (*Capsicum annuum* L.) como cultura de entrelinha protegiam o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) de alguns tipos de nemátodes. Quando o sistema radicular das plantas de gengibre ficava em contacto com o pimenteiro, a rizosfera tornava-se pouco favorável para a reprodução de nemátodes como *P. penetrans* e *M. incognita*, resultando num aumento de produção da planta de gengibre. A utilização de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* nas entrelinhas das plantas de bananeira pode de facto melhorar o equilíbrio biológico do solo, em torno das raízes da bananeira, inibindo a reprodução de *P. goodeyi*, proporcionando o aparecimento de outros microrganismos que com ele competem, favorecendo e protegendo as plantas de bananeira que, desta forma, irão produzir mais, uma vez que se provou que qualquer uma das plantas de *Solanum* não é hospedeira do nemátode *P. goodeyi* e que ambas promovem o crescimento das plantas de bananeira.

As plantas *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* podem contribuir para um maior equilíbrio dos organismos presentes no solo e, assim, terem um efeito benéfico como adubo verde, principalmente pela incorporação no solo das raízes ou das raízes+parte aérea.

4.8 Efeito de *Solanum sisymbriifolium* e de *S. nigrum* como biofumigante

As plantas *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* foram eficazes na redução de *P. goodeyi*, principalmente *S. sisymbriifolium*. As raízes+parte aérea e as raízes destas plantas quando usadas, por incorporação, como correctivo orgânico para o solo, além de aumentarem a fertilidade do solo afectaram a população do nemátode-das-lesões-radiculares. O crescimento das plantas de bananeira e a redução do número de nemátodes podem ser devidos à indução de resistência sistémica ou de múltiplos mecanismos de defesa.

Algumas espécies de *Brassica* produzem grandes quantidades de glucosinolatos que se convertem numa variedade de potenciais aleloquímicos quando os tecidos são danificados mecanicamente, podendo ser utilizadas como biofumigantes incorporadas em solos contendo nemátodes, com efeitos potenciais na redução das suas populações e afectando, ainda que indirectamente, as infestantes (Sipes & DeFrank, 1999). O efeito deste tipo de plantas está relacionado não só com o aumento de glucosinato mas também com outros mecanismos que são importantes na actividade anti-nemátode das folhas de *Brassica* spp. como adubo verde ou biofumigante (McLeod & Steel, 1999).

Contudo, muitos dos mecanismos exactos da acção da incorporação de determinadas plantas no solo continuam ainda por esclarecer. Os produtos do metabolismo secundário das plantas, resultantes da sua decomposição, quando utilizados como correctivos orgânicos, são tóxicos para os nemátodes e podem ter um efeito benéfico para o crescimento das plantas e aumento dos inimigos naturais dos nemátodes no solo (Sundararaju *et al.*, 2003). Esta possibilidade de combate de nemátodes através da biofumigação é menos dispendiosa e sobretudo mais amiga do ambiente quando em comparação com outras práticas utilizadas no combate de nemátodes associados à bananeira (Jonathan *et al.*, 2004).

4.8.1 Condições gerais de aplicação de *Solanum sisymbriifolium* e *S. nigrum* como biofumigante

De um modo geral, qualquer resto orgânico pode actuar como biofumigante, dependendo da eficácia das suas características, dose e método de aplicação. Qualquer resíduo agro-industrial, ou as suas combinações que possuam uma relação carbono/azoto compreendida entre 8-20, têm um efeito biofumigante, podendo ser facilmente identificados pelo agricultor através do cheiro forte a amoníaco. A biofumigação é uma técnica de fácil aplicação para o agricultor. Esta só se diferencia das correcções, com matéria orgânica, na escolha do biofumigante, que deve estar em vias de decomposição, e no método de aplicação que deve ter em conta a necessidade de reter, pelo menos durante duas semanas, os gases biofumigantes produzidos durante a biodecomposição da matéria orgânica. O efeito dos gases, na maioria dos casos, é

mais bioestático que biocida, sendo necessário prolongar no tempo a sua acção sobre os agentes patogénicos (Bello *et al.*, 2000).

Contudo, a correcção do solo através de materiais de biofumigação, numa única aplicação, é pouco provável que mantenha os nemátodes em densidades populacionais suficientemente baixas para não provocarem danos. Rahman e Somers (2005) sugerem um tratamento anual com materiais biofumigantes que deve ser repetido durante alguns anos consecutivos de modo a reduzir as populações de nemátodes para níveis inferiores ao nível capaz de causar prejuízos para as culturas.

De acordo com os resultados obtidos, *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* poderão ser utilizados como biofumigantes em campos de bananeira infectados com *P. goodeyi*, o que será importante para os bananais convencionais em que os desequilíbrios biológicos do solo são mais frequentes e evidentes, quando comparados com os convertidos ao modo de produção biológico.

4.8.2 Factores que influenciam a eficácia da biofumigação

A eficácia da biofumigação aumenta com o tempo, principalmente quando incluída num sistema de produção integrada. Entre os factores que influenciam a eficácia da biofumigação encontram-se o tipo de agente patogénico a ser controlado, o nível de infestação desse agente, o conteúdo e tipo de glucosinolatos ou outro componente existente na matéria orgânica aplicada, a preparação do correctivo orgânico (seco ou fresco), a quantidade de material aplicado, o método de aplicação e o tempo de exposição. Por exemplo, o efeito tóxico dos isotiocianatos pode ser aumentado quando se provoca a ruptura dos tecidos da planta para permitir a actuação de determinadas enzimas (Mitidieri, 2005).

O biofumigante deve ser distribuído uniformemente e incorporado de imediato, após o que se deve regar de forma abundante. Nos solos pouco profundos (< 30 cm) não é necessário cobrir com plástico, bastando fazer regas frequentes para a retenção dos gases. É recomendável alternar a utilização de restos agrários com adubos verdes. Também se podem aplicar misturas de leguminosas com gramíneas (Bello *et al.*, 2002). Assim, para que a actuação das duas plantas de *Solanum* estudadas seja efectiva é condição essencial que os materiais se encontrem em vias de decomposição e que os campos, nos dias seguintes à incorporação, sejam regados com abundância.

Por outro lado, a variação das propriedades do solo como o pH, total de sais dissolvidos (TDS), textura e alguns elementos têm impacto não só para determinadas culturas resistirem a doenças, mas também no potencial biofumigante de tecidos de algumas plantas, à medida que se degradam no solo, influenciando a eficácia da biofumigação (Potter, 2003). Solos com níveis elevados de matéria orgânica, baixos níveis de areias, pH elevado (> 6,5) e um TDS alto não

são favoráveis à ocorrência de nemátodes fitoparasitas. Estas condições foram parcialmente verificadas no solo utilizado nas experiências o que pode ter contribuído de alguma forma para o baixo factor de reprodução, ou seja, pode ter influenciado a “fitness” reprodutiva de *P. goodeyi* encontrada nas bananeiras inoculadas com o nemátode.

As técnicas de biofumigação desenvolveram-se seguindo critérios ecológicos, mediante programas de investigação participativa, que têm em conta os conhecimentos dos agricultores. Muitos dos trabalhos desenvolvidos nesta área permitem confirmar que a biofumigação é tão eficaz como os pesticidas convencionais utilizados na luta contra fungos, nemátodes, insectos e flora arvense (Bello *et al.*, 2002). A biofumigação incrementa a biodiversidade da fauna edáfica, melhorando as propriedades físicas e químicas do solo, sendo o principal factor limitativo o custo de transporte dos materiais biofumigantes, daí a importância da valorização e utilização dos recursos locais como *S. nigrum* e outras Brassicaceas existentes na Região. A biofumigação aumenta a sua eficácia ao longo do tempo, mediante a utilização de sistemas de produção que tenham em conta outras alternativas de luta, como a utilização de cultivares resistentes e as práticas agronómicas baseadas no manuseio da diversidade biológica e ambiental. Por outro lado, a biofumigação faz com que a agricultura seja uma via para resolver os problemas de impacto ambiental através da utilização de resíduos agro-industriais (Bello *et al.*, 2002).

O recurso a critérios ecológicos em agricultura, que permitam conhecer os elementos chave nos processos de funcionamento dos ecossistemas agrícolas, é imprescindível para fazer frente ao problema crescente da degradação do ambiente resultado da utilização de práticas agrárias menos correctas. Embora este trabalho tenha sido focalizado no modo de produção biológico, o seu maior contributo é o de possibilitar aos agricultores convencionais meios de luta contra os nemátodes associados à cultura da bananeira facilmente ao seu dispor, de simples aplicação, mais ecológicos e pouco ou nada dispendiosos. Assim, de forma a dar continuidade ao presente trabalho, espera-se iniciar, brevemente, a aplicação das plantas *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* como adubo verde e como biofumigante *in situ* em bananais convencionais.

5. Conclusões

Os isolados de *P. goodeyi* apresentaram uma viabilidade reduzida e um factor de reprodução baixo nos discos de cenoura. Este facto pode estar relacionado com: 1) características intrínsecas do próprio nemátode que fazem com que atinja densidades populacionais mais baixas quando comparados com outras espécies; 2) factores abióticos como a temperatura óptima de desenvolvimento e de reprodução, com intervalos mais limitados e mais difíceis de determinar; 3) composição e textura do solo (pH elevado, conteúdo em matéria orgânica alto e níveis de areias baixos que são pouco propícios ao desenvolvimento de nemátodes).

As plantas *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* não são hospedeiras ou são hospedeiros fracos de *P. goodeyi*, uma vez que a reprodução deste nemátode nestas plantas foi muito reduzida. Sendo assim, as plantas de *Solanum* têm pouca probabilidade de actuarem como cultura armadilha, uma vez que não possuem a capacidade de atrair o nemátode *P. goodeyi*.

Relativamente à mortalidade de *P. goodeyi*, provocada por diferentes concentrações de diferentes extractos aquosos das plantas de *Solanum*, conclui-se que os extractos *S. sisymbriifolium* foram mais eficientes, principalmente na concentração 250 mg/ml. Contudo, esta concentração pode ter sido um pouco baixa. A eficácia de actuação destas plantas de *Solanum* na mortalidade do nemátode *P. goodeyi* não pode ser comparada com a de outras espécies de plantas, de efeito muito mais rápido, em virtude dos estudos terem sido realizados com outras espécies de nemátodes.

De modo a conhecerem-se melhor os efeitos dos extractos aquosos destas plantas sobre *P. goodeyi*, deverão realizar-se mais experiências em que se utilizem mais concentrações e também outros isolados dos géneros *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e ainda de *Rotylenchulus reniformis* que surgem, frequentemente, associados à bananeira na Madeira.

Qualquer uma das plantas de *Solanum* afectou o crescimento das plantas de bananeira, principalmente a altura e a largura ao nível do pseudocaule, o que poderá estar mais relacionado com a acção indirecta das plantas de *Solanum*, que contribuíram para tornar a rizosfera pouco favorável ao nemátode *P. goodeyi* e promoveram o desenvolvimento de antagonistas, do que com a acção directa através da libertação de exsudatos com efeito nematocida.

Assim, parece de todo o interesse utilizar qualquer uma destas plantas de *Solanum*, como adubo verde, em simultâneo com as bananeiras e com posterior incorporação da totalidade da planta (raízes+parte aérea).

Os resultados dos efeitos dos extractos aquosos de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* na mortalidade de *P. goodeyi* em conjunto com os dos efeitos de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* no crescimento das plantas de bananeira e reprodução de *P. goodeyi* indiciam um impacto simultâneo da adição de matéria orgânica e de químicos libertados pelas raízes e raízes+parte aérea contribuindo para estimular os organismos antagonistas dos nemátodes à medida que a matéria orgânica se decompõe.

Uma vez que qualquer resto orgânico pode, em princípio, actuar como biofumigante, a utilização de *S. sisymbriifolium* e *S. nigrum* parece pertinente.

Por outro lado, verifica-se que, muitas vezes, as propriedades biofumigantes não estão apenas relacionadas com a composição química das plantas, ou com o seu conteúdo em glucosinolato, mas também podem ocorrer independentemente desta composição, sugerindo, como já referido, que pode ser resultado de vários mecanismos biológicos como a estimulação da actividade de antagonistas.

A aplicação destas plantas parece de todo o interesse, sobretudo de *S. nigrum* existente na Região espontaneamente entre as bananeiras e de grande abundância, tornando-se um recurso de fácil acesso para os agricultores e de aplicação simples.

Tanto a biofumigação como a adubação em verde são recursos que podem ser facilmente utilizados nos bananais e que podem e devem ser utilizados, em simultâneo, sobretudo nos bananais mais abertos e expostos. A biofumigação deve ser aplicada por si só apenas nos bananais que, por serem demasiado densos, não possibilitam as condições de luz necessárias ao desenvolvimento das plantas de *Solanum*.

6. Bibliografia

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Abrantes, I.M. de O.; Morais, M.N. de; Paiva, I.M.P. de F.R. & Santos, M.S.N. de A., 1976. Análise nematológica de solos e plantas. *Ciência Biológica (Portugal)*, 1: 139-155.
- Aguiar, A.M.F., 1999. Pragas das fruteiras tropicais e subtropicais. Pp. 245-262. *In: Contribuição para a Protecção Integrada na Região Autónoma da Madeira (Carvalho J. P. de, ed.)*. Secretaria Regional de Agricultura, Florestas e Pescas, Funchal, Portugal.
- Al-Rehiyani, S.; Hafez, S.L.; Thornton, M. & Sundararaj, P., 1999. Effects of *Pratylenchus neglectus*, *Bacillus megaterium*, and oil radish or rapeseed green manure on reproductive potential of *Meloidogyne chitwoodi* on potato. *Nematropica*, 29: 37-49.
- Badra, T.; Saleh, M.A. & Oteifa, B.A., 1979. Nematicidal activity and composition of some organic fertilizers and amendments. *Revue de Nematologie*, 2: 29-36.
- Bello, A.; López-Pérez, J.A.; Díaz-Viruliche, L. & Sanz, R., 2000. Biofumigation, solarization and nematode control. International Nematology Symposium, Herzliya, Israel, 2-7 April. *Nematology*, 2: 743.
- Bello, A.; López-Pérez, J.A.; García-Álvarez, A.; De León, L. & Lacasa, A., 2002. La biofumigación: una ecotecnología para la protección de cultivos. Biofumigation: An ecotechnology in crop protection. IV Simposio Internacional de Desarrollo Sustentable. Mérida, Venezuela.
- Bradow, J. M., 1991. Relationships between chemical structure and inhibitory activity of C6 through C9 volatiles emitted by plant residues. *Journal of Chemical Ecology*, 17: 2193-2212.
- Bridge, J., 1988. Plant nematode pest of banana in East Africa with particular reference to Tanzania. Proceedings of the Workshop Nematodes and the Borer weevil bananas: present status of research and outlook. Bujumbura, Burundi, 35-39.

- Brown, P.D. & Morra, M.J., 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy*, 61: 167-231.
- Byrd, Jr.D.W.; Kirkpatrick, T. & Barker, K.R., 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, 15: 142-143.
- Charles, J.S.K. & Venkitesan, T.S., 1993. Pathogenicity of *Heterodera oryzicola* (Nemata : Tylenchina) towards banana (*Musa* AAB cv. Nendran). *Fundamental and Applied Nematology*, 16: 359-365.
- Costa, S. dos S. da R.; Santos, M.S.N. de A. & Ryan, M.F., 2003. Effect of *Artemisia vulgaris* rhizome extracts on hatching, mortality and plant infectivity of *Meloidogyne megadora*. *Journal of Nematology*, 35: 437-442.
- Deb, D.B., 1979. Solanaceae in India. Pp. 87-112. *In: The Biology and Taxonomy of the Solanaceae* (Hawkes, J.G.; Lester, R.N. & Skelding, A.D., eds.). Academic Press, London, U.K. (*cit.* Scholte, 2000 b).
- De Guiran, G. & Vilardebo, A., 1962. Le bananier aux Iles Canaries. IV : Les nemátodes parasites. *Fruits*, 17: 263-277.
- De Waele, D. & Elson, A., 2002. Migratory endoparasites *Pratylenchus* and *Radopholus* species. Pp. 175-206. *In: Plant Resistance to parasitic nematodes* (Starr, J.L.; Cook, R. & Bridge, J., (eds.). CAB International, Wallingford, U.K.
- Dubois, T.; Gold, C.S.; Coyne, D.; Papparu, P.; Mukwaba, E.; Athman, S.; Kapinduand, S. & Adipla, E., 2004. Merging biotechnology with biological control: Banana *Musa* tissue culture plants enhanced by endophytic fungi. *Uganda Journal of Agriculture Sciences*, 9: 445-451.
- Edbadri, G.A.A.; De Waele, D. & Moens, M., 2001. Reproduction of *Radopholus similis* isolates after inoculation of carrot disck with one or more females. *Nematology*, 3: 767-771.
- Edmonds, J.M., 1979. Nomenclatural notes on some species of *Solanum* L. found in Europe. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 78: 213-233.

- Fallas, G. & Sarah, J.L., 1995. Effect of temperature on the *in vitro* multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology*, 18: 445-449.
- Ferreira, J.C., 1999. *Manual de Agricultura Biológica. Fertilização e protecção das plantas para uma agricultura sustentável*. AGROBIO-Associação Portuguesa de Agricultura Biológica, Lisboa, Portugal, 431 pp.
- Franco, J.A., 1984. *Nova Flora de Portugal (Continente e Açores). Clethraceae-Compositae*. (Franco, J.A., ed.). Sociedade Astória, Lisboa, Portugal, 2:200-203.
- Gichure, G. & Ondieki, J.J., 1977. A survey of banana nematodes in Kenya. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 84:724-728. (cit. Nico *et al.*, 1999).
- Gold, C.S.; Kagezi, G.H.; Night, G. & Ragama, P.E., 2004. The effects of banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar), damage on highland banana growth, yield and stand duration in Uganda. *Annals of Applied Biology*, 145: 263-269.
- Gowen, S. & Quénehervé, P., 1990. Nematode Parasites of bananas, plantains and abaca. Pp. 431-460. *In: Plant Parasitic Nematodes in subtropical and tropical agriculture* (Luc, M.; Sikora, R.A., & Bridge, J., eds.). CAB International, Wallingford, U.K.
- Hooper, D.J., 1986. Extraction of nematodes from plant material. Pp. 51-58. *In: Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes* (Southey, J.F., ed.). Her Majesty's Stationery Office, London, U.K.
- Insunza, V.; Aballay, E. & Macaya, J., 2001. Nematicidal activity of aqueous plant extracts on *Xiphinema index*. *Nematologia Mediterranea*, 29: 35-40.
- Jasy, R. & Koshy, P.K., 1992. Effect of certain leaf extracts and leaves of *Glyricidia maculata*, (H.B. & K.) Steud as green manure on *Radopholus similis*. *Indian Journal of Nematology*, 22: 117-121.
- Jenkins, W.R., 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48: 692.

- Jonathan, E.I.; Cannayane, I. & Samiyappan, R., 2004. Field application of biocontrol agents for the management of spiral nematode, *Helicotylenchus multicinctus*, in banana. *Nematologia Mediterranea*, 32: 169-173.
- Khurma, U.R. & Mangotra, A., 2004. Sreening of some leguminosae seeds for nematidicidal activity. *South Pacific Journal of Natural Science*, 22: 50-52.
- Kirkegaard, J.A., Wong, P.T.W. & Desmarchelier, J.M., 1996. *In-vitro* suppression of fungal root pathogens of cereals by *Brassica* tissues. *Plant Pathology*, 45: 593-603.
- Kirkegaard, J.A.; Sarwar, M.; Wong, P.T.W.; Mead, A.; Howe, G. & Newell, M., 2000. Field studies on the biofumigation of take-all by *Brassica* break crops. *Australian Journal of Agriculture Research*, 51:445-456.
- Kok, C.J.; Coenen, G.C.M. & Heiji, A., 1994. The effect of fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) on selected soil-borne pathogens. *Journal of the International Hemp Association* 1: 6-9.
- Kushida, A.; Suwa, N.; Ueda, Y. & Momota, Y., 2003. Effects of *Crotalaria juncea* and *C. spectabilis* on hatching and population density of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* (Tylenchida: Heteroderidae). *Applied Entomology and Zoology*, 38: 393.
- Loof, P.A.A., 1991. The Pratylenchidae Thorne, 1949. Pp. 363-421. *In: Manual of Agricultural Nematology* (Nickle, W.R., ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- Madeira, M.; Furtado, A.; Jeanroy, E. & Herbillon, A.J., 1994. Andisols of Madeira Island (Portugal), Characteristic and Classification, *Geoderma*, 62: 363-384.
- Maroco, J., 2003. *Análise estatística com utilização do SPSS*. 2ª ed. Edições Sílabo, Lisboa, Portugal, 508pp.
- McLeod, R.W. & Steel, C., 1999. Effects of brassica-leaf green manures and crops on activity and reproduction of *Meloidogyne javanica*. *Nematology*, 1: 613-624.
- Mitidieri, M., 2005. La biofumigación en el marco del manejo integrado de plagas Y enfermedades en cultivos hortícolas. San Pedro, Buenos Aires, Argentina. [online] Disponível na Internet via WWW.URL: http://www.inta.gov.ar/sanpedro/info/doc/2005/mm_0507.htm. Arquivo capturado em 16 de Junho de 2006.

- Mojtahedi, H.; Santo, G.S. & Inghan, R.E., 1993. Suppression of *Meloidogyne chitwoodi* with sudangrass cultivar as green manure. *Journal of Nematology*, 25: 303-311.
- Moody, E.H.; Lownsbery, B.F. & Ahmed, J.M., 1973. Culture of root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *Journal of Nematology*, 5: 225-226.
- Musabyimana, T. & Saxena, R.C., 1999. Efficacy of neem seed derivatives against nematodes affecting banana. *Phytoparasitica*, 27: 43-49.
- Nico, A.I.; Vovlas, N.; Troccoli, A. & Castillo, P., 1999. Reproduction of the root-lesion nematode, *Pratylenchus goodeyi*, in monoxenic cultures. *Nematologia Mediterranea*, 27: 187-192.
- Nico, A.I.; Jiménez-Díaz, R.M. & Castillo, P., 2003. Host suitability of the olive cultivars Arbequina and Picual for plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology*, 35: 29-34.
- Olckers, T. & Hulley, P.E., 1995. Importance of preintroduction surveys in the biological control of *Solanum* weeds in South Africa. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 52:179–185.
- Pandey, R.; Pant, N.; Jain, D.C. & Kalra, A., 2001. Medicinal plants extracts as potent source of nematicidal activities. *Nematologia Mediterranea*, 29: 19-21.
- Peng, Y. & Moens, M., 1999. Effects of surface sterilisation and cold storage on *in vitro* behaviour of *Pratylenchus penetrans*. *Nematology*, 1: 647-653.
- Pestana, M. & Cravo, D., 1999. Nemátodes das fruteiras tropicais e subtropicais. Pp. 301-306. *In: Contribuição para a Protecção Integrada na Região Autónoma da Madeira* (Carvalho, J.P. de, ed.). Secretaria Regional de Agricultura, Florestas e Pescas, Funchal, Portugal.
- Pinochet, J.; Fernandez, C. & Sarah, J.L., 1995. Influence of temperature on *in vitro* reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi* and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology*, 18: 391-392.
- Potter, M., 2003. Soil impacts on canola resistance and biofumigation to root lesion nematode. *In: Horticulture Biofumigation update.17* (Matthiensen, J. & Kirkegaard, J., eds). [online] Disponível na Internet via WWW.URL: http://www.ento.csiro.au/research/pestmgmt/biofumigatin/newsletter_list.htm. Arquivo capturado a 16 de Junho de 2006.

- Prasad, J.S.; Reddy, S.K.V. & Sikora, R.A., 1995. Host of the banana root-lesion nematode, *Pratylenchus goodeyi* in East Africa. *Nematologia Mediterranea*, 23: 253-254.
- Press, J. R. & Short, M.J., 1994. *Flora of Madeira. The Natural History Museum* (Press, J. R. & Short, M.J., eds.). HMSO, London, U.K., 298-300.
- Rahman, L. & Somers, T., 2005. Suppression root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) after incorporation of Indian mustard cv. Nemfix as green manure and seed meal in vineyards. *Australian Plant Pathology*, 34: 77-83.
- Ribeiro, L. & Silva, A., 1998. Preliminary studies of cavendish banana cultivars under the edafoclimatic conditions of Madeira Island. Pp. 85-88. *In: Acta Horticulturae* 490 (Saúco, V.G., ed.). Proceedings of the I International Symposium on Banana in the Subtropics. Puerto de la Cruz, Tenerife, Espanha.
- Rodrigues, M. & Sardinha, D., 1999. Micoses das fruteiras tropicais e subtropicais. Pp. 285-299. *In: Contribuição para a Protecção Integrada na Região autónoma da Madeira* (Carvalho, J. P. de, ed.). Secretaria Regional de Agricultura, Florestas e Pescas, Funchal, Portugal.
- Sakwe, P.N. & Geraert, E., 1994. Species of the genus *Pratylenchus* Filip'jev, 1936 (Nematoda: Tylenchidae) from Cameroon. *Fundamental and Applied Nematology*, 17: 161-173.
- Sarah, J.L.; Sabatina, C. & Boisseau, M., 1993. Differences in pathogenicity to banana (*Musa* sp. Cv. Poyo) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world. *Nematropica*, 23: 75-79.
- Scholte, K., 2000 a. Screening of non-tuber bearing Solanaceae for resistance to and induction of juvenil hatch of potato cyst nematodes and their potencial for trap cropping. *Annals of Applied Biology*, 136: 239-246.
- Scholte, K., 2000 b. Growth and development of plants with potencial for use trap crops for potato cyst nematodes and their effects on the numbers of juveniles in cysts. *Annals of Applied Biology*, 137: 031-042.
- Sharma, G.C. & Bajaj, B.K., 1998. Effect of inter-cropping bell-pepper with ginger on plant parasitic nematode populations and crop yields. *Annals of Applied Biology*, 133: 199-205.

- Shaukat, S.S. & Siddiqui, I.A., 2001. Effect of some phenolic compounds on survival, infectivity and population density of *Meloidogyne javanica* in mungbean. *Nematologia Mediterranea*, 29: 123-126.
- Shaukat, S.S.; Siddiqui, I.A. & Zarina, B., 2004. Effects of some common weeds from Pakistan on Plant-parasitic nematodes *in vitro* and population densities and survival of *Meloidogyne incognita* in Okra and Brinjal. *Nematologia Mediterranea*, 32: 111-115.
- Sipes, B.S. & De Frank, J., 1999. Use of crops and biofumigation for plant parasitic nematode control in pineapple. [online] Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.extento.hawaii.edu/IPM/Biofumigation/default.asp>. Arquivo capturado em Abril de 2006.
- Speijer, P.R.; Kajumba, C. & Ssango, F., 1999. East African highland banana production as influenced by nematodes and crop management in Uganda. *International Journal of Pest Management*, 45: 41-49.
- Stirling, G.R. & Potter, M., 1998. Brassicas may play minor role in biofumigation. *Good Fruit and Vegetables*, 9: 48-49.
- Stoffelen, R.; Jimenez, M.I.; Dierckxsens, C.; Tam, V.T.T.; Swennen, R. & De Waele, D., 1999. Effect of time and inoculum density on the reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks. *Nematology*, 1: 243-250.
- Stover, R. H. & Simmonds, N. W. 1987. *Bananas*. Longman Scientific & Technical, Harlow, Essex, U.K., 468 pp. (cit Pinochet *et al.*, 1995).
- Sundararaju, P.; Padmanaban, B. & Sathiamoorthy, S., 2003. Efficacy of certain botanicals against root-lesion nematode, *Pratylenchus coffeae* in banana. *Nematologia Mediterranea*, 31: 201-205.
- Symon, D.E., 1981. A Revision of Genus *Solanum* in Australia. *Journal of the Adelaide Botanic Gardens*, 4: 1-367. (cit Scholte, 2000 a).
- Trocchi, A.; Pestana, M.; Vovlas, N.; Abrantes, I.M.O. & Santos, M.S.N. de A., 1996. Endoparasitic nematode species, *Pratylenchus goodeyi*, from banana root in Madeira island orchards. II Symposium "Fauna and Flora of the Atlantic Island (abstracts), February, Las Palmas de Gran Canaria, pp. 227.

- Upadhyay, K.D.; Dwivedi, K. & Uttam, S. K., 2003. Effect of some plant extracts on the mortality and hatching of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera cajani* infesting pigeonpea. *Nematologia Mediterranea*, 31: 29-31.
- Velayudhan, K.C. & Upadhyay, M.P., 1994. Collecting okra eggplant and their wild relatives in Nepal. *Plant Genetic Resources Newsletter* 97: 55-57. (cit Scholte, 2000 b).
- Vovlas, N.; Avgelis, A.; Goumas, D. & Frisullo, S., 1994. A survey of banana diseases in sucker propagated plantations in Crete. *Nematologia Mediterranea* 22: 101-107.
- Walker, P.T.; Bridge, J. & Habbleswaithe, 1983. Project for banana control and improvement in Tanzania, produced by TDRI, London. (cit. Nico *et al.*, 1999).
- Walker, G.E., 1997. Effects of Brassica residues and other organic amendments, abundance and sex ratio of *Tylenchulus semipenetrans* in soil. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 37: 693-700.
- Walker, G.E. & Morey, B.G., 1999. Effect of brassica and weed manures on abundance of *Tylenchulus semipenetrans* and fungi in citrus orchard soil. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 39: 65-72.
- Walker, G.E., 2004. Effects of *Meloidogyne javanica* and organic amendments, inorganic fertilisers and nematicides on carrot growth and nematode abundance. *Nematologia Mediterranea*, 32: 181-188.
- Waudu, S.W.; Reddy, S. & Lubega, C. M., 1990. Occurrence and prevalence of banana nematodes in Kenya. *Nematropica*, 36: 400 .
- Whitehead, A.G., 2002. *Plant Nematode Control*. CAB International, Wallingford, U.K. 384pp.

Anexo 1

Resultado da análise de solo adaptado do Boletim de Resultados elaborado pelo Núcleo de Análises de Terras da Divisão de Protecção das Culturas, Laboratório de Qualidade Agrícola.

Ordem de Trabalho: 06119

Data: 07/04/06

Identificação das Amostras de Solos

Referência Agricultor : Bananicultura

| Número da amostra | pH (H ₂ O) | pH (KCl) | Matéria orgânica | Fósforo | Potássio | Azoto (Kjel) | Necessidade Cal (Kg) CaCO ₃ /1000m ² |
|-------------------|-----------------------|----------|------------------|-------------------|----------|--------------|--|
| | | | | Assimilável (ppm) | | | |
| 0600484 | 7,5 | 6,8 | 6,36 | 1740 | 1848 | - | - |

| Número da amostra | Areia (%) | Limo (%) | Argila (%) | Classificação textural |
|-------------------|-----------|----------|------------|------------------------|
| | 2 mm | 0,002 mm | <0,002mm | |
| 0600484 | 41,0 | 26,0 | 33,9 | Franco-Argiloso |

| Número da amostra | Sulfatos | Fosfatos | Boro (ppm) | Azoto | |
|-------------------|----------|----------|------------|----------------|-----------------|
| | | | | Nitratos (ppm) | Amoniacal (ppm) |
| 0600484 | - | - | - | 30,0 | 4,5 |

Apêndice 1

Tabela 1- Teste de homogeneidade de Levene para os valores do efeito de *Solanum sisymbriifolium* no crescimento das plantas de bananeira e no factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi*

| | Estatística Levene | gl 1 | gl 2 | Sig. |
|-----------------|--------------------|------|------|-------|
| Altura (cm) | 0,606 | 4 | 20 | 0,663 |
| Largura (cm) | 1,154 | 4 | 20 | 0,360 |
| Parte aérea (g) | 2,571 | 4 | 20 | 0,065 |
| Raízes (g) | 0,826 | 4 | 20 | 0,524 |
| Rf | 2,325 | 4 | 20 | 0,092 |

Dados normais para $p > 0,05$

gl 1 e gl 2- Graus de liberdade

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 2- Resultados da ANOVA (a um factor) para os parâmetros de crescimento e factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi* nas plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com *Solanum sisymbriifolium*.

| | Soma dos quadrados | | Quadrados médios | | Valor de F | Sig. |
|-----------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------|--------|
| | Entre grupos | Dentro dos grupos | Entre grupos | Dentro dos grupos | | |
| Altura (cm) | 326,400 | 263,100 | 81,600 | 13,155 | 6,203 | 0,002* |
| Largura (cm) | 2,842 | 5,700 | 0,711 | 0,285 | 2,493 | 0,076 |
| Parte aérea (g) | 282056,000 | 1076720,000 | 70514,000 | 53836,000 | 1,310 | 0,300 |
| Raízes (g) | 88567,040 | 2788339,200 | 22141,760 | 139416,960 | 0,159 | 0,957 |
| Rf | 0,011 | 0,003 | 0,003 | 0,000 | 5,145 | 0,000* |

*- Diferenças significativas para $p < 0,05$

F - Estatística do teste ANOVA para cada conjunto de hipóteses

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 3- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para a altura das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi*, em que o solo foi incorporado com *Solanum sisymbriifolium*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | 4,700 | 0,054 |
| | 3 | -6,000* | 0,017 |
| | 4 | -3,000 | 0,206 |
| | 5 | 0,800 | 0,731 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | -4,700 | 0,054 |
| | 3 | -10,700* | 0,000 |
| | 4 | -7,700* | 0,003 |
| | 5 | -0,390 | 0,105 |
| 3 Planta+nemátode+raízes | 1 | 6,000* | 0,017 |
| | 2 | 10,700* | 0,000 |
| | 4 | 3,000 | 0,206 |
| | 5 | 6,800* | 0,008 |
| 4 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | 3,000 | 0,206 |
| | 2 | 7,700* | 0,003 |
| | 3 | -3,000 | 0,206 |
| | 5 | 3,800 | 0,113 |
| 5 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | -0,800 | 0,731 |
| | 2 | 3,900 | 0,105 |
| | 3 | -6,800* | 0,008 |
| | 4 | -3,800 | 0,113 |

*- A diferença das médias é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 4- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para a largura do pseudocaule das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi*, em que o solo foi incorporadas com *Solanum sisymbriifolium*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | 0,320 | 0,355 |
| | 3 | -0,540 | 0,125 |
| | 4 | -0,500 | 0,154 |
| | 5 | -0,440 | 0,207 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | -0,320 | 0,355 |
| | 3 | -0,860* | 0,019 |
| | 4 | -0,820* | 0,025 |
| | 5 | -0,760* | 0,036 |
| 3 Planta+nemátode+raízes | 1 | 0,540 | 0,125 |
| | 2 | 0,860* | 0,019 |
| | 4 | 0,040 | 0,907 |
| | 5 | 0,100 | 0,770 |
| 4 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | 0,500 | 0,154 |
| | 2 | 0,820* | 0,025 |
| | 3 | -0,040 | 0,907 |
| | 5 | 0,060 | 0,861 |
| 5 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | 0,440 | 0,207 |
| | 2 | 0,760* | 0,036 |
| | 3 | -0,100 | 0,770 |
| | 4 | -0,060 | 0,861 |

*- A diferença de médias é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 5- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para o factor de reprodução de *Pratylenchus goodeyi* nas plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com *Solanum sisymbriifolium*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 3 | 0,0500* | 0,000 |
| | 4 | 0,0460* | 0,000 |
| | 5 | 0,0480* | 0,000 |
| 3 Planta+nemátode+raízes | 2 | -0,0500* | 0,000 |
| | 3 | -0,0040 | 0,614 |
| | 4 | -0,0020 | 0,800 |
| 4 Planta+nemátode+parte aérea | 2 | -0,0460* | 0,000 |
| | 3 | 0,0040 | 0,614 |
| | 5 | 0,0020 | 0,800 |
| 5 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 2 | -0,0480* | 0,000 |
| | 3 | 0,0020 | 0,800 |
| | 4 | -0,0020 | 0,800 |

*- A diferença das médias é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 6- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para o peso da parte aérea das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi*, em que o solo foi incorporado com *Solanum sisymbriifolium*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | -128,000 | 0,393 |
| | 3 | -274,000 | 0,077 |
| | 4 | -280,000 | 0,071 |
| | 5 | -230,000 | 0,133 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | 128,000 | 0,393 |
| | 3 | -146,000 | 0,332 |
| | 4 | -152,000 | 0,313 |
| | 5 | -102,000 | 0,495 |
| 3 Planta+nemátode+raízes | 1 | 274,000 | 0,077 |
| | 2 | 146,000 | 0,332 |
| | 4 | -6,000 | 0,968 |
| | 5 | 44,000 | 0,767 |
| 4 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | 280,000 | 0,077 |
| | 2 | 152,000 | 0,313 |
| | 3 | 6,000 | 0,968 |
| | 5 | 50,000 | 0,737 |
| 5 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | 230,000 | 0,133 |
| | 2 | 102,000 | 0,495 |
| | 3 | -44,000 | 0,767 |
| | 4 | -50,000 | 0,737 |

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 7- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para o peso das raízes das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi*, em que o solo foi incorporado com *Solanum sisymbriifolium*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | 70,400 | 0,769 |
| | 3 | 100,000 | 0,676 |
| | 4 | 184,000 | 0,445 |
| | 5 | 108,000 | 0,652 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | -70,400 | 0,769 |
| | 3 | 29,600 | 0,902 |
| | 4 | 113,600 | 0,636 |
| | 5 | 37,600 | 0,875 |
| 3 Planta+nemátode+raízes | 1 | -100,00 | 0,676 |
| | 2 | -29,600 | 0,902 |
| | 4 | 84,000 | 0,726 |
| | 5 | 8,000 | 0,973 |
| 4 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | -184,000 | 0,445 |
| | 2 | -113,600 | 0,636 |
| | 3 | -84,000 | 0,726 |
| | 5 | -76,000 | 0,751 |
| 5 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | -108,000 | 0,652 |
| | 2 | -37,600 | 0,875 |
| | 3 | -8,000 | 0,973 |
| | 4 | 76,000 | 0,751 |

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Apêndice 2

Tabela 1- Teste de homogeneidade de Levene para os valores do efeito de *Solanum nigrum* no crescimento das plantas de bananeira e no factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi*.

| | Estatística Levene | gl 1 | gl 2 | Sig. |
|-----------------|--------------------|------|------|-------|
| Altura (cm) | 0,868 | 4 | 20 | 0,500 |
| Largura (cm) | 1,247 | 4 | 20 | 0,323 |
| Parte aérea (g) | 1,479 | 4 | 20 | 0,246 |
| Raízes (g) | 1,197 | 4 | 20 | 0,343 |
| Rf | 2,168 | 4 | 20 | 0,110 |

Dados normais para $p > 0,05$

gl 1 e gl 2- Graus de liberdade

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 2- Resultados da ANOVA (a um factor) para os parâmetros de crescimento e factor de reprodução (Rf) de *Pratylenchus goodeyi* nas plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com *Solanum nigrum*.

| | Soma dos quadrados | | Quadrados médios | | Valor de F | Sig. |
|-----------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------|--------|
| | Entre grupos | Dentro dos grupos | Entre grupos | Dentro dos grupos | | |
| Altura (cm) | 350,960 | 311,000 | 87,740 | 15,550 | 5,642 | 0,003* |
| Largura (cm) | 1,866 | 3,892 | 0,467 | 0,195 | 2,398 | 0,084 |
| Parte aérea (g) | 104004,000 | 875640,000 | 26001,000 | 43782,000 | 0,594 | 0,671 |
| Raízes (g) | 192613,760 | 2395120,400 | 48153,440 | 119756,020 | 0,402 | 0,805 |
| Rf | 0,011 | 0,010 | 0,003 | 0,001 | 5,145 | 0,005* |

* - Diferenças significativas para $p < 0,05$

F - Estatística do teste ANOVA para cada conjunto de hipóteses

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 3 - Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para a altura das plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com *Solanum nigrum*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | 4,700 | 0,074 |
| | 6 | -5,800* | 0,031 |
| | 7 | -4,400 | 0,093 |
| | 8 | -3,200 | 0,214 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | -4,700 | 0,074 |
| | 6 | -10,500* | 0,000 |
| | 7 | -9,100* | 0,002 |
| | 8 | -7,900* | 0,005 |
| 6 Planta+nemátode+raízes | 1 | 5,800* | 0,031 |
| | 2 | 10,500* | 0,000 |
| | 7 | 1,400 | 0,581 |
| | 8 | 2,600 | 0,310 |
| 7 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | 4,400 | 0,093 |
| | 2 | 9,100* | 0,002 |
| | 6 | -1,400 | 0,581 |
| | 8 | 1,200 | 0,636 |
| 8 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | 3,200 | 0,214 |
| | 2 | 7,900* | 0,005 |
| | 6 | -2,600 | 0,310 |
| | 7 | -1,200 | 0,636 |

* - A diferença das médias é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 4- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para a largura do pseudocaule das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi* em que o solo foi incorporado com *Solanum nigrum*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | 0,3200 | 0,265 |
| | 6 | -0,3400 | 0,237 |
| | 7 | -0,4400 | 0,130 |
| | 8 | 0,0200 | 0,944 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | -0,3200 | 0,265 |
| | 6 | -0,6600* | 0,028 |
| | 7 | -0,7600* | 0,013 |
| | 8 | -0,3000 | 0,295 |
| 6 Planta+nemátode+raízes | 1 | 0,3400 | 0,237 |
| | 2 | 0,6600* | 0,028 |
| | 7 | -0,1000 | 0,724 |
| | 8 | 0,3600 | 0,212 |
| 7 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | 0,4400 | 0,130 |
| | 2 | 0,7600* | 0,013 |
| | 6 | 0,1000 | 0,724 |
| | 8 | 0,4600 | 0,115 |
| 8 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | -0,0200 | 0,944 |
| | 2 | 0,3000 | 0,295 |
| | 6 | -0,3600 | 0,212 |
| | 7 | -0,4600 | 0,115 |

*- A diferença de médias é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 5- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para o factor de reprodução de *Pratylenchus goodeyi* nas plantas de bananeira em que o solo foi incorporado com *Solanum nigrum*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 6 | 0,01000 | 0,493 |
| | 7 | 0,01800 | 0,223 |
| | 8 | 0,03600* | 0,021 |
| 6 Planta+nemátode+raízes | 2 | -0,01000 | 0,493 |
| | 7 | 0,00800 | 0,582 |
| | 8 | 0,02600 | 0,084 |
| 7 Planta+nemátode+parte aérea | 2 | -0,01800 | 0,223 |
| | 6 | -0,00800 | 0,582 |
| | 8 | 0,01800 | 0,223 |
| 8 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 2 | -0,03600* | 0,021 |
| | 6 | 0,02600 | 0,084 |
| | 7 | -0,01800 | 0,223 |

* - A diferença das médias é significativa para $p < 0,05$

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 6-Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para o peso da parte aérea das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi*, em que o solo foi incorporado com *Solanum nigrum*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | -128,000 | 0,345 |
| | 6 | -146,000 | 0,283 |
| | 7 | -170,000 | 0,214 |
| | 8 | -45,000 | 0,737 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | 128,000 | 0,345 |
| | 6 | -18,000 | 0,893 |
| | 7 | -42,000 | 0,754 |
| | 8 | 83,000 | 0,538 |
| 6 Planta+nemátode+raízes | 1 | 146,000 | 0,283 |
| | 2 | 18,000 | 0,893 |
| | 7 | -24,000 | 0,858 |
| | 8 | 101,000 | 0,454 |
| 7 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | 170,000 | 0,214 |
| | 2 | 42,000 | 0,754 |
| | 6 | 24,000 | 0,858 |
| | 8 | 125,000 | 0,356 |
| 8 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | 45,000 | 0,737 |
| | 2 | -83,000 | 0,538 |
| | 6 | -44,000 | 0,454 |
| | 7 | -101,000 | 0,356 |

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

Tabela 7- Resultados do teste de Fisher LSD (Least Significant Differences) para o peso das raízes das plantas de bananeira, infectadas com *Pratylenchus goodeyi*, em que o solo foi incorporado com *Solanum nigrum*.

| Tratamento (I) | Tratamento (J) | Diferença de médias (I-J) | Sig. |
|--|----------------|---------------------------|-------|
| 1 Testemunha (planta) | 2 | 70,400 | 0,751 |
| | 6 | -27,600 | 0,901 |
| | 7 | 220,000 | 0,327 |
| | 8 | 20,000 | 0,928 |
| 2 Testemunha (planta+nemátode) | 1 | -70,400 | 0,751 |
| | 6 | -98,000 | 0,659 |
| | 7 | 149,600 | 0,502 |
| | 8 | -50,400 | 0,820 |
| 6 Planta+nemátode+raízes | 1 | 27,600 | 0,901 |
| | 2 | 98,000 | 0,659 |
| | 7 | 247,600 | 0,271 |
| | 8 | 47,600 | 0,830 |
| 7 Planta+nemátode+parte aérea | 1 | -220,000 | 0,327 |
| | 2 | -149,600 | 0,502 |
| | 6 | -247,000 | 0,271 |
| | 8 | -200,000 | 0,372 |
| 8 Planta+nemátode+raízes e parte aérea | 1 | -20,000 | 0,928 |
| | 2 | 50,400 | 0,820 |
| | 6 | -47,600 | 0,830 |
| | 7 | 200,000 | 0,372 |

Sig.- Probabilidade de significância associada a cada conjunto de hipóteses

