UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE MESTRADO

FRAÇÕES DE RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL NO CONTROLE DE

Pratylenchus coffeae, Meloidogyne incognita E M. enterolobii

YASMIN KÉSSIA ARAÚJO LOPES

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA AGOSTO – 2021

FRAÇÕES DE RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL NO CONTROLE DE

Pratylenchus coffeae, Meloidogyne incognita E M. enterolobii

YASMIN KÉSSIA ARAÚJO LOPES

Engenheira Agrônoma Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientadora: Prof.a Dra. Ana Cristina

Fermino Soares

Coorientadora: Prof.a. Dra. Caline Gomes

Ferraz

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA AGOSTO - 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

L864f

Lopes, Yasmin Késsia Araújo.
Frações de residuo líquido de sisal no controle de
Pratylenchus coffeae, Meloidogyne incognita e M.
enterolobii / Yasmin Késsia Araújo Lopes. Cruz das Almas, Bahia, 2021.

73f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Ciências Agrárias, Orientadora: Prof. Dra. Ana Cristina Fermino Soares. Coorientadora: Prof. Dra. Caline Gomes Ferraz.

 1.Fitonematóides – Controle biológico.
 2.Fitonematóides – Pragas agrícolas. 3.Resíduos orgânicos – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Titulo.

CDD: 632.96

Ficha elaborada pela Biblioleca Central de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615) & Neubler Nilo Ribeiro da Cunha (Bibliotecário - CRB5/1578). (os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE MESTRADO

FRAÇÕES DE RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL NO CONTROLE DE

Pratylenchus coffeae, Meloidogyne incognita E M. enterolobii

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO DE YASMIN KÉSSIA ARAÚJO LOPES

Realizada em 16 de Agosto de 2021

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB (Orientadora)

Prof^a. Dr^a. Leilane Silveira D'Ávila Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB Examinador Interno

Drº. Juan Manuel Anda Rocabado Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB Examinador Interno

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser essencial em minha vida e estar sempre presente iluminando meu caminho.

Aos meus pais, Ivanilton e Edelzuita, razões do meu viver, meu espelho de vida, sempre presentes me apoiando em todas as escolhas feitas ao longo dessa jornada, não tenho palavras para expressar minha gratidão a vocês.

Ao ser de luz que está sendo gerado em meu ventre, meu filho Heitor, minha força diária para superar todos os desafios e me fazer forte para conseguir alcançar meus objetivos, que hoje, são nossos. Aos meus irmãos, Yslana, Joice e Miguel, por estarem sempre presente me apoiando, ajudando e me dando força em todos os momentos. Agradeço a toda minha família por todo carinho e amor.

Á Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias por me possibilitar um ensino de qualidade e ampliar as oportunidades no campo profissional. Aos professores da UFRB por todo o conhecimento adquirido.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

À minha orientadora, Ana Cristina Fermino soares, pela oportunidade, orientação, ensinamentos, paciência, amizade e compreensão das minhas limitações. Obrigada por acreditar na minha capacidade e sempre me incentivar a buscar sempre mais. As minhas coorientadoras Josilda Damasceno e Caline Ferraz, pela orientação, conselhos e por toda a ajuda, sendo fundamental para a realização deste trabalho.

A toda equipe do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, que me acolheram durante esse tempo e me proporcionaram bons momentos, em especial a técnica Zozilene e a todos os amigos que não fazem mais parte desse grupo, Fábio, Maria, Joseane, Anailde e Audrey pela constante presença, ajuda nos trabalhos e amizade. Aos amigos, por todo apoio, incentivo e por tornarem essa caminhada mais leve.

A todos que torceram por mim e estiveram presentes em minha trajetória desde o início, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
REFERENCIAL TEÓRICO	9
CAPÍTULO 1	
AÇÃO NEMATICIDA DE FRAÇÕES DO RESÍDUO DE SISAL SOBRE	Pratylenchus
coffeae	27
CAPÍTULO 2	
AÇÃO NEMATICIDA DE FRAÇÕES DO RESÍDUO DE SISAL SOBRE	Meloidogyne
incognita e M. enterolobii	48
CONSIDERAÇÕES FINAIS	74

FRAÇÕES DE RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL NO CONTROLE DE Pratylenchus coffeae, Meloidogyne incognita E M. enterolobii.

Autora: Yasmin Késsia Araújo Lopes

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO: A ação nematicida do resíduo líquido bruto de sisal e de suas frações obtidas por partição líquido-líquido com solventes orgânicos foi avaliada em nematoide das lesões radiculares Pratylenchus coffeae e nematoides das galhas Meloidogyne incognita e M. enterolobii. Os ensaios in vitro foram realizados com quatro tipos de extratos (resíduo líquido bruto e frações em hexano, diclorometano e acetato de etila) e cinco concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹). O resíduo líquido bruto e a fração em diclorometano foram os mais eficientes no controle de P. coffeae, causando até 99 e 95% de mortalidade dos nematoides, nas concentrações, 139 e 156 mg L⁻¹. O resíduo bruto foi responsável por 98% de mortalidade dos juvenis de *M*. incognita, sendo esse o extrato mais eficiente, seguido da fração em diclorometano que causou 93% de mortalidade, nas concentrações de 153 e 172 mg L-1, respectivamente. Para a espécie M. enterolobii, o resíduo bruto causou 97% de mortalidade dos juvenis e a fração em diclorometano causou 95% de mortalidade. O potencial desse resíduo e das frações no controle de nematoides foi demonstrado, sendo necessária a realização dos testes em plantas inoculadas com nematoides e em campo, para confirmação da sua atividade nematicida.

Palavras-chave: Agave sisalana; fitonematoides; manejo sustentável; subproduto agrícola.

SISAL LIQUID WASTE FRACTIONS IN THE CONTROL OF Pratylenchus coffeae, Meloidogyne incognita AND M. enterolobii.

Author: Yasmin Késsia Araújo Lopes Adviser: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: The nematicidal effect of sisal crude liquid residue and its fractions obtained by liquid-liquid partition with organic solvents was evaluated for the root lesion nematode Pratylenchus coffeae and root-knot nematodes Meloidogyne incognita e M. enterolobii. The in vitro tests were carried out with four types of extracts (crude liquid residue and its fractions in hexane, dichloromethane and ethyl acetate) and five concentrations (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹). The crude liquid residue and the fraction in dichloromethane were the most efficient ones for controlling P. coffeae, causing up to 99 and 95% of nematode mortality, with the concentrations of 139 and 156 mg L⁻¹. The crude residue was responsible for 98% mortality of juveniles of *M. incognita*, being this the most efficient extract, followed by the fraction in dichloromethane which caused 93% of mortality, at concentration of 153 and 172 mg L⁻¹, respectively. For the species M. enterolobii, the crude liquid residue caused 97% mortality of juveniles and the fraction in diclorometano caused 95% mortality. The potential of these fractions for nematode control was confirmed, making it necessary to carry out tests for nematicidal activity in plants inoculated with the nematodes and in field experiments to confirm the nematicidal activity.

Keywords: *Agave sisalana*; phytonematodes; sustainable management; agricultural by-product.

REFERENCIAL TEÓRICO

FITONEMATOIDES

O Filo Nematoda constitui o grupo de animais multicelulares mais abundantes do globo terrestre, no qual se encontram os nematoides (BLOEMERS et al., 1997). Estes organismos podem viver em diferentes habitats contendo água e no solo e se movimentam no filme de água presente entre as suas partículas (ELSAYEDI; NADA, 2014).

Os nematoides são vermes cilíndricos, de corpo transparente, medindo geralmente entre 0,2 a 3 mm de comprimento, encontrados em mares, rios, lagos e no filme de água do solo (FERRAZ; BROWN, 2016). Existe uma grande diversidade de espécies entre os indivíduos do Filo Nematoda, podendo estes serem agrupados em níveis tróficos, de acordo com seus hábitos alimentares, em: 1) nematoides de vida livre, conhecidos por seus efeitos benéficos à agricultura, e de forma geral podem ser bacteriófagos, fungívoros, predadores e onívoros, 2) zooparasitas, parasitas de animais vertebrados ou invertebrados, e 3) nematoides parasitas de plantas, denominados fitonematoides, que correspondem a aproximadamente 15% das espécies descritas (FERRAZ; BROWN, 2016; RITZINGER; FANCELLI, 2006; ELSAYEDI; NADA, 2014).

Os fitonematoides são organismos microscópicos que habitam o solo e parasitam as raízes, caules, e alguns órgãos da parte aérea das plantas, para se alimentarem e multiplicarem, causando danos às principais culturas de importância econômica e de subsistência em todo o mundo (LIMA et al., 2019; DIAS-ARIEIRA 2010; FREITAS et al., 2014; D'ADDABO 2014). Estes organismos são bem adaptados ao parasitismo e desenvolveram uma relação intima e obrigatória com as plantas hospedeiras (MITCHUM et al., 2013). Através de seu estilete bucal, os fitonematoides perfuram a parede celular das células das plantas, ingerindo seu conteúdo citoplasmático. Alguns fitonematoides, por meio da injeção de secreções enzimáticas produzidas pelas glândulas esofágicas, modificam as células hospedeiras transformando-as em uma fonte permanente de nutrição (HUSSEY, 1989). Conforme seu modo de parasitismo, estes organismos podem ser ectoparasitas, quando introduzem apenas o estilete bucal nas células das raízes, permanecendo com o

corpo para fora, ou endoparasitas, quando penetram completamente nas raízes, podendo ser migradores ou sedentários (FERRAZ; BROWN, 2016).

O ciclo de vida desses organismos dura em média de 3 a 4 semanas, dependendo das condições de temperatura e umidade, com as seguintes fases: ovo, 4 estádios juvenis (J1 a J4) e adultos (fêmea e macho). A sua reprodução é sexuada, podendo ser por anfimixia (fertilização cruzada), ou por partenogênese, comum nos gêneros Meloidogyne e Pratylenchus, em que a presença do macho não é necessária. Algumas espécies apresentam alta capacidade de reprodução e ao longo do tempo podem causar graves problemas às plantações em áreas infestadas, com redução na vida útil do cultivo (LOPES; FERRAZ, 2016; DIAS-ARIEIRA et al., 2008). Ao parasitarem as raízes das plantas, os fitonematoides promovem a destruição do sistema radicular, induzindo a formação de nodulações ou lesões necróticas que afetam diretamente a absorção de água e nutrientes. Os fitonematoides causam redução no crescimento das plantas, aumento do ciclo vegetativo, com consequente redução na produção, podendo causar o tombamento e morte da planta (BROOKS, 2004; FERRAZ. BROWN, 2016; RITZINGER; FANCELLI, 2006). Os sintomas causados por fitonematoides, muitas vezes podem ser confundidos com deficiências nutricionais ou doenças causadas por outros patógenos, a exemplo de fungos, bactérias e vírus (DIAS-ARIEIRA et al., 2008).

No Brasil, os nematoides fitoparasitas estão entre as causas das principais doenças do sistema radicular, gerando prejuízos econômicos na agricultura (MESSA et al., 2020). As perdas agrícolas provocadas por esses patógenos não são precisas e muitas vezes são subestimadas, devido à relação com danos causados por outras doenças, estresses abióticos, presença de plantas espontâneas e tratos culturais inadequados, o que dificulta a sua real avaliação (RITZINGER; FANCELLI, 2006). No âmbito mundial, as perdas de produção causadas por infecções de nematoides fitoparasitas são economicamente significativas, estando em torno de 100 bilhões de dólares por ano (HOLDEN-DYE; WALKER, 2011; FLEMING et al., 2016). De acordo com Machado (2015), no Brasil as perdas causadas por nematoides na agricultura são de ordem de R\$ 35 bilhões. A média global estimada para perdas de rendimento anual causadas por estes fitopatógenos em frutas e hortaliças é de 12 e 11%, respectivamente (RAO et al., 2016).

NEMATOIDES DAS GALHAS – *Meloidogyne* spp.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são conhecidos como nematoides das galhas por causarem o engrossamento das raízes das plantas hospedeiras, em função do seu parasitismo. Este gênero de fitonematoides é considerado o de maior relevância econômica no mundo, devido aos prejuízos causados à agricultura (FERRAZ; BROWN, 2016). Atualmente, são conhecidas mais de 100 espécies desse gênero, sendo as principais causadoras de danos na agricultura: *M. incognita, M. javanica, M. arenaria, M. hapla e M. enterolobii* (HUNT; HADOO, 2009; ELLING, 2013; FERRAZ; BROWN, 2016).

Os nematoides das galhas parasitam muitas espécies vegetais, incluindo culturas de importância econômica, exibindo alto grau de polifagia e ampla distribuição geográfica. No Brasil, estes indivíduos assumem papel de destaque por estarem amplamente disseminados em diversas áreas de produção e associados a diferentes culturas. Esses nematoides causam inúmeros prejuízos em diversas plantas cultivadas, a exemplo de fruteiras como aceroleira, mamoeiro, mangueira, videira, figueira, abacaxizeiro, goiabeira, maracujazeiro e bananeira (DIAS-ARIEIRA et al., 2008). Destacam-se problemas causados na cultura da goiabeira, devido ao ataque de M. enterolobii, principalmente na região de Petrolina, Pernambuco (Carneiro et al., 2001), na cultura da bananeira, parasitada principalmente por *M. incognita e M.* javanica, e em hortaliças causando danos principalmente em cenoura, batata, beterraba, batata doce, tomate, pimenta e cucurbitáceas (PINHEIRO, 2017). Algumas espécies de nematoides das galhas, M. javanica, M. incognita, M. arenaria e principalmente M. enterolobii tem sido associadas à aceroleira, por causarem redução da produção e qualidade dos frutos no Submédio do Vale do Rio São Francisco (SANTOS et al., 2020). Estas espécies podem causar a morte das plantas no campo e redução da produtividade das plantas sobreviventes em locais com elevada infestação (DIAS-ARIEIRA 2010; FERRAZ; BROWN, 2016; CANTU et al., 2009).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários, apresentando dimorfismo sexual bastante acentuado. As fêmeas quando adultas possuem o corpo globoso em formato de pêra, enquanto os machos são vermiformes. A sua reprodução acontece por anfimixia e/ou partenogênese, sendo esta última a forma mais comum em nematoides desse gênero. A duração do ciclo biológico depende das condições de temperatura e umidade, e da planta hospedeira, e sob

condições favoráveis, estes completam seu ciclo entre 3 à 4 semanas. As fêmeas depositam seus ovos em uma massa gelatinosa na superfície das raízes, podendo cada fêmea depositar em média de 400 a 500 ovos por ciclo. A temperatura adequada para a eclosão, desenvolvimento e reprodução desses nematoides é entre 23 e 30 °C (BALDACCI-CRESP et al., 2018; FERRAZ; BROWN, 2016; DIAS-ARIEIRA et al., 2008).

O ciclo de vida dos nematoides das galhas tem início no ovo. Após a embriogênese, forma-se o juvenil de primeiro estádio (J1) que ainda dentro do ovo sofre a 1º ecdise, eclodindo como J2, que é a fase infectante ou pré-parasita. O J2 move-se no solo em busca de raízes e através de seu estilete bucal penetra na região meristemática da raiz, migrando pelo córtex até a definição de um local adequado para servir como sítio para alimentação. Após o estabelecimento do sítio de alimentação, a partir da injeção de secreções das glândulas esofagianas que causam a formação de células nutridoras ou gigantes denominadas de cenócitos, responsáveis por produzir o alimento necessário ao desenvolvimento e reprodução do nematoide, o J2 passa então a se nutrir. O J2 perde então sua mobilidade, tornando-se sedentário e adquirindo a forma salsichoide, passando ainda por mais 2 ecdises (J3 e J4), até se tornarem adultos (machos ou fêmeas). As fêmeas continuam se alimentando pelo resto da vida nas células nutridoras, tornando-se sedentárias, e os machos migram novamente para o solo (FERRAZ; BROWN, 2016).

O principal sintoma do parasitismo por nematoides do gênero *Meloidogyne* é a formação de galhas no sistema radicular, devido a hipertrofia e hiperplasia das células, causada pela infecção dos nematoides. Essas modificações morfológicas e bioquímicas nas células da raiz causam a redução na absorção de água e nutrientes, interferindo diretamente no desenvolvimento da parte aérea da planta, causando crescimento anormal e sintomas de deficiência nutricional, resultando na redução do potencial produtivo e até senescência da planta (MOENS et al., 2009; FERRAZ; BROWN, 2016).

NEMATOIDE DAS LESÕES RADICULARES- Pratylenchus spp.

Os fitonematoides pertencentes ao gênero *Pratylenchus* são conhecidos como nematoides das lesões radiculares por causarem lesões necróticas nas raízes das plantas hospedeiras. São polífagos e parasitam muitas espécies vegetais, estando disseminados principalmente em regiões tropicais e subtropicais, causando prejuízos

em diversas culturas de importância econômica e social, em todo o mundo (TIHOHOD, 1993; GOULART, 2008; FERRAZ; BROWN, 2016).

O gênero *Pratylenchus* ocupa mundialmente o segundo lugar entre os nematoides fitoparasitas, em termos de danos e perdas econômicas causadas em diversas culturas agrícolas, ficando atrás apenas do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.). As principais espécies e de maior frequência no Brasil são: *P. brachyurus*, *P. zeae* e *P. coffeae* (GONZAGA; SANTOS, 2010; FERRAZ, BROWN, 2016). Atualmente, são conhecidas 70 espécies desse gênero, distribuídas mundialmente e associadas a prejuízos causados em diversas culturas de importância economia e social, a exemplo da soja, feijão, algodão, milho, café, cana-de-açúcar, além de diversas forrageiras, hortaliças e frutíferas (DIAS-ARIEIRA et al., 2010; FERRAZ; BROWN, 2016). No Brasil, a espécie *P. coffeae* tem sido observada causando danos em cultivos de café, banana, citros, inhame, graviola e batata, resultando em perdas significativas de produtividade (GOULART 2008; FERRAZ; BROWN, 2016; WAWERU et al., 2013).

Os nematoides das lesões radiculares são endoparasitas migratórios e responsáveis pelo rompimento superficial e destruição interna das células parasitadas, devido à sua movimentação e liberação de enzimas das glândulas esofagianas no processo de alimentação. O ciclo de vida desses patógenos é relativamente curto, com duração de 3 a 6 semanas, em condições favoráveis de temperatura e da planta hospedeira. A temperatura para o seu desenvolvimento e reprodução fica entre 26,7 e 32,2 °C, sendo sua reprodução tanto por anfimixia como partenogênese. Em espécies de *P. coffeae* é comum a reprodução por anfimixia. As fêmeas colocam seus ovos no interior das raízes infectadas ou no solo próximo à superfície das raízes, sem a formação de massa de ovos e cada fêmea coloca em média 70 a 150 ovos por ciclo (DIAS-ARIEIRA et al., 2010; FERRAZ; BROWN, 2016).

A infecção por esses organismos inicia-se com a penetração de juvenis (J1 a J4) e adultos nas extremidades das raízes. Estes por sua vez deslocam-se até o cilindro central das raízes e iniciam seu processo de migração pelo córtex. Ao atingirem as células abaixo da epiderme, inserem sucessivamente seu estilete bucal através das paredes celulares para ingestão do conteúdo citoplasmático, facilitado pela liberação de secreções enzimáticas. As células parasitadas se rompem devido à ação mecânica e enzimática formando longas cavidades no córtex. As raízes infectadas apresentam lesões necróticas, com coloração pardo-clara a marrom-

avermelhada, predispondo-as a infecções secundárias por outros patógenos do solo, geralmente fungos e bactérias (FERRAZ; BROWN, 2016).

O fitoparasitismo por *Pratylenchus* spp. reduz a absorção de água e nutrientes, além de causar redução do volume do sistema radicular e o apodrecimento das raízes. Em virtude disso, o sistema radicular torna-se pouco funcional na sustentação das plantas, podendo causar o tombamento da planta, sintoma muito observado em bananais em todo o Brasil. Sintomas secundários devido à infecção por esses fitonematoides são observados geralmente na parte aérea das plantas, como aparecimento de clorose, murcha nas horas mais quentes do dia, outros sintomas de deficiências nutricionais e com distribuição agregada no campo, denominadas reboleiras (FERRAZ; BROWN, 2016).

DISSEMINAÇÃO E MANEJO DE FITONEMATOIDES

A mobilidade de nematoides no solo ocorre de forma bastante limitada, não excedendo alguns centímetros de distância, sendo estes organismos passivos quanto a sua habilidade de dispersão. A disseminação desses patógenos em curtas e longas distâncias ocorre por agentes de dispersão como por exemplo, com a movimentação do solo infestado aderido às máquinas e implementos agrícolas, com os animais, a água de irrigação contaminada e principalmente pelo homem através da utilização de material propagativo contaminado (DIAS-ARIEIRA et al., 2008; FERRAZ; BROWN, 2016; AGRIOS, 2004).

Os problemas causados por fitonematoides constituem uma das principais limitações para a produtividade dos cultivos agrícolas. A prevenção é a melhor forma de controle, evitando a entrada desses patógenos nas áreas de produção agrícola, pois uma vez estabelecidos nas áreas, pois o seu controle se torna muito difícil e seu manejo é baseado na adoção de medidas que visam diminuir a sua população no campo (DIAS-ARIERIA et al., 2008; FERRAZ; BROWN, 2016).

O controle químico com a utilização de nematicidas sintéticos é o mais utilizado. Contudo, além de onerar os custos de produção, seu uso de forma indiscriminada oferece riscos à saúde do homem e animais, afeta a microbiota do solo, polui o ambiente com a contaminação do lençol freático e favorece o desenvolvimento de populações de nematoides resistentes (KHALIL et al., 2019; RITZINGER; FANCELLI, 2006; PINHEIRO et al., 2019). A retirada de muitos agrotóxicos do mercado, a exemplo da proibição do brometo de metila, fumigante multiuso mais utilizado para a

proteção vegetal, torna obrigatória a integração de métodos alternativos de controle de pragas e de microrganismos patogênicos (NTALLI et al., 2020).

O manejo integrado de nematoide (MIN) constitui em um conjunto de estratégias que tem como objetivo principal prevenir a ocorrência de altas populações de nematoides, evitando danos significativos e perdas econômicas na produção agrícola. O MIN envolve a incorporação de matéria orgânica ao solo, uso de variedades resistentes e/ou tolerantes, rotação de culturas com plantas não hospedeiras, remoção de restos culturais, utilização de plantas antagônicas, controle biológico e, como último recurso, o controle químico, sendo o MIN um método ecologicamente sustentável e economicamente viável (FERRAZ; BROWN, 2016; RITZINGER; FANCELLI, 2006).

Métodos alternativos ao controle químico, e ecologicamente corretos para estratégias de manejo de fitonematoides, que diminuam os custos, aumentem a produção e não agridam o ambiente, vem sendo pesquisados. Como exemplos, temse o uso de agentes de biocontrole, compostos biocidas provenientes de espécies vegetais e aditivos orgânicos (NTALLI; CABONI, 2012; RITZINGER; FANCELLI, 2006; NOLENGE E BECKER, 2004). A incorporação de resíduos vegetais ao solo tem demonstrado eficiência, sendo considerado um método sustentável para a redução de populações de nematoides fitoparasitas no solo (ARAUJO; GENTIL, 2010; RITZINGER; FANCELLI, 2006).

SUBPRODUTOS AGRÍCOLAS NO MANEJO DE FITONEMATOIDES

O uso de resíduos orgânicos e de compostos de origem vegetal tem se tornado um método cada vez mais demandado no manejo de fitonematoides (BRENNAN et al., 2020). A busca por estratégias de controle de fitonematoides que sejam menos agressivas ao ambiente e ao homem e que assegurem o desenvolvimento sustentável da agricultura tem recebido muito interesse de pesquisadores e produtores, visando a substituição de nematicidas sintéticos (LIMA et al., 2019; D'ADDABBO et al., 2014). De fato, a utilização de resíduos de atividades agrícolas e extratos vegetais tem recebido destaque no controle de pragas e micro-organismos patogênicos. Muitos resíduos e extratos apresentam compostos com atividade nematicida e apresentam facilidade de obtenção pelo produtor, com menor custo, quando comparado aos nematicidas sintéticos, minimizando ainda os problemas que são observados com o uso de produtos químicos sintéticos (MORAIS et al., 2009).

Uma grande quantidade de resíduos orgânicos e subprodutos agrícolas são gerados, a partir de processos agroindustriais. Os subprodutos agroindustriais mais estudados no controle de nematoides são: a manipueira (NASU et al., 2015), a torta de mamona (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2010), a vinhaça (MATOS et al., 2011), cascas de frutas, resíduos celulósicos e extratos vegetais (FERRAZ et al., 2012), resíduo líquido de sisal (DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015), dentre outros.

A utilização e o gerenciamento desses resíduos são desejáveis do ponto de vista ecológico, para que se alcance uma produção agrícola mais sustentável, com a diminuição do descarte inadequado desses resíduos no meio ambiente (NICO et al., 2004; FERRAZ et al., 2012). A economia verde propõe o reaproveitamento dos resíduos para geração de alimentos e outros produtos com valor comercial, impulsionando o crescimento econômico, além de possibilitar a redução da pobreza, através da geração de renda, preservação dos е recursos naturais (MATZEMBACHER; MEIRA, 2020; PEREIRA, 2021).

Os resíduos orgânicos podem ser utilizados de diversas formas, através de práticas como a incorporação de restos vegetais no solo e o uso de produtos vegetais preparados com esses resíduos, como formulados e farinhas de sementes, óleos essenciais ou extratos e frações de extratos vegetais (BRENNAN et al., 2020). Muitos estudos têm demonstrado o potencial de resíduos agrícolas no manejo de fitonematoides. Uma variedade de materiais orgânicos vem sendo utilizada no controle de doenças causadas por patógenos do solo, incluindo nematoides fitoparasitas, a exemplo do uso de manipueira, torta de sementes, resíduos do processamento da cana-de-açúcar, resíduos celulósicos, extratos vegetais, resíduo líquido de sisal dentre outros (FORGE et al., 2016; FERRAZ et al., 2012; DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015). Como exemplo, Tabarant et al. (2011) reportaram uma redução de 96% da população de fitonematoides no solo, com a utilização de bagaço da cana-de-açúcar, resíduo vegetal e lodo da cana-de-açúcar no controle de nematoides parasitas de plantas. Martins e Santos (2016) relataram a mortalidade total, em condições in vitro, de M. incognita com a utilização de extratos de lombrigueira (Spigelia anthelmia), agrião-do-brejo (Eclipta alba L.) e mastruz (Chenopodium ambrosioides)

Muitas espécies vegetais apresentam metabólitos secundários com atividade biocida e ação na supressão de fitonematoides. Estas são moléculas que atuam na

defesa vegetal contra o ataque de microrganismos patogênicos e pragas (ZHÃO et al., 2016; D'ADDABOO et al., 2014). Compostos biocidas naturais presentes nos tecidos das plantas como: saponinas, alcaloides, compostos fenólicos, ácidos graxos e taninos agem de forma independente ou conjunta em vários processos biológicos que afetam a sobrevivência e desenvolvimento de nematoides. A supressão de nematoides por fitoquímicos pode ser o resultado de vários mecanismos como repelência, desorientação, captura do nematoide, estimulação ou inibição da eclosão de ovos e ação de toxicidade sobre esses organismos (NTALLI et al., 2020; FERRAZ, 2010; D'ADDABBO et al., 2014). Várias espécies vegetais já foram relatadas por conter compostos com atividade nematicida e novas plantas com esse potencial vem sendo descobertas (D'ADDABBO et al., 2014;).

Plantas do gênero Agave apresentam potencial de controle de patógenos de animais e de plantas, devido aos compostos biocidas na sua composição, com propriedades antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias e anti-helmínticas. A ação biocida de plantas de sisal já foi relatada contra nematoides gastrointestinais de caprinos e ovinos, ácaros e nematoides fitoparasitas (BOTURA et al., 2011; BOTURA et al., 2013; DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015; SCHENKEL et al., 2010). O sisal (*Agave sisalana*) é uma planta cultivada para a extração de fibra e gera resíduos sólidos e líquidos no processo de desfibramento das folhas, sendo estes resíduos ricos em compostos bioativos, com potencial para o manejo de microrganismos patogênicos (SILVEIRA et al., 2012; DOMINGUES et al., 2010). O uso de resíduos orgânicos oferece uma alternativa de controle de fitonematoides na agricultura, promovendo a proteção de culturas de forma mais sustentável (DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015).

O SISAL E A UTILIZAÇÃO DO RESÍDUO DO DESFIBRAMENTO DAS FOLHAS, NO CONTROLE DE NEMATOIDES

A planta de sisal, assim popularmente conhecida, pertence à família Asparagaceae (WESP, 2020). É uma planta herbácea, nativa do México, que vem sendo cultivada na região semiárida da Bahia, no bioma Caatinga, para fins de extração da fibra (MARAN; PRIYA, 2015). A fibra extraída das folhas é considerada o principal produto agroindustrial do semiárido baiano, e é utilizada na fabricação de fios, cordas e artesanato. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial da fibra dura de sisal, com a produção concentrada principalmente na região Nordeste, sendo

a Bahia responsável por 95% da produção nacional (SANTOS et al., 2009; BARRETO et al., 2017; SOARES et al., 2020).

Esta cultura apresenta importância socioeconômica para o semiárido da Bahia, sendo considerada a principal fonte de renda, principalmente nas áreas mais pobres e entre os agricultores familiares no semiárido da Bahia. O sisal é cultivado em pequenas propriedades e promove a geração de empregos por meio da manutenção da lavoura, extração e processamento da fibra para o beneficiamento, atividades de industrialização de diversos produtos e com o artesanato (SILVA et al., 2009; ALVES et al., 2005).

Entretanto, apenas 3 a 5% da folha de sisal constitui a fibra que é extraída para comercialização. Os restantes 96% da polpa da folha, constituídos por mucilagem e suco de sisal, são na maioria das vezes descartados nas propriedades rurais, o que pode se tornar um problema ambiental (SANTOS et al., 2009; MARAN; PRIYA, 2015). Esse resíduo do desfibramento das folhas de sisal é constituído por polissacarídeos, compostos inorgânicos, metabolitos secundários e água, sendo rico em substâncias que apresentam atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e anti-helmínticas (BOTURA et al., 2013; SANTOS et al., 2009; SHARMA; VARSHNEY, 2012).

O resíduo de sisal contém diversas classes de metabolitos secundários em sua composição química, tendo os principais constituintes carboidratos, saponinas, flavonoides, alcaloides, glicosídeos, compostos fenólicos e taninos (CHEN et al., 2009; CHEN et al., 2011; BOTURA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2015; ZHANG et al., 2014, SIDANA et al., 2016). Estes compostos estão relacionados com o mecanismo de defesa das plantas, podendo apresentar ação nematicida (CHITWOOD, 2002). O efeito nematicida de alguns extratos vegetais tem sido atribuído à presença de metabolitos secundários em sua composição, principalmente saponinas, flavonoides e taninos (KERBOEUF et al., 2005; YANG et al., 2015).

Vários estudos têm demonstrado o potencial do resíduo de sisal no controle de vários patógenos, incluindo nematoides gastrointestinais de caprinos e nematoides parasita de plantas (DOMINGUES et al., 2010; DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015; BOTURA et al., 2013). Santos et al. (2017) comprovaram o efeito anti-helmíntico do ácido succínico oriundo do resíduo de sisal sobre nematoides gastrointestinais de caprinos em condições *in vitro*. A eficiência desse resíduo vem sendo estudada e comprovada em trabalhos realizados na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015; SANTOS, 2018).

Damasceno et al. (2015) avaliaram o efeito do resíduo de sisal no controle de M. javanica em condições in vitro e em mudas de tomate, observando até 100% de mortalidade de juvenis in vitro e reduções significativas no número de massa de ovos e população de nematoides no solo. Jesus et al. (2015) também demonstraram o efeito nematicida do resíduo de sisal. Esses autores avaliaram o resíduo líquido de sisal fresco e fermentado no controle do nematoide cavernícola da bananeira, R. similis, alcançando até 99% de mortalidade sob condições in vitro e redução dos danos causados pelos nematoides no sistema radicular, fator de reprodução e população de nematoides no solo e nas raízes de mudas de bananeira. Santos (2018) avaliou a ação nematicida do resíduo líquido de sisal e do formulado obtido a partir desse resíduo no controle de Helicotylenchus multicinctus e Meloidogyne incognita, em condições in vitro e em mudas de bananeira, este autor obteve até 100 % de mortalidade dos nematoides in vitro e redução da população de H. multicinctus no solo e nas raízes de até 83,7 e 77%, respectivamente, sendo este resíduo eficiente também no controle de M. incognita, com redução do número de galhas, 74,56%, massa de ovos, 59,74%, e população de nematoides no solo em até 84,81%.

O resíduo oriundo do desfibramento das folhas de sisal apresenta elevado potencial de utilização no manejo de fitonematoides que atacam culturas de importância econômica. O melhor aproveitamento das folhas de sisal constitui-se em uma possibilidade de agregação de valor comercial à produção de sisal, com geração de emprego e renda para a região semiárida da Bahia. Adicionalmente, ainda reduz o impacto ambiental causado pelo descarte inadequado desse material e contribui para o desenvolvimento sustentável. Aliando o crescimento econômico com o uso eficiente e sustentável dos recursos naturais e inclusão social, o desenvolvimento deste nematicida atende ao conceito da economia verde, desenvolvido em 2008 pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (Pnuma). O presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade nematicida do resíduo oriundo do desfibramento das folhas de sisal e das frações obtidas a partir desse resíduo no manejo dos nematoides *P. coffeae*, *M. incognita* e *M. enterolobii*.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. How pathogens attack plants. In: AGRIOS, G.N. (Ed.). **PlantPathology**. 5th ed. Elsevier Academic Press, p.177-203, 2004.
- ALVES, M. O.; SANTIAGO, E. G.; LIMA, A. R. M. **Diagnóstico socioeconômico do setor sisaleiro do Nordeste brasileiro.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2005, 90p (Série Documentos do ETENE n° 04).
- ARAUJO, F. F.; GENTIL, G. M. Ação do lodo de curtume no controle de *Meloidogyne* spp. e nanodulação em soja. **Revista Ceres**, v. 57, n.5, p. 629-632, 2010.
- BALDACCI-CRESP, F. et al. Maturation of nematode-induced galls in Medicago truncatula is related to water status and primary metabolism modifications. In: CUNHA, T. G. D., VISÔTTO, L. E., LOPES, E. A., OLIVEIRA, C. M. G., & GOD, P. I. V. G. Diagnostic methods for identification of root-knot nematodes species from Brazil. **Ciência Rural**, 2018.
- BARRETO, S. M. A. G., MAIA, M. S., BENICÁ, A. M., DE ASSIS, H. R. B. S., LEITE-SILVA, V. R., DA ROCHA-FILHO, P. A., & DE FARIAS SALES, V. S. Evaluation of in vitro and in vivo safety of the by-product of Agave sisalana as a new cosmetic raw material: development and clinical evaluation of a nanoemulsion to improve skin moisturizing. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 470-479, 2017.
- BLOEMERS, G. F.; HODDA, M.; LAMBSHEAD, P. J. D.; LAWTON, J. H.; WANLESS, F. R. The effects of forest disturbance on diversity of tropical soil nematodes. **Oecologia**, v.111, p. 575-582, 1997.
- BOTURA, M. B.; SANTOS, J. D. G.; SILVA, G. D.; LIMA, H. G.; OLIVEIRA, J. V. A.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA, M. J. M.; BRANCO, A. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Agave sisalana* Perr. (Sisal) on gastrointestinal nematodes of goats. **Veterinary parasitology**, v. 192, p. 211-217, 2013.
- BOTURA, M. B.; SILVA, G. D.; LIMA, H. G.; OLIVEIRA, J. V. A.; SOUZA, T. S.; SANTOS, J. D. G.; BRANCO, A.; MOREIRA, E. L. T.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINA, M. J. M. In vivo anthelmintic activity of an aqueous extract from sisal waste (*Agave sisalana* Perr.) against gastrointestinal nematodes in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 104-110, 2011.
- BRENNAN, R. J. B., GLAZE-CORCORAN, S., ROBERT, W. I. C. K., & HASHEMI, M. Biofumigation: An alternative strategy for the control of plant parasitic nematodes. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, n. 7, p. 1680-1690, 2020.
- BROOKS, F. E. Plant-parasitic nematodes of banana in American Samoa. **Nematropica**, v. 34, p. 65-72, 2004.
- CANTU, R. R.; WILCKEN, S. R. S.; ROSA, J. M. O.; GOTO, R. Reação de portaenxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 216-218, 2009.

- CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M.M. Primeiro registro de Meloidogyne mayaguensis em goiabeira no Brasil. Nematologia Brasileira, v. 25, n.2, p.223-232, 2001.
- CHEN, P. Y.; CHEN, C. H.; KUO, C. C.; LEE, T. H.; KUO, Y. H.; LEE, C. K. Cytotoxic steroidal saponins from *Agave sisalana*. **Planta Medica**, v. 77, p. 929–933, 2011.
- CHEN, P. Y.; KUO, Y. C.; CHEN, C. H.; KUO, Y. H.; LEE, C. K. Isolation and immunomodulatory effect of homoisoflavones and flavones from Agave sisalana Perrine ex Engelm. **Molecules**, v.14, p.1789-1795, 2009.
- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual **Review of Phytopathology**, v. 40, p.221–249, 2002.
- CUNHA, T. G. D., VISÔTTO, L. E., LOPES, E. A., OLIVEIRA, C. M. G., & GOD, P. I. V. G. Diagnostic methods for identification of root-knot nematodes species from Brazil. Ciência Rural, 2018.
- D'ADDABBO, T., AVATO, P., & TAVA, A. Nematicidal potential of materials from *Medicago* spp. **European journal of plant pathology**, v. 125, n. 1, p. 39-49, 2009.
- D'ADDABBO, T., LAQUALE, S., LOVELLI, S., CANDIDO, V., & AVATO, P. Biocide plants as a sustainable tool for the control of pests and pathogens in vegetable cropping systems. **Italian Journal of Agronomy**, p. 137-145, 2014.
- DAMASCENO, J. C. A.; SOARES, A. C. F.; JESUS, F. N.; SANT'ANA, R. S. Sisal leaf decortication liquid residue for controlling *Meloidogyne javanica* in tomato plants. **Horticultura Brasileira**. v. 33, p. 155-162, 2015.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S. M.; BARIZAO, D. A. O.; RIBEIRO, R. C. F.; FORMENTINI, H. M. Fitonematoides associados a frutíferas na região noroeste do Paraná, BRASIL. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p.1064-1068, 2010.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; MOLINA, R. de O.; COSTA, A. T. Nematóides causadores de doenças em frutíferas. **Revista Agroambiente on-line**, v. 2, p. 46-56, 2008.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. Efeito da torta de mamona sobre populações de nematoides fitoparasitos e a produtividade da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 34, p. 68-71, 2010.
- DOMINGUES, L. F.; BOTURA, M. B.; CRUZ, A. C. F. G.; YUKI, C. C.; SILVA, G. D.; COSTA, M. S.; MURPHY, G.; MOREIRA, E. L. T.; MENESES, I. D. S.; ALMEIDA, M. G. A. R.; BRANCO, A.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA, M. J. M. Evaluation of anthelmintic activity of liquid waste of *Agave sisalana* (sisal) in goats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 270-272, 2010.
- ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. **Phytopathology**, v. 103, p. 1092-1102, 2013.

- ELSAYEDI, A.; NADA, O. E. Potency Evaluation of *Pseudomonas* strains against root-knot nematode infecting Tomato. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 8, p. 602-608, 2014.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F (Org.). **Nematologia de plantas**: fundamentos e importância. Manaus: NORMA EDITORA, 2016. 251 p.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Manejo sustentável de fitonematoides. Viçosa: UFV, 2012. 306 p.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Manejo sustentável de fitonematoides. Vicosa: UFV, 245 p. 2010.
- FLEMING, T. R., MCGOWAN, N. E., MAULE, A. G., & FLEMING, C. C. Prevalence and diversity of plant parasitic nematodes in Northern Ireland grassland and cereals, and the influence of soils and rainfall. **Plant Pathology**, v. 65, n. 9, p. 1539-1550, 2016.
- FORGE, T., KENNEY, E., HASHIMOTO, N., NEILSEN, D., & ZEBARTH, B. Compost and poultry manure as preplant soil amendments for red raspberry: Comparative effects on root lesion nematodes, soil quality and risk of nitrate leaching. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 223, p. 48-58, 2016.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. de L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. 8. reimpressão. Viçosa: UFV, 2014. 92 p.
- GONZAGA, VILMAR; SANTOS, J. M. Estudo comparativo de multiplicação in vitro de seis espécies de *Pratylenchus* em cilindros de cenoura. **Nematologia brasileira**, 2010, p. 226-230.
- GOULART, ALEXANDRE MOURA CINTRA. **Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero** *Pratylenchus***).** Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E), 2008.
- HOLDEN-DYE, L.; WALKER, R. J. Neurobiology of plant parasitic nematodes. Invert **Neurosci**. v. 11, p. 9–19, 2011.
- HUNT, D.J.; HANDOO, Z.A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.L. Root-knot nematodes. Wallingford: CAB International, 2009. Cap.3, p.55-88.
- HUSSEY, R. S. Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes. **Annual review of phytopathology**, v. 27, p. 123-141, 1989.
- JESUS, F. N.; DAMASCENO, J. C. A.; BARBOSA, D. H. S. G.; MALHEIRO, R.; PEREIRA, J. A.; SOARES, A. C. F. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. **Agronomy for Sustainable Development** v. 35, n. 2, p. 783-791, 2015.

- KERBOEUF, D.; RIOU, M.; GUÉGNARD, F. Flavonoids and related compounds in parasitic disease control. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 116-128, 2008.
- KHALIL, M. S. Alternative approaches to manage plant parasitic nematodes. In: LIMA, I. D. M., VENTURA, J., COSTA, H., ARPINI, B. D. S., MARTINS, M., Bionematicida contemporâneos: aplicabilidade e importância no manejo de fitonematoides em áreas agrícolas. **Revista Incaper**, v.10, p.9 0-104, 2019.
- LIMA, I. D. M., VENTURA, J., COSTA, H., ARPINI, B. D. S., MARTINS, M., Bionematicida contemporâneos: aplicabilidade e importância no manejo de fitonematoides em áreas agrícolas. **Revista Incaper**, v.10, p.9 0-104, 2019.
- LOPES, E.A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. Cap.1, p.1-10.
- MACHADO, A.C.Z. 2015. Ataques de nematoides custam R\$ 35 bilhões ao agronegócio brasileiro. Revista Agrícola. Disponível em: http://www.ragricola.com.br/destaque/ataques-de-nematoides-custam-r-35-bilhoes-aoagronegocio-brasileiro
- MARAN, J. PRAKASH; PRIYA, B. Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 732-738, 2015.
- MARTINS, M. da C. B.; SANTOS, C. D. G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de Meloidogyne incognita raça 2. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, p. 135-142, 2016.
- MATOS, D. S. S.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; RODRIGUES, C. V. M. A.; BARBOSA, N. M. R. Relações entre a nematofauna e atributos químicos de solo com vinhaça. **Nematropica**, v. 41, p. 23-38, 2011.
- MATZEMBACHER, D. E., & MEIRA, F. B. A ROUPA NOVA DO REI: ECONOMIA VERDE ENTRE INOVAÇÃO E CONSERVAÇÃO—UMA LEITURA CRÍTICA A PARTIR DE KARL POLANYI. **Farol-Revista de Estudos Organizacionais e Sociedade**, v. 7, n. 18, p. 410-449, 2020
- MESSA, V. R., DA COSTA, A. C. T., KUHN, O. J., & STROZE, C. T Nematophagous and endomycorrhizal fungi in the control of Meloidogyne incognita in soybean. **Rhizosphere**, v. 15, p. 100222, 2020.
- MITCHUM, M. G.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J.; WANG, X.; ELLING, A. A.; WUBBEN, M.; DAVIS, E. L. Tansley review Nematode effector proteins: an emerging paradigm of parasitism. **New Phytologist**. v. 199, p. 879–894, 2013.

- MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. Meloidogyne Species a diverse group of novel and importante plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Root-knot Nematodes. Cambridge: CABI North America Office, p. 1-17, 2009.
- MORAIS, L. A. S.; MATTOS, L. P. V.; GONÇALVES, G. G.; BETTIOL, W. Efeito de diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*) no crescimento micelial de fungos entomopatogênicos e *Trichoderma harzianum*. **Horticultura Brasileira**, v.27, p. 113-117, 2009.
- NASU, E. G. C.; FORMENTINI, H. M.; FURLANETTO, C. Effect of manipueira on tomato plants infected by the nematode *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 78, p. 193-197, 2015.
- NICO, A. I., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., & CASTILLO, P. Control of root-knot nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. **Crop Protection**, v. 23, n. 7, p. 581-587, 2004.
- NTALLI, N., ADAMSKI, Z., DOULA, M., & MONOKROUSOS, N. Nematicidal Amendments and Soil Remediation. **Plants**, v. 9, n. 4, p. 429, 2020.
- NTALLI, NIKOLETTA G.; CABONI, PIERLUIGI. Botanical nematicides: a review. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 40, p. 9929-9940, 2012.
- PEREIRA, SUSANA CRISTINA FERNANDES. **A sustentabilidade nos mercados municipais: Um estudo nacional**. 2021. Tese de Doutorado.
- PINHEIRO, J.B. Nematoides em hortaliças, Brasília, DF, Embrapa, 194p, 2017.
- PINHEIRO, J. B., MELO, R. D. C., & RAGASSI, C. Manejo de nematoides em hortaliças sob plantio direto. **Embrapa Hortaliças-Circular Técnica** (INFOTECA-E), 2019.
- RAO, M.S.; UMAMAHESWARI, R.; PRITI, K.; RAJINIKANTH, R.; GRACE, G.N.; KAMALNATH, M.; et al. 2016. Role of Biopesticides in the Management of Nematodes and Associated Diseases in Horticultural Crops, In: Plant, Soil Microbes, Springer International Publishing, Cham, p. 117–148.
- RIBEIRO, B.D., BARRETO, D.W., COELHO, M.A.Z., Use of micellar extraction and cloud point preconcentration for valorization of saponins from sisal (*Agave sisalana*) waste. **Food Bioprod. Process**. 601–609 2015.
- RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 331-338, 2006.
- SANTOS, J. D., BRANCO, A., SILVA, A. F., PINHEIRO, C. S., NETO, A. G., UETANABARO, A. P., ... & OSUNA, J. T Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 22, 2009.
- SANTOS, A. C. TECNOLOGIA COM RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL PARA O MANEJO DE *Helicotylenchus multicinctus* E *Meloidogyne incognita* EM

- BANANEIRA. **Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus Cruz das Almas- BA, 2018.
- SANTOS, N. S. de S.; SANTOS, J. D. G.; SANTOS, F. O.; SERRA, T. M.; LIMA, H. G. de; BOTURA, M. B.; BRANCO, A.; BATATINHA, M. J. M. Ovicidal activity of succinic acid isolated from sisal waste (*Agave sisalana*) against gastrointestinal nematodes of goats. **Ciência Rural**, v. 47, 2017.
- SANTOS, J. L., MOURA, N., SOUZA, F., CASTRO, J. M., & CAPUCHO, Espécies de Meloidogyne associadas a aceroleira no Submédio do Vale do Rio São Francisco, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 43, n. 3, p. 333-342, 2020.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G., ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 5° ed., Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 1102, 2010.
- SHARMA, S.; VARSHNEY, V. K. Chemical analysis of *Agave sisalana* juice for its possible utilization. **Acta Chimica & Pharmaceutica Indica**, v. 2, p.60-66, 2012.
- SILVA, C., CUNHA, R., FELIPE, R., Desenvolvimento de tecidos de sisal para utilização em compósitos poliméricos. **Holos 25**, 12-19 2009.
- SILVEIRA, R. X.; CHAGAS, A. C. S.; BOTURA, M. B.; BATATINHA, M. J. M.; KATIKI, L. M.; CARVALHO, C. O.; BEVILAQUA, C. M. L.; BRANCO, A.; MACHADO, E. A. A.; BORGES, S.L.; ALMEIDA, M. A. O. Action of sisal (*Agave sisalana*, Perrine) extract in the *in vitro* development of sheep and goat gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v.131, p. 162–168, 2012.
- SOARES, A. C. F.; BARRETO, N. S. E.; MARBACH, P. A. S. Tópicos em microbiologia agrícola In: SOARES, A. C. F.; SANTOS, J. S.; SOUSA, R. A.; BARBOSA, L. O.; DUARTE, E. A. A.; NETO, A. G. Sisal: podridão vermelha e o biocontrole. Vol 8. Cruz das Almas, BA: EDUFRB, 2020. P. 157- 186.
- TABARANT, P., VILLENAVE, C., RISEDE, J. M., ROGER-ESTRADE, J., THURIES, L., & DOREL, M. Effects of four organic amendments on banana parasitic nematodes and soil nematode communities. **Applied Soil Ecology**, v. 49, p. 59-67, 2011.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal. FUNEP. 372 p. 1993.
- WAWERU, B. W., LOSENGE, T., KAHANGI, E. M., DUBOIS, T., & COYNE, D. Potential biological control of lesion nematodes on banana using Kenyan strains of endophytic *Fusarium oxysporum*. **Nematology**, v. 15, n. 1, p. 101-107, 2013.
- WCSP. World Checklist of Selected Plant Families in the Catalogue of Life. Disponível em:<apps.kew.org/wcsp/>. Acesso em: 15 set. 2020.
- YANG, X.; WANG, X.; WANG, K.; SU, L.; LI, H.; LI, R.; SHEN, Q. The nematicidal effect of Camellia seed cake on root-knot nematode *Meloidogyne javanica* of banana. **PloS one**, v. 10, p. 1-18, 2015.

ZHANG, X., LIU, L., LIN, C., Isolation, structural characterization and antioxidant activity of a neutral polysaccharide from Sisal waste. **Food Hydrocoll**. 39, 10–18 2014.

CAPÍTULO 1

AÇÃO NEMATICIDA DE FRAÇÕES DO RESÍDUO DE SISAL SOBRE Pratylenchus coffeae

AÇÃO NEMATICIDA DE FRAÇÕES DO RESÍDUO DE SISAL SOBRE Pratylenchus coffeae

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade nematicida do resíduo líquido de sisal e das frações do extrato desse resíduo no controle in vitro de P. coffeae. O resíduo líquido de sisal foi fracionado por partição líquido-líquido com solventes orgânicos de diferentes polaridades. O ensaio in vitro para a ação nematicida foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x5, com os tratamentos compostos por quatro tipos de extratos (resíduo líquido bruto, fração em hexano, fração em diclorometano e fração em acetato de etila) e cinco concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹), totalizando 20 tratamentos, com cinco repetições. Foram avaliados os percentuais de imobilidade e mortalidade dos nematoides. O resíduo líquido bruto e suas frações foram eficientes no controle de P. coffeae, apresentando atividade nematostática e nematicida. Após 24 e 48 horas de exposição dos nematoides aos tratamentos, o resíduo bruto e a fração em diclorometano, nas maiores concentrações, causaram maior percentual de imobilidade, 77 e 67% respectivamente. Na concentração estimada de 139 mg L⁻¹, o resíduo bruto causou 99% de mortalidade dos indivíduos de P. coffeae, sendo o tratamento mais eficiente. A fração em diclorometano causou 95% de mortalidade, na concentração estimada de 156 mg L⁻¹. O resíduo bruto e todas as frações, quando aplicados na concentração de 200 mg L⁻¹, apresentaram com valores médios de mortalidade superiores a 70%. O resíduo bruto de sisal e suas frações apresentam eficiente ação nematicida sobre P. coffeae.

Palavras-chave: Agave sisalana Perrine; nematoide das lesões radiculares; nematicidas naturais

NEMATICIDE ACTION OF SISAL RESIDUE FRACTIONS ON Pratylenchus coffeae

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the nematicidal activity of liquid sisal residue and its extract fractions for in vitro control of *Pratylenchus coffeae*. The liquid sisal residue was fractionated by liquid-liquid partition with organic solvents of different polarities. The in vitro assay for nematicidal action was carried out in a completely randomized design in a 4x5 factorial scheme, with four types of extracts (gross liquid residue, hexane fraction, dichloromethane fraction and ethyl acetate fraction) and five concentrations (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹), with a total of 20 treatments, with five replications. The percentages of nematode immobility and mortality were determined. The crude liquid residue and its fractions were efficient in controlling P. coffeae, with nematostatic and nematicidal activity. After 24 and 48 hours of nematode exposure to the treatments, the crude residue and the fraction in dichloromethane, at the highest concentration, caused the highest percentage of immobility and mortality, 77 and 67%, respectively. At the estimated concentration of 139 mg L⁻¹, the crude residue caused 99% of mortality of *P. coffeae* individuals, being the most efficient treatment. The fraction in dichloromethane caused 95% of mortality, at the estimated concentration of 156 mg L⁻¹. The crude residue and all fractions showed the highest average values for nematode mortality, at a concentration of 200 mg L⁻¹, with mortality values above 70%. The crude sisal liquid residue and its fractions have eficiente nematicidal effect against P. coffeae.

Keywords: Agave sisalana Perrine; nematode of root lesions; natural nematicides

INTRODUÇÃO

Os fitonematoides são responsáveis por causar perdas consideráveis na produção de muitas culturas (EL-ANSARY; HAMOUDA, 2014). Os nematoides das lesões radiculares pertencem ao gênero *Pratylenchus* spp., são conhecidos por causarem lesões necróticas nas raízes parasitadas e danos severos às plantas, com enormes prejuízos aos produtores (FERRAZ; BROWN, 2016). O gênero *Pratylenchus* ocupa o segundo lugar em termos de danos e perdas econômicas em diversas culturas agrícolas em todo o mundo, ficando atrás apenas dos nematoides das galhas *Meloidogyne* spp. No Brasil, a espécie *P. coffeae* se destaca causando danos elevados e crescentes em diversas culturas, principalmente nas culturas do café, banana, citros, inhame, graviola e batata (GOULART 2008; FERRAZ; BROWN, 2016).

O controle desses fitopatógenos geralmente é realizado através do uso de nematicidas sintéticos, que além de onerarem os custos de produção, possuem efeitos deletérios sobre a microbiota do solo, causam riscos à saúde humana e contaminam o ambiente (RITZINGER; FANCELLI, 2006). Estratégias de manejo de fitonematoides que diminuam os custos, aumentem a produção e não agridam o ambiente vem sendo pesquisadas em substituição aos nematicidas sintéticos.

Compostos nematicidas derivados de espécies vegetais apresentam potencial para o manejo de fitonematoides (D'ADDABBO et al., 2014). Vários estudos têm demostrado a eficiência de resíduos orgânicos e extratos vegetais no controle desses patógenos (MIORRANZA et al., 2016). A ação biocida da planta de sisal (*Agave sisalana* Perrine) apresenta potencial para o controle de patógeno de animais e de plantas (BOTURA et al., 2013; SILVEIRA et al., 2012; DAMASCENO et al., 2015).

O sisal é cultivado principalmente no semiárido do Nordeste brasileiro, sendo uma cultura que apresenta importância socioeconômica para os produtores dessa região. No entanto, a fibra constitui em apenas 3 a 5% da folha de sisal e no processo de desfibramento das folhas, 95 a 97% da polpa das folhas é descartada na forma de resíduos sólidos e aquosos, sendo a maior parte destes resíduos abandonada nas propriedades rurais, sem qualquer tipo de tratamento (MARAN; PRIYA, 2015). Estes resíduos apresentam potencial para o controle de fitonematoides, devido à presença de substâncias bioativas, do metabolismo secundário, que estão relacionadas com o

mecanismo de defesa das plantas, a exemplo de alcaloides, compostos fenólicos, cumarinas, saponinas, flavonoides e taninos, (CHITWOOD, 2002; BOTURA et al., 2013).

A ação nematicida do resíduo oriundo do desfibramento das folhas de sisal já foi comprovada em trabalhos desenvolvidos na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no controle de M. javanica em tomateiro (DAMASCENO et al., 2015), Radopholus similis em bananeira (JESUS et al., 2015), Meloidogyne javanica em alface (DAMASCENO et al., 2017) e Helicotylenchus multicinctus e Meloidogyne incognita em bananeira (SANTOS, 2018). A utilização desse resíduo do sisal, como matéria prima no desenvolvimento de um nematicida natural é uma inovação para o reaproveitamento de um resíduo que pode causar impacto ambiental. Ao utilizá-lo como subproduto, ocorre a valorização da cultura de sisal, em sua máxima eficiência, com geração de renda ao produtor de sisal e beneficiamento de toda a cadeia produtiva de sisal. Essa inovação, na qual utilizamos com eficiência toda a cadeia produtiva de uma cultura, no caso o sisal, permite que a bioeconomia seja estabelecida por meio da conservação e preservação da cultura e seus subprodutos. Teremos portanto, geração de renda, a partir de recursos naturais disponíveis, e inclusão social por meio da inovação Neste sentido, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a atividade nematicida do resíduo líquido de sisal e suas frações no controle in vitro de P. coffeae.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas (CCAAB) e no laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Obtenção, manutenção e multiplicação das populações de Pratylenchus coffeae

A população de *P. coffeae* foi obtida a partir de raízes de bananeira infestadas e cultivadas em casa de vegetação. As amostras de raízes foram processadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, conforme a metodologia de Jenkins (1964) e Hussey e Barker (1973). Para a multiplicação dos nematoides foram utilizadas mudas micropropagadas e aclimatadas de bananeira da cultivar *Grande Naine*, obtidas da Empresa Campo Biotecnologia Vegetal, localizada na sede da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. As mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 3,0 kg, contendo uma mistura de solo e areia na proporção de 2:1 (v/v) previamente esterilizada em autoclave a 120°C por 1,5 horas, por duas vezes consecutivas. Foram inoculados, próximo as raízes, em média 1000 indivíduos de *P. coffeae* por muda de bananeira e estas foram mantidas em casa de vegetação, por 60 dias, com irrigação diária, para a multiplicação dos nematoides.

Obtenção dos nematoides para o ensaio in vitro

Os juvenis de *P. coffeae* foram extraídos de raízes de bananeira inoculadas e mantidas em casa de vegetação, conforme descrito pelo método de Jenkins (1964) e Hussey e Barker (1973). Em seguida foi realizada a contagem dos indivíduos da suspensão obtida, em câmera de Peters, sob microscópio de luz, ajustando a quantidade de nematoides para 100 indivíduos por µL, por meio de diluição com água destilada. Os nematoides obtidos foram utilizados no ensaio in vitro.

Obtenção do resíduo líquido fresco de sisal

O resíduo líquido de sisal (extrato bruto) foi coletado no campo, em área de produtor de sisal, durante o processo de desfibramento das folhas com a máquina de

desfibramento tradicionalmente utilizada pelos produtores, nos municípios de Conceição do Coité e Valente BA. Para obtenção da parte líquida, o resíduo contendo mucilagem e líquido foi prensado em uma prensa de madeira para remoção da parte sólida. A parte liquida foi transferida para garrafas plásticas de 1L, armazenadas em isopor com gelo e transportadas para o laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, onde foram congeladas em freezer, a -20 °C, até serem utilizadas para obtenção das frações e no ensaio in vitro.

Obtenção das frações do resíduo líquido de sisal

O resíduo líquido (1L) foi liofilizado em liofilizador por seis dias e obtidas 400 g de resíduo sólido. Este resíduo liofilizado foi colocado no solvente orgânico (metanol) por um período de 72 horas e a solução obtida foi filtrada com algodão e concentrada em evaporador rotativo, sob pressão reduzida e com temperatura de aproximadamente 35 °C. O processo de extração foi realizado três vezes, obtendo-se 250 g de extrato metanólico do resíduo. Em seguida, o extrato metanólico foi solubilizado em uma mistura contendo 300 mL de água e 400 mL de metanol. Logo após, a mistura foi submetida à partição (líquido-líquido) em um funil de separação por três vezes sucessivas com diferentes solventes orgânicos na respectiva ordem: hexano, diclorometano e acetato de etila, de acordo com a metodologia de Braga (2008). Após a partição, as frações foram colocadas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, a aproximadamente 35 °C, para eliminação do solvente, obtendo assim as frações: em hexano (6,0 g), diclorometano (100,0 g) e em acetato de etila (10,0 g).

Ensaio in vitro com as frações do resíduo líquido de sisal

O ensaio in vitro foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5, com 20 tratamentos, composto por quatro tipos de extratos (resíduo líquido bruto, fração em hexano, fração em diclorometano e fração em acetato de etila) e cinco concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹), com cinco repetições. Em microtubos do tipo Eppendorf foram adicionados 900 µL das concentrações das diferentes amostras e 100 µL de suspensão contendo 100 juvenis de *P. coffeae*. Para a obtenção das concentrações definidas para cada tratamento, os extratos foram diluídos com água destilada esterilizada. Os microtubos foram incubados à temperatura ambiente (28 ±2 °C) e, após 24 horas, os nematoides foram

retirados dessa suspensão, lavados com água destilada esterilizada e fez-se a contagem dos indivíduos imóveis em câmara de Peters, em microscópio de luz com aumento de 40 vezes. Após a contagem, os nematoides foram colocados em água, nos microtubos, por mais 24 horas, a temperatura ambiente, sendo posteriormente contados. Foram considerados mortos, os indivíduos que permaneceram retos e imóveis e vivos, os indivíduos móveis ou retorcidos.

Análise estatística

Os dados foram analisados para variância e regressão para avaliar o efeito das concentrações e o teste de Tukey a 5% para analisar a diferença entre as frações. Utilizou-se o software estatístico R version 3.6.1.

RESULTADOS

Frações do resíduo líquido de sisal no controle in vitro de P. coffeae

Houve interação significativa (*p*′ ≤0,05) entre as concentrações e os extratos utilizados no ensaio. O resíduo líquido de sisal (resíduo bruto) e as frações obtidas por partição líquido-líquido (hexano, diclorometano e acetato de etila) apresentaram atividade nematostática, reduzindo a mobilidade dos juvenis de *P. coffea*e após 24 h de exposição dos indivíduos (Figura 1).

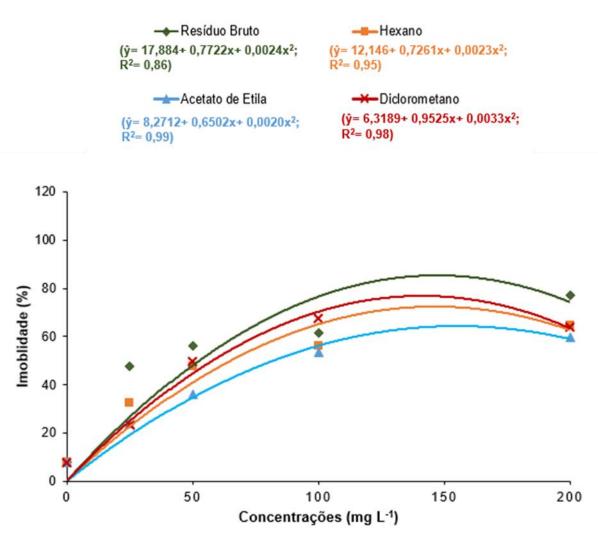


Figura 1. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹) na imobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Pratylenchus coffeae* em condições controladas (in vitro).

O resíduo bruto e a fração em diclorometano foram os que mais se destacaram, causando redução na mobilidade dos nematoides de 77 e 67%, nas concentrações estimadas de 160 mg L⁻¹ para o resíduo bruto e 144 mg L⁻¹ para a fração em diclorometano, respectivamente. O tratamento controle, contendo apenas água, apresentou aproximadamente 8% de imobilidades dos nematoides, demonstrando assim que os valores de imobilidade estão relacionados com a ação dos tratamentos aplicados (Figura 1).

O resíduo bruto, quando aplicado na menor concentração (25 mg L⁻¹) causou imobilidade em aproximadamente 48% dos indivíduos. Todas as frações do resíduo,

quando aplicadas na concentração de 25 mg L⁻¹causaram imobilidade variando entre 23 e 32 %. (Figura 2A).

Na concentração de 50 mg L⁻¹, o resíduo bruto e a fração em diclorometano causaram imobilidade de 56 e 49% dos nematoides, sendo esses tratamentos os mais eficientes nesta concentração, seguidos pela fração em hexano e acetato de etila com valores de imobilidade de aproximadamente 47 e 36% dos nematoides, respectivamente. (Figura 2B).

O resíduo bruto e as frações em diclorometano e hexano causaram imobilidade superior a 55% na concentração de 100 mg L⁻¹. A fração em diclorometano foi responsável por causar a maior imobilidade dos indivíduos (67%) (Figura 2C).

As frações em diclorometano, hexano e acetato de etila causaram imobilidade variando entre 60 e 64%, quando aplicadas na concentração de 200 mg L⁻¹. Nessa concentração, o resíduo bruto, assim como já observado para a maioria das concentrações, se destacou entre os demais tratamentos, promovendo imobilidade de aproximadamente 77% dos nematoides (Figura 2D).

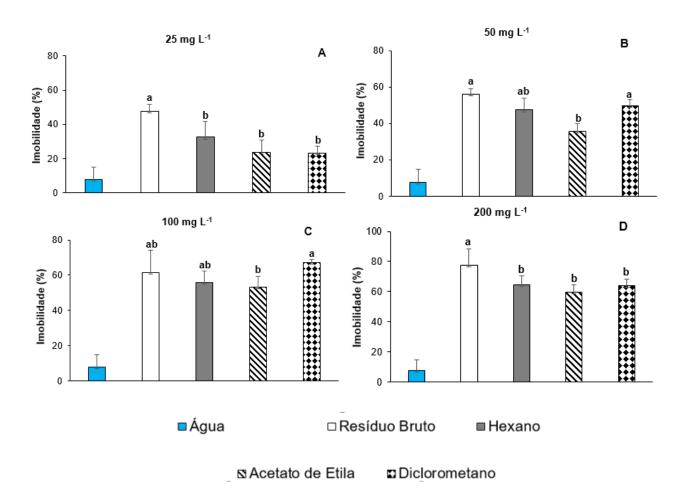


Figura 2. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e de acetato de etila, em diferentes concentrações: **A)** 25 mg L⁻¹; **B)** 50 mg L⁻¹; **C)** 100 mg L⁻¹ e **D)** 200 mg L⁻¹, na imobilidade in vitro de indivíduos de *Pratylenchus coffeae*.

Na segunda avaliação, após 48 horas de exposição dos nematoides aos tratamentos, foi encontrado um número expressivo de nematoides mortos, comprovando o efeito nematicida do resíduo bruto de sisal e suas frações. O resíduo bruto apresentou médias elevadas de mortalidade dos nematoides, a partir da menor concentração testada, alcançando 99% de mortalidade na concentração estimada de 139 mg L⁻¹ (Figura 3).

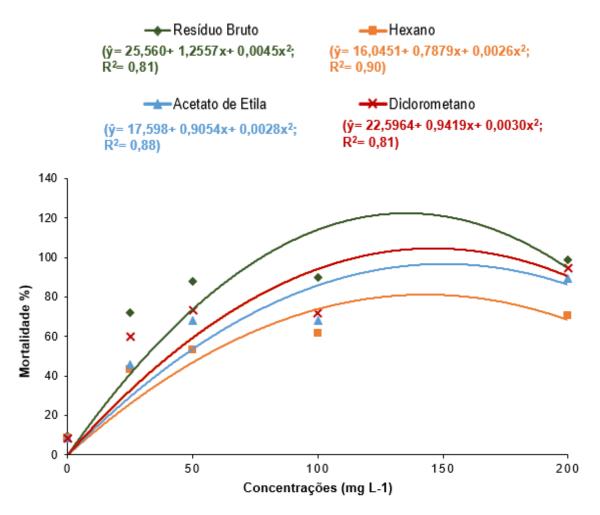


Figura 3. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e acetato de etila, em diferentes concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹), na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Pratylenchus coffeae*, em condições controladas (in vitro).

O resíduo bruto e as frações, quando aplicados a partir da concentração de 100 mg L⁻¹, causaram a mortalidade elevada dos nematoides. O resíduo bruto foi o mais eficiente, causando a morte de 89% dos indivíduos e as frações em hexano, acetato de etila e diclorometano causaram a média de 61,4, 68 e 71% de mortalidade respectivamente (Figura 3). A fração em diclorometano, na concentração estimada de 156 mg L⁻¹ causou 95% de mortalidade dos nematoides. O tratamento controle, contento apenas água, apresentou uma taxa de mortalidade próxima a 10%, comprovando que as elevadas medias encontradas de mortalidade dos nematoides foram devido à ação do resíduo de sisal e suas frações (Figura 3).

Na menor concentração testada (25 mg L⁻¹), o resíduo bruto se destacou entre todos os extratos, causando a mortalidade de aproximadamente 72% dos nematoides. (Figura 4A).

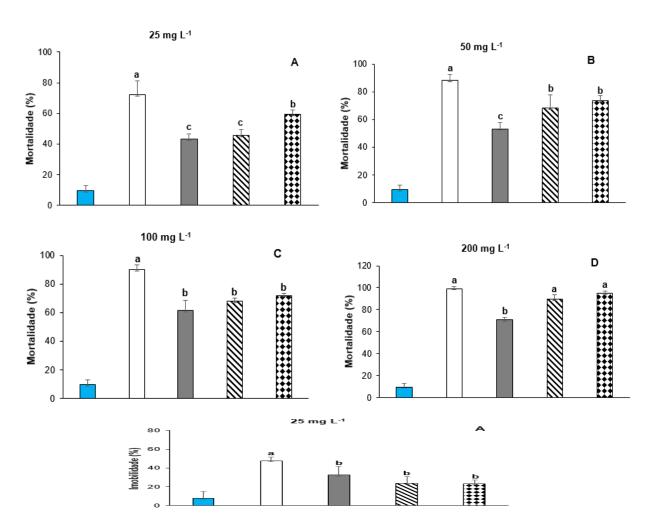


Figura 4. Efeito do resíduo bruto, frações de hexano, de diclorometano e de acetato de etila em diferentes concentrações: A) 25 mg L⁻¹; B) 50 mg L⁻¹; C) 100 mg L⁻¹ e D) 200 mg L⁻¹, na mortalidade in vitro de indivíduos de *Pratylenchus coffeae*.

Na concentração de 50 mg L⁻¹, o resíduo bruto foi o tratamento mais eficiente, com mortalidade média de aproximadamente 85% dos nematoides, seguido das frações em diclorometano e acetato de etila que promoveram 73 e 68% de mortalidade (Figura 4B). O resíduo bruto, quando aplicado na concentração de 100 mg L⁻¹, foi o tratamento mais eficiente, causando mortalidade de aproximadamente 89% dos nematoides. Não houve diferença estatística significativa entre as frações testadas nessa concentração, sendo a fração em diclorometano responsável por 71% de

mortalidade, seguida pela fração em acetato de etila com aproximadamente 67% e a fração hexano com 61% de indivíduos mortos (Figura 4C).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos, quando aplicados na concentração de 200 mg L⁻¹. Todas as frações apresentaram elevadas médias de mortalidade, sendo superiores a 89%, com exceção da fração em hexano, que causou 70% de mortalidade dos nematoides (Figura 4D).

DISCUSSÃO

Estudos anteriores utilizando o resíduo líquido de sisal demonstraram a ação nematicida deste resíduo sobre *Meloidogyne javanica* em tomateiro e em alface e *R. similis* em bananeira (DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015; DAMASCENO et al., 2017; SANTOS, 2018). O presente estudo avaliou o efeito do resíduo bruto de sisal e das frações no controle *in vitro* de *P. coffeae*. O resíduo bruto de sisal e suas frações foram eficientes no controle in vitro de *P. coffeae*. Com o aumento nas concentrações desses extratos, o número de indivíduos imóveis, após avaliação em 24h, e mortos, após 48h de exposição aos tratamentos, aumentaram significativamente.

Verificou-se que o resíduo bruto e a fração em diclorometano foram os mais eficientes, causando os maiores percentuais de mortalidade de nematoides. Foram observados ainda, valores acima de 90% de mortalidade de P. coffeae, na maior concentração testada. Tanto o resíduo bruto quanto as frações apresentaram efeito nematostático e nematicida, quando aplicados nas maiores concentrações. Isso se deve provavelmente à presença de substâncias bioativas como taninos, alcaloides, saponinas e flavonoides, presentes na composição desses extratos, que segundo Chitwood (2002) podem apresentar atividade nematicida. Mateus et al. (2014) atribuíram a ação nematicida de extratos aquosos de gervão (Stachytarpheta cayennensis) e mulungu (Erythrina verna) no controle de M. javanica, ao efeito dos metabolitos secundários como fenóis, taninos e alcaloides. Botura et al (2013) em seus estudos avaliando in vitro a atividade anti-helmíntica do extrato aquoso, acetato de etila, fração flavonoide e fração saponina, obtidos a partir do resíduo de sisal (Agave sisalana) contra nematoides gastrointestinais de cabras, sugerem que o efeito nematicida proporcionado por este resíduo está relacionado à presença de compostos como homoisoflavoanoides e saponinas. D'Addabbo et al. (2020) avaliaram extratos ricos em saponinas, de cinco espécies de Medicago, contra os nematoides Meloidogyne incognita, Xiphinema index e Globodera rostochiensis e reportaram que esses extratos foram fortemente ativos em concentrações acima de 250 μg mL⁻¹. Nesse estudo, a mortalidade dos fitonematoides foi quase completa, após 24 horas de exposição dos juvenis de segundo estágio (J2) aos extratos, na concentração de 500 μg mL⁻¹, sendo demonstrada a sua eficiência no controle de fitonematoides e seu potencial para utilização em novas aplicações biotecnológicas, tais como formulações nematicidas.

Os efeitos biológicos das saponinas normalmente estão relacionados à sua capacidade de agir na membrana celular, resultando em desestabilização e alterações na permeabilidade celular (TAVA; AVATO 2006). A interação da saponina com as proteínas do colágeno da cutícula dos nematoides também pode ser responsável por seu efeito nematotóxico (PAGE; WINTER 2003; ARGENTIERI et al., 2008).

A atividade nematicida dos flavonoides vem sendo relatada em diversos estudos utilizando extratos e resíduos de plantas. Seu mecanismo de ação está relacionado a alterações provocadas na atividade de várias enzimas e, ou processos metabolitos (KERBOEUF et al., 2008). Bano et al. (2020) demonstraram em teste in vitro, que flavonoides pertencentes às classes de flavona e flavonol, isolados de flores de Tagetes patula exibiram atividade nematicida sobre juvenis de M. incognita. Avaliando o extrato hidroalcoólico e frações (diclorometano, acetato de etila, metanol e água) de folhas de Annona crassiflora, Machado et al. (2015) verificaram que as frações em diclorometano e acetato de etila mostraram-se mais ativas, promovendo imobilidade de 98,13 e 89,66% nas larvas de Caenorhabdite elegans, respectivamente. Em análise por TCL e H-RMN, estes autores detectaram a presença de flavonoides (quercetina e kaempferol) nas frações diclorometano e acetato de etila, atribuindo a estes a eficiência sobre *C. elegans.* Munhoz et al. (2017) também sugeriram que os flavonoides atuam como substâncias nematotóxicas, ao observarem em seus estudos com extratos e frações de flores de Tagetes patula sobre a eclosão, mobilidade e mortalidade de nematoides, que o fracionamento químico e a obtenção da fração acetato de etila acentuaram a resposta nematicida sobre *Meloidogyne* spp.

Renco et al. (2012) ao avaliar o efeito nematicida de soluções de taninos provenientes de castanhas sobre o nematoide dos cistos *Globodera rostochiensis*, constataram que todos os taninos testados reduziram em 87% a viabilidade dos ovos, sob condições in vitro, quando comparado com o tratamento controle. Em outro estudo, Maistrello et al. (2010) também observaram a ação nematicida de taninos de

castanhas em *M. javanica*. Os taninos também estão presentes no resíduo líquido de sisal. O mecanismo de ação dos taninos se baseia na capacidade de complexação com outras moléculas, se ligando à cutícula dos nematoides, que é rica em prolina e hidroxiprolina, causando alterações em suas propriedades físicas e químicas (ATHANASIADOO 2000; HOSTE et al., 2006; OLIVEIRA 2011).

A atividade nematicida de extratos de espécies vegetais tem sido atribuída também, à presença de alcaloides em sua composição. Extratos de raízes e caule de *Fumaria parviflora* apresentaram forte atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita* em condições in vitro e in vivo. A triagem fitoquímica revelou a presença de compostos bioativos como alcaloides, saponinas, flavonoides, glicosídeos, fenóis, taninos e esteroides. Ao determinarem a quantidade desses compostos, os extratos vegetais apresentaram maior porcentagem de alcaloides e saponinas (NAZ et al., 2013). Cinco alcaloides de amida, isolados de sementes de *Clausena lansium,* apresentaram atividade nematicida para *Panagrellus redivivus* (Fan et al., 2018). O efeito antiparasitário de frações alcaloides também foi comprovado por Luo et al (2018) ao avaliarem extratos solúveis em água de sementes de *Sophora moorcroftiana* contra *Caenorhabdites elegans*.

Compostos triterpenoides isolados das Dechapetalaceae exibiram diferentes atividades biológicas, incluindo atividade antifúngica e nematicida (JING et al., 2014). Estes compostos também estão presentes no resíduo líquido de sisal e podem ser responsáveis por sua ação nematicida.

Castro et al. (2019) investigaram a ação in vitro e in vivo de extratos de *Eugenia uniflora* em nematoides gastrointestinais de ovinos e constataram a ação nematicida desses extratos, principalmente do extrato hidroalcoólico, que promoveu a inibição da eclodibilidade dos ovos, variando de 14,56 a 99,75%. A análise da composição química dos extratos detectou a presença de compostos com ação anti-helmíntica comprovada, como flavonoides, saponina, taninos e triterpenos. Estes metabolitos secundários são os principais constituintes químicos encontrados no resíduo bruto de sisal e, provavelmente também estão presentes nas frações obtidas a partir desse resíduo com diferentes solventes orgânicos.

Apesar de poucos estudos demonstrarem os mecanismos de ação dos metabolitos secundários aqui destacados, muitas pesquisas científicas utilizando extratos e resíduos vegetais no controle de nematoides tem apresentado resultados satisfatórios. A atividade nematicida do resíduo líquido de sisal pode estar relacionada

à diversidade de compostos bioativos presentes nesta planta. A utilização desse resíduo como nematicida, além dos impactos positivos na agricultura com o manejo de nematoides parasitas de plantas, também tem um importante papel econômico e social para os produtores rurais que sobrevivem principalmente da extração da fibra dessa planta na região semiárida do Nordeste, especialmente no semiárido baiano. Essa tecnologia permite aos agricultores um melhor aproveitamento econômico da cultura, com a agregação de valor ao resíduo do desfibramento das folhas e a oportunidade de geração de renda. Adicionalmente, esta tecnologia contribui para a redução da quantidade de resíduo descartado de forma inadequada nas áreas de cultivo.

Os resultados apresentados neste estudo destacam o potencial nematicida do resíduo de sisal no controle de *Pratylenchus coffeae*, sendo uma opção promissora no manejo de nematoides parasitas de plantas. Contudo, ainda são necessárias informações mais especificas sobre o modo de ação, gama de atividades e os mecanismos envolvidos na supressão desses nematoides pelos metabólitos secundários encontrados no resíduo líquido gerado no processo de desfibramento das folhas de sisal.

CONCLUSÕES

O resíduo líquido bruto de sisal e as frações obtidas a partir desse resíduo são eficientes no controle de *P. coffeae*, em condições *in vitro*.

O resíduo bruto e a fração em diclorometano, nas concentrações estimadas de 139 e 156 mg L⁻¹, foram os tratamentos mais eficientes, sendo responsáveis pelas maiores taxas de mortalidade dos nematoides, 99 e 95%, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ARGENTIERI, M. P.; D'ADDABBO, T.; TAVA, A.; AGOSTINELLI, A.; JURZYSTA, M.; AVATO, P. Evaluation of nematicidal properties of saponins from *Medicago* spp. **European Journal of Plant Pathology**, v. 120, p. 189-197, 2008.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasited with *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal Parasitology**, v. 30, p.1025-1033, 2000.
- BANO, S., IQBAL, E. Y., LUBNA, ZIK-UR-REHMAN, S., FAYYAZ, S., & FAIZI, S. Nematicidal activity of flavonoids with structure activity relationship (SAR) studies against root knot nematode Meloidogyne incognita. **EUROPEAN JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY**, 2020.
- BOTURA, M. B.; SANTOS, J. D. G.; SILVA, G. D.; LIMA, H. G.; OLIVEIRA, J. V. A.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA, M. J. M.; BRANCO, A. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Agave sisalana* Perr. (Sisal) on gastrointestinal nematodes in goats. *Veterinary Parasitology*, v. 192, p. 211-217. 2013.
- BRAGA, TATIANE VIEIRA. Avaliação da atividade farmacológica de Cissus verticillata Nicolson & CE Jarvis subsp. verticillata como antioxidante, antifúngico, hipoglicemiante e cicatrizante. 2008.
- CASTRO, L. L. D. D., SPRENGER, L. K., MADRID, I. M., OLIVEIRA, F. C. D., OLIVEIRA, P. A. D., CASTRO, L. M. D., ... & LEITE, F. P. L. Efeito in vitro e in vivo de extratos de *Eugenia uniflora* em nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**,2019.
- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.
- D'ADDABBO, T., LAQUALE, S., LOVELLI, S., CANDIDO, V., & AVATO, P. Biocide plants as a sustainable tool for the control of pests and pathogens in vegetable cropping systems. *Italian Journal of Agronomy*, p. 137-145, 2014.
- D'ADDABBO T, ARGENTIERI MP, ŻUCHOWSKI J, ET AL. Activity of Saponins from *Medicago* Species against Phytoparasitic Nematodes. *Plants (Basel)*. **Published** 2020.
- DAMASCENO, J. C. A. D.; SOARES, A. C. F.; SANTOS, A. C. dos; CONCEIÇÃO, M. S.; TELES, Z. N. S. Resíduo de sisal sobre Meloidogyne javanica em plantas de alface. Enciclopédia Biosfera, v. 14, p. 641-650, 2017.
- DAMASCENO, J. C. A.; SOARES, A. C. F.; JESUS, F. N.; SANT'ANA, R. S. Sisal leaf decortication liquid residue for controlling *Meloidogyne javanica* in tomato plants. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 155-162. 2015.

- DANTAS, J. L. L.; SILVA, S. de O. e; SOARES FILHO, W. dos S.; CARVALHO, P. C. L de Filogenia, história, evolução, distribuição geográfica e habitat. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. de O. e; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos. (Ed.). **O** agronegócio da banana. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 15-28.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S. M.; BARIZAO, D. A. O.; RIBEIRO, R. C. F.; FORMENTINI, H. M. Fitonematoides associados a frutíferas na região noroeste do Paraná, BRASIL. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p.1064-1068, 2010.
- EL-ANSARY, M. S. M.; HAMOUDA, R. A. Biocontrol of Root_Knot Nematode Infected Banana Plants by Some Marine, **Russian Journal of Marine Biology**, v. 40, n. 2, p. 140 146, 2014
- FAN, Y.-J., CHEN, H.-Q., MEI, W.-L., KONG, F.-D., LI, F.-X., CHEN, P.-W., ... DAI, H.-F. Nematicidal amide alkaloids from the seeds of Clausena lansium. **Fitoterapia**, 128, 20–25. 2018.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F (Org.). **Nematologia de plantas**: fundamentos e importância. Manaus: NORMA EDITORA, 2016. 251 p.
- GOULART, ALEXANDRE MOURA CINTRA. **Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero** *Pratylenchus***).** Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E), 2008.
- HOSTE, H.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M.; HOSKIN, S. O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v.22, p.253-261, 2006.
- HUSSEY, R. S, BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of Meloidogyne spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for extracting nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, p. 692, 1964.
- JESUS, F. N.; DAMASCENO, J. C. A.; BARBOSA, D. H. S. G.; MALHEIRO, R.; PEREIRA, J. A.; SOARES, A. C. F. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. **Agronomy for Sustainable Development**. v. 35, n. 2, p. 783 791, 2015.
- JING, SX, LUO, SH, LI, CH, HUA, J., WANG, YL, NIU, XM, E LI, SH. Dichapetalinas biologicamente ativas de Dichapetalum gelonioides. *Jornal de produtos naturais*, *77* (4), 882-893. 2014.
- KERBOEUF, D.; RIOU, M.; GUÉGNARD, F. Flavonoids and related compounds in parasitic disease control. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 116-128, 2008.

- LUO, Y.-P., ZHANG, Y., ZHANG, H.-M., ZHANG, H., ZHANG, L., YU, H.-J., DONG, K.-Z. Anti-parasitic effects of water-soluble alkaloid fractions from ethanolic extracts of Sophora moorcroftiana seeds in Caenorhabditis elegans. **Chinese Journal of Natural Medicines**, 16(9), 665–673. 2018.
- MACHADO, A.R.T., FERREIRA, S.R., DA SILVA MEDEIROS, F. et al. Nematicidal activity of Annona crassiflora leaf extract on Caenorhabditis elegans. **Parasites Vectors** 8, 113 (2015).
- MAI, W. F.; MULLIN, P. G. Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera. **Cornell University Press**, Ithaca. 1996. MAISTRELLO, L.; VACCARI, G.; SASANELLI, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologica**, v. 47, p. 48-57, 2010.
- MARAN, J. PRAKASH; PRIYA, B. Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 732-738, 2015.
- MATEUS, M. A. F., FARIA, C. M. D. R., BOTELHO, R. V., DALLEMOLE-GIARETTA, R., FERREIRA, S. G. M., & ZALUSKI, W. L. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de Meloidogyne incognita (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.
- MIORANZA, T. M.; MULLER, M. A.; INAGAKI, A. M.; FUCHS, F.; COLTRO-RONCATO, S.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J. Potencial nematicida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita*. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 14, p. 104-109, 2016.
- MUNHOZ, VANESSA MARQUITO ET AL. Extracts and semi-purified fractions of Tagetes patula flowers in the control of root-knot nematodes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 6, p. 3529-3538, 2017.
- NAZ, I., PALOMARES-RIUS, J. E., BLOK, V., KHAN, M. R., ALI, S., & ALI, S. In vitro and in planta nematicidal activity of Fumaria parviflora (Fumariaceae) against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Plant Pathology**, 62(4), 943-952, 2013.
- OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MACEDO, I. T. F. Plantas taniníferas e o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1967-1974, 2011.
- PAGE, A. P.; WINTER, A. D. Enzymes involved in the biogenenesis of the nematode cuticle. **Advances Parasitology**. v. 53, p. 85 -148, 2003.
- RENCO, M., SASANELLI, N., PAPAJOVÁ, I., & MAISTRELLO, L. Nematicidal effect of chestnut tannin solutions on the potato cyst nematode Globodera rostochiensis (Woll.) Barhens. **Helminthologia**, 49(2), 108-114, 2012.

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

SANTOS, A. C. TECNOLOGIA COM RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL PARA O MANEJO DE *Helicotylenchus multicinctus* E *Meloidogyne incognita* EM BANANEIRA. **Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)** – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus Cruz das Almas- BA, 2018.

SILVEIRA, R. X.; CHAGAS, A. C. S.; BOTURA, M. B.; BATATINHA, M. J. M.; KATIKI, L. M.; CARVALHO, C. O.; BEVILAQUA, C. M. L.; BRANCO, A.; MACHADO, E. A. A.; BORGES, S.L.; ALMEIDA, M. A. O. Actionof sisal (*Agave sisalana*, Perrine) extract in the *in vitro* development of sheep and goat gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v.131, p. 162–168, 2012.

TAVA, ALDO; AVATO, Pinarosa. Chemical and biological activity of triterpene saponins from Medicago species. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 12, 2006.

WAWERU, B. W., LOSENGE, T., KAHANGI, E. M., DUBOIS, T., & COYNE, D. Potential biological control of lesion nematodes on banana using Kenyan strains of endophytic Fusarium oxysporum. **Nematology**, v. 15, n. 1, p. 101-107, 2013.

CAPÍTULO 2

AÇÃO NEMATICIDA DE FRAÇÕES DO RESÍDUO DE SISAL SOBRE Meloidogyne incognita e Meloidogyne enterolobii.

AÇÃO NEMATICIDA DE FRAÇÕES DO RESÍDUO DE SISAL SOBRE Meloidogyne incognita e Meloidogyne enterolobii.

Resumo: Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito do resíduo líquido de sisal e das frações obtidas por partição líquido-líquido com solventes de diferentes polaridades no controle de M. incognita e M. enterolobii in vitro. Foram realizados dois ensaios in vitro, um para cada espécie. Os ensaios in vitro foram realizados em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x5, sendo os tratamentos compostos por quatro tipos de extrato (resíduo líquido bruto, fração em hexano, acetato de etila e diclorometano) e cinco concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹), com cinco repetições. Foram avaliados os percentuais de imobilidade e mortalidade dos juvenis de M. incognita e M. enterolobii. Houve efeito nematostático e nematicida do resíduo líquido de sisal e suas frações sobre M. incognita e M. enterolobii. Obteve-se acima de 70 e 75% de imobilidade dos juvenis de M. incognita e M. enterolobii, respectivamente, com a utilização do resíduo bruto e a fração em diclorometano, nas maiores concentrações testadas. O resíduo bruto e a fração em diclorometano foram os extratos mais eficientes, causando acima de 90% de mortalidade dos nematoides. Na concentração estimada de 153 mg L⁻¹, o resíduo bruto foi o mais eficiente, causando 98% de mortalidade dos juvenis de *M. incognita*. A fração em diclorometano, na concentração estimada de 172 mg L⁻¹, causou 93% de mortalidade para essa mesma espécie de nematoide. Os tratamentos com resíduo bruto e a fração em diclorometano tiveram resultados semelhantes para M. enterolobii, causando 97% de mortalidade, na concentração estimada de 153 mg L-1 e 95% de mortalidade na concentração estimada de 172 mg L⁻¹, respectivamente. O resíduo líquido de sisal e suas frações apresentaram atividade nematicida sobre *M. incognita* e M. enterolobii.

Palavras-chave: Agave sisalana; nematoide-das-galhas; atividade nematicida

NEMATICIDE ACTION OF SISAL RESIDUE FRACTIONS ON *Meloidogyne incognita* **E** *Meloidogyne enterolobii*

ABSTRACT: This work aimed to evaluate the effect of sisal liquid residue and its fractions obtained by liquid-liquid partition with solvents of different polarities for controlling M. incognita and M. enterolobii in vitro. Two in vitro assays were performed, one for each species. The in vitro tests were carried out in a completely randomized design in a 4x5 factorial scheme, and rhe treatments consisted of four types of extract (gross liquid residue, fraction in hexane, ethyl and dichloromethane) and five concentrations (0, 25, 50, 100 and 200 mg L⁻¹), with five replications. The percentages of immobility and mortality of juveniles of M. incognita and M. enterolobii were evaluated. There was a nematostatic and nematicidal effect of the liquid sisal residue and its fractions on *M. incognita* and *M. enterolobii*. The immobility of juveniles of *M.* incognita and M. enterolobii was 70 and 75%, with the use of the crude residue and the fraction in dichloromethane, at the highest concentration. The crude residue and the fraction in dichloromethane were the most efficient extracts causing mortality above 90% of both species of *Meloidogyne*. The estimated concentration of 153 mg L⁻¹ of the crude residue was the most efficient, causing 98% of mortality for juveniles of M. incognita. The fraction in dichloromethane at the estimated concentration of 172 mg L¹, caused 93% mortality for this same species of nematode. Treatments with crude residue and fraction in dichloromethane had similar results for *M. enterolobii*, causing 97% mortality at an estimated concentration of 153 mg L⁻¹ and 95% mortality at an estimated concentration of 172 mg L⁻¹, respectively. The liquid sisal residue and its fractions showed nematicidal activity on *M. incognita* and *M. enterolobii*.

Keywords: Agave sisalana; root-knot nematode; nematicidal activity.

INTRODUÇÃO

Os nematoides do gênero *Meloidogyne*, popularmente conhecidos como nematoides-das-galhas, são considerados os patógenos habitantes de solo, que mais causam danos às principais culturas de importância econômica e de subsistência em todo o mundo (LIMA et al., 2019; D'ADDABO 2014). A formação de galhas nas raízes das plantas, causadas pela infecção por estes fitopatógenos, resulta na redução da capacidade do sistema radicular em absorver água e nutrientes, levando ao menor crescimento das plantas e consequentemente menor produtividade (CANTU et al., 2009).

Quando presentes em uma área, a erradicação desses fitopatógenos se torna praticamente impossível e o seu controle tem como objetivo principal reduzir ou manter as densidades populacionais dos nematoides em níveis baixos que não causem perdas econômicas. O controle de nematoides é realizado através da integração de vários métodos, sendo recomendados frequentemente a rotação de culturas, uso de variedades resistentes e o controle químico (FERRAZ et al., 2010).

O controle químico, realizado com aplicações de nematicidas comerciais, vinha sendo adotado como principal estratégia de controle dos nematoides. Contudo, além de onerarem os custos de produção, os nematicidas sintéticos têm seu uso cada vez mais restrito, devido à alta toxidade e baixa eficácia de controle, após repetidas aplicações, o que tem levado à retirada de vários nematicidas do mercado (OKA et al., 2013; RITZINGER; FANCELLI, 2006; SEENISVASANA; SENTHILNATHAN, 2018). Diante disso, o desenvolvimento de nematicidas eficientes e ambientalmente seguros, através de estudos com resíduos orgânicos, extratos vegetais e ou fitoquímicos tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores (YANG et al., 2015).

A utilização de plantas com propriedades nematicidas apresenta potencial no manejo de fitonematoides (ELBADRI et al., 2009; D'ADDABBO et al., 2014). O uso de resíduos orgânicos, extratos vegetais e óleos essenciais no controle alternativo desses fitopatógenos apresenta várias vantagens, quando comparados aos nematicidas sintéticos, tais como: possibilidade de gerar novos compostos capazes de controlar nematoides, menores impactos ao meio ambiente, e ao ser humano, rápida biodegradação e vasto modo de ação além de serem derivados de recursos renováveis (COLTRO-RONCATO et al., 2015).

A planta de sisal (*Agave sisalana* Perrine) tem se destacado por sua ação no controle de pragas e doenças, devido à riqueza de compostos bioativos existentes em sua composição (SILVEIRA et al., 2012; DAMASCENO et al., 2015; BOTURA et al., 2013). O sisal é uma planta adaptada à região semiárida do Nordeste brasileiro, sendo uma cultura que, em toda a sua cadeia produtiva, constitui a principal fonte de renda para grande maioria das famílias dessa região (SANTOS et al., 2014). A Bahia é responsável por aproximadamente 95% da produção de sisal no Brasil (SINDIFIBRAS, 2020) e a fibra presente em suas folhas é a única parte dessa planta com valor econômico, mas representa apenas 3 a 5 % do peso total das folhas. O restante da planta, após o processo de desfibramento, é composto por resíduos sólidos e aquosos que são, em sua maioria, empilhados e abandonados nas áreas de produção, sem qualquer tratamento (MURALI; MORCHHAL, 2014; SUINAGA et al., 2006).

O potencial nematicida de compostos presentes nas folhas de sisal e em seus extratos foi demonstrada inicialmente com relação à ação anti-helmíntica sobre nematoides parasitas de animais (SILVEIRA et al., 2012). A eficiência do resíduo líquido do desfibramento de folhas de sisal, como nematicida para nematoides parasitas de plantas, também foi comprovada para o controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro e alface (DAMASCENO et al., 2015; 2017) e *Radopholus similis* em bananeira (JESUS et al., 2015) e *Helicotylenchus multicinctus* e *M. incognita* em bananeira (SANTOS, 2018). O efeito nematicida deste resíduo tem sido atribuído à riqueza de substâncias bioativas do metabolismo secundário do sisal, a exemplo de alcaloides, compostos fenólicos, cumarinas, saponinas, flavonoides e taninos, relacionados aos mecanismos de defesa das plantas (CHITWOOD, 2002; BOTURA et al., 2013).

O aproveitamento desse resíduo como matéria prima para a produção de um nematicida natural está de acordo com o conceito de economia verde, promovendo o crescimento econômico, preservação do meio ambiente e inclusão social, pois além de diminuir os impactos ambientais causados pelo seu descarte, possibilita o melhor aproveitamento da folha de sisal, servindo como uma nova fonte de renda para os produtores. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade nematicida do resíduo líquido de sisal e das frações obtidas a partir deste resíduo na mortalidade de *M. incognita* e *M. enterolobii* in vitro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios in vitro foram conduzidos no laboratório de Microbiologia Agrícola do centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas (CCAAB) na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Obtenção, manutenção e multiplicação do inoculo de Meloidogyne enterolobii e Meloidogyne incognita.

A população foi obtida a partir de ovos de *M. enterolobii* extraídos de raízes de tomateiros infectados cedidos pelo laboratório de fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. As amostras foram processadas no laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, conforme a metodologia de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981). Para a multiplicação, foram utilizadas mudas de tomateiro cv. 'Santa Cruz Kada' após 15 dias de transplantadas em vasos contendo 3,0 kg de uma mistura de solo e areia, na proporção 2:1 (v/v), esterilizada em autoclave a 120 °C por 1,5 hora, em dois dias consecutivos.

Foram inoculados, próximo às raízes dos tomateiros, 1000 indivíduos *de M. enterolobii* por muda, e as mudas inoculadas permaneceram em em casa de vegetação com irrigação diária, no campus da UFRB em Cruz das Almas, para multiplicação dos nematoides. Posteriormente, os ovos de *M. enterolobii* foram extraídos das raízes dessas plantas, conforme descrito acima, e foram colocados numa câmara de eclosão montada numa placa de Petri com tela de 35 mesh e papel toalha poroso para obtenção dos juvenis. Os J2 eclodidos no terceiro dia foram quantificados, em câmera de contagem de Peters, sob microscópio óptico de luz invertido, tendo a quantidade de indivíduos ajustada para 300 J2/ml.

A multiplicação do inoculo de *M. incognita* foi realizada conforme descrito para *M. enterolobii.*

Obtenção do resíduo líquido fresco de sisal

O resíduo líquido de sisal (extrato bruto) foi obtido no campo, em área de produtor, durante o processo de desfibramento das folhas de sisal, nos municípios de Conceição do Coité e Valente, Estado da Bahia, Brasil. O resíduo (sólido + líquido misturados) foi retirado da máquina de desfibramento, com uma pá, e imediatamente prensado em uma prensa de madeira construída localmente para obtenção da parte líquida. O líquido obtido foi armazenado em garrafas plásticas de 1 L e, imediatamente transferido para caixa de isopor com gelo para o transporte até o Laboratório de

Microbiologia Agrícola da UFRB, onde foi congelado em freezer comum a -20°C, até ser utilizado para obtenção das frações e nos estudos in vitro.

Obtenção das frações do resíduo líquido de sisal

O resíduo líquido armazenado em garrafas plásticas de 1L foi colocado no liofilizador por seis dias, sendo obtidas 400 g de resíduo liofilizado. Adicionou-se o metanol (solvente orgânico) ao resíduo liofilizado, em um frasco de vidro com tampa plástica de rosca e a mistura permaneceu vedada e incubada a temperatura ambiente e no escuro por 72 horas. O processo de extração em metanol foi realizado três vezes no resíduo liofilizado, por decantação do extrato metanólico e adição de mais metanol ao resíduo. Após a terceira extração, o líquido decantado das três extrações foi misturado, filtrado em funil com algodão e concentrado em evaporador rotativo, sob pressão reduzida com temperatura de aproximadamente 35 °C, para remoção do solvente. Ao final desse procedimento, foram obtidas 250 g de extrato metanólico do resíduo líquido e liofilizado de sisal. Em seguida, o extrato metanólico foi solubilizado em uma mistura contendo 300 mL de água e 400 mL de metanol e essa mistura foi submetida à partição (líquido-líquido) em um funil de separação, por três vezes sucessivas com diferentes solventes orgânicos na respectiva ordem: hexano, diclorometano e acetato de etila de acordo com a metodologia de Braga (2008). Após a partição, as frações foram colocadas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, a aproximadamente 35 °C, para eliminação do solvente, obtendo assim as frações: em hexano (6,0 g), diclorometano (100,0 g) e em acetato de etila (10,0 g).

Ensaio in vitro com as frações do resíduo líquido de sisal

Foram realizados dois ensaios in vitro, um para *M. incognita* e outro para *M. enterolobii*. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5, composto por quatro tipos de extratos (resíduo líquido bruto, fração em hexano, fração em diclorometano e fração em acetato de etila) e cinco concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹), totalizando 20 tratamentos, com cinco repetições. Em células de 300 µl de placas de microtitulação, do tipo Elisa, foram adicionados 20 µl da suspensão contendo os J2 da espécie de nematoide a ser estudada (*M. incognita* ou *M. enterolobii*) e 100 µl do extrato (variando o tipo de extrato e a concentração em cada bioensaio), de acordo com a metodologia de Ribeiro et al. (2012). Para obtenção das concentrações definidas para cada tratamento, os extratos foram diluídos com água esterilizada. As placas de microtitulação foram incubadas a temperatura

ambiente, sobre a bancada do laboratório e, após 24 horas, foi realizada a avaliação de motilidade pela contagem dos nematoides moveis e imóveis. Em seguida avaliouse a mortalidade dos nematoides, seguindo a metodologia descrita por Chen e Dickson (2000), que consiste na adição de uma a duas gotas de NaOH 1N à suspensão de nematoides para a contagem destes em câmara de Peters, considerando mortos os nematoides retos e imóveis e, vivos os indivíduos retorcidos.

Análise estatística

Os dados foram analisados para variância e regressão para avaliar o efeito das concentrações e o teste de Tukey a 5% para analisar a diferença entre as frações. Utilizou-se o software estatístico R version 3.6.1.

RESULTADOS

Frações do resíduo líquido de sisal no controle in vitro de M. incognita

Houve interação significativa (p' \leq 0,05) entre os extratos e as concentrações testadas no ensaio. Após 24 horas de exposição dos indivíduos de M. incognita aos tratamentos foi observado que o resíduo líquido de sisal (resíduo bruto) bem como suas frações (hexano, diclorometano e acetato de etila) causaram imobilidade dos juvenis de M. incognita, comprovando a atividade nematostática sobre os nematoides (Figura 1).

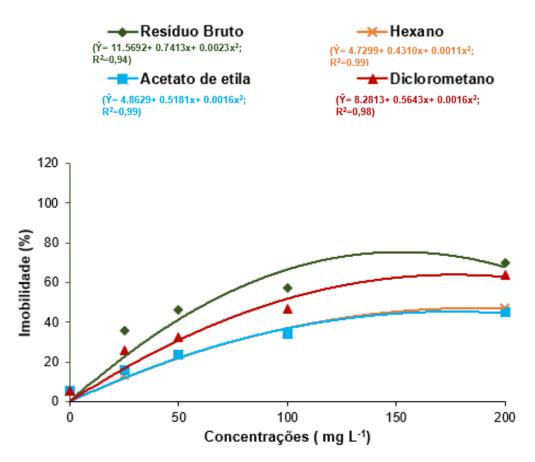


Figura 1. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹) na imobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em condições controladas (in vitro).

O resíduo bruto e a fração em diclorometano foram responsáveis pela maior taxa de imobilidade de nematoides, causando imobilidade em 70 e 64% dos nematoides, nas concentrações estimadas de 161 mg L⁻¹ para o resíduo bruto e 176 mg L⁻¹ para a fração em diclorometano. O tratamento contendo apenas água apresentou aproximadamente 6% de imobilidade dos nematoides, demonstrando que os valores de imobilidade obtidos no ensaio estão relacionados com a ação dos extratos aplicados (Figura 1).

Quando aplicado na menor concentração (25 mg L⁻¹), o resíduo bruto foi responsável pela maior taxa de imobilidade dos nematoides, em relação aos outros extratos, com 36% de imobilidade dos juvenis de segundo estágio (J2) (Figura 2A).

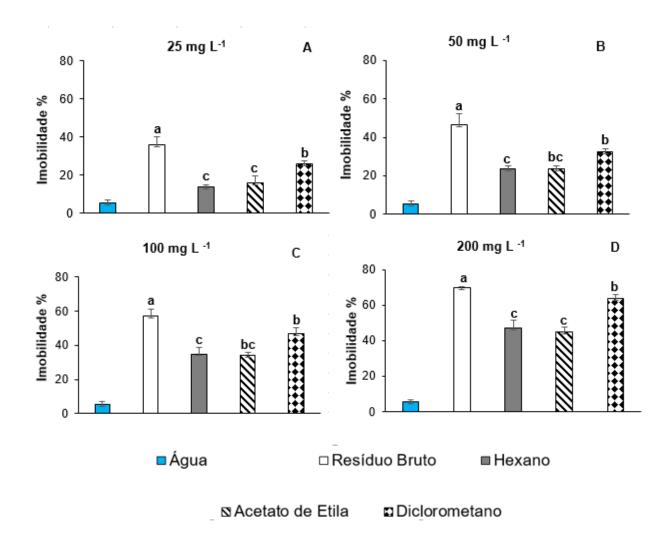


Figura 2. Efeito do resíduo bruto, frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações: A) 25 mg L⁻¹; B) 50 mg L⁻¹; C) 100 mg L⁻¹ e D) 200 mg L⁻¹, na imobilidade de indivíduos de *Meloidogyne incognita* in vitro.

O resíduo bruto foi o mais eficiente na concentração de 50 mg L⁻¹, causando imobilidade em 46% dos nematoides. As frações em diclorometano, acetato de etila e hexano quando aplicadas nesta concentração, causaram imobilidade variando entre 23 e 32% (Figura 2B).

O resíduo bruto na concentração de 100 mg L⁻¹ causou imobilidade em 57% dos nematoides, sendo este o tratamento mais eficiente nesta concentração, seguido pela fração em diclorometano que causou imobilidade em aproximadamente 47% dos J2 (Figura 2C).

As frações em diclorometano, acetato de etila e hexano causaram imobilidade variando entre 47 e 63%, quando aplicadas na concentração de 200 mg L⁻¹. Sendo a fração em diclorometano responsável pela maior taxa de imobilidade. O resíduo bruto

se destacou entre os demais tratamentos, causando a imobilidade de aproximadamente 70% dos nematoides nesta concentração (Figura 2D).

Na segunda avaliação, após a adição de NaOH, foi comprovado o efeito nematicida do resíduo líquido de sisal e de suas frações, com mortalidade significativa de nematoides. O resíduo bruto se destacou entre os demais tratamentos causando as maiores médias de mortalidade dos nematoides, a partir da menor concentração testada, alcançando 98% de mortalidade na concentração estimada de 153 mg L⁻¹ (Figura 3).

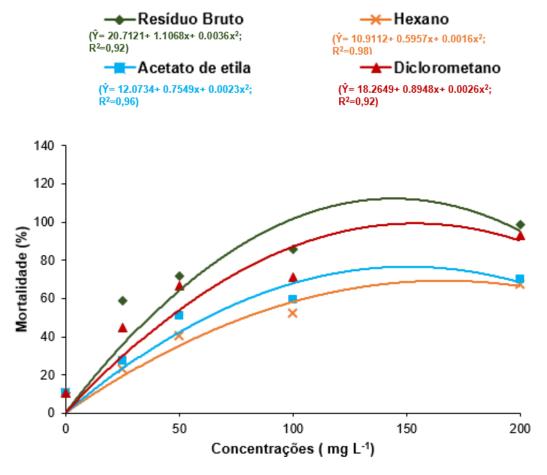


Figura 3. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹) na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em condições controladas (in vitro).

O resíduo bruto e a fração em diclorometano, quando aplicados a partir da concentração de 100 mg L⁻¹, apresentaram valores elevados de mortalidade dos nematoides. O resíduo bruto foi o mais eficiente, causando a mortalidade de 86% dos J2, seguido da fração em diclorometano responsável por 71% de mortalidade (Figura 3).

A fração em diclorometano causou 93% de mortalidade dos indivíduos na concentração estimada de 172 mg L⁻¹. As elevadas medias de mortalidade encontradas foram devido a ação do resíduo de sisal e suas frações, pois o tratamento controle, contendo apenas água, apresentou uma taxa de mortalidade de apenas 10% dos nematoides (Figura 3).

Na concentração de 25 mg L⁻¹, a menor concentração testada, o resíduo bruto de sisal se destacou entre todos os extratos, causando a mortalidade de 53% indivíduos (Figura 4A).

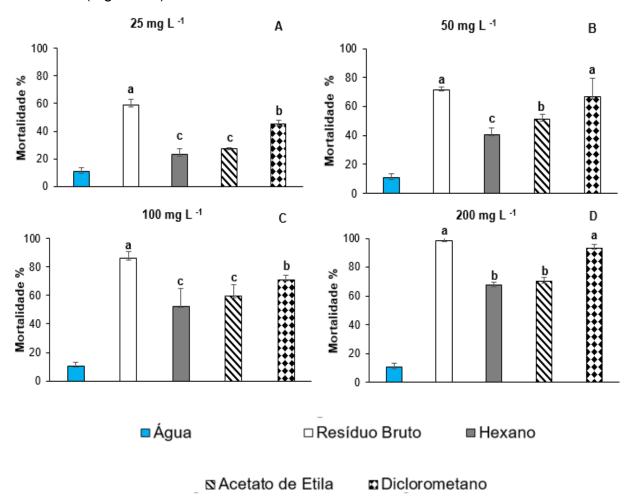


Figura 4. Efeito do resíduo bruto, frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações: A) 25 mg L⁻¹; B) 50 mg L⁻¹; C) 100 mg L⁻¹ e D) 200 mg L⁻¹, na mortalidade de indivíduos de *Meloidogyne incognita* in vitro.

O resíduo bruto e a fração em diclorometano, quando aplicados na concentração de 50 mg L⁻¹, foram os tratamentos mais eficientes, causando a mortalidade de 71 e 66% dos nematoides, respectivamente. A fração em acetato de

etila foi responsável pela mortalidade de 51% dos nematoides, seguido da fração em hexano com 40% (Figura 4B). O resíduo bruto e suas frações causaram mortalidade dos nematoides acima de 67% na concentração de 200 mg L⁻¹. O resíduo bruto e a fração em diclorometano foram responsáveis pelas maiores medias de mortalidade nesta concentração, alcançando valores de 98 e 93 % dos nematoides mortos, respectivamente (Figura 4D).

Frações do resíduo líquido de sisal no controle in vitro de M. enterollobi

Houve interação significativa (*p*′≤0,05) entre as concentrações e os extratos utilizados no ensaio. O resíduo líquido de sisal (resíduo bruto) e suas frações alteraram a mobilidade dos nematoides, apresentando atividade nematostática após 24 horas de exposição dos indivíduos de *M. enterolobii* aos tratamentos (Figura 5).

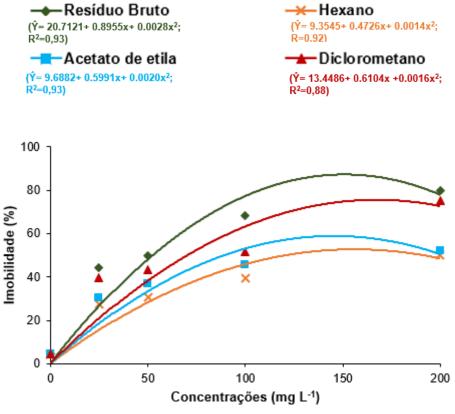


Figura 5. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações (0, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹) na imobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne enterollobi* em condições controladas (in vitro).

O resíduo bruto e a fração em diclorometano foram os tratamentos mais eficientes, causando imobilidade em 79 e 75% dos nematoides, respectivamente, nas

concentrações estimadas de 159 mg L⁻¹ para o resíduo bruto e 190 mg L⁻¹ para a fração em diclorometano. O tratamento contendo apenas água apresentou aproximadamente 5% de imobilidade dos indivíduos de *M. enterollobi*, demonstrando que os valores de imobilidade estão relacionados com a ação dos extratos (Figura 5).

O resíduo bruto, quando aplicado na menor concentração (25 mg L⁻¹), causou imobilidade em 44% dos nematoides. Todas as frações do resíduo, quando aplicadas nesta concentração, causaram imobilidade variando entre 27 e 39% (Figura 6A). Na concentração de 50 mg L⁻¹, o resíduo bruto foi o mais eficiente, causando a imobilidade de aproximadamente 50% dos nematoides, seguido da fração em diclorometano com 43% de nematoides imóveis e as frações em hexano e acetato de etila com valores de imobilidade variando entre 30 e 36%, respectivamente (Figura 6B).

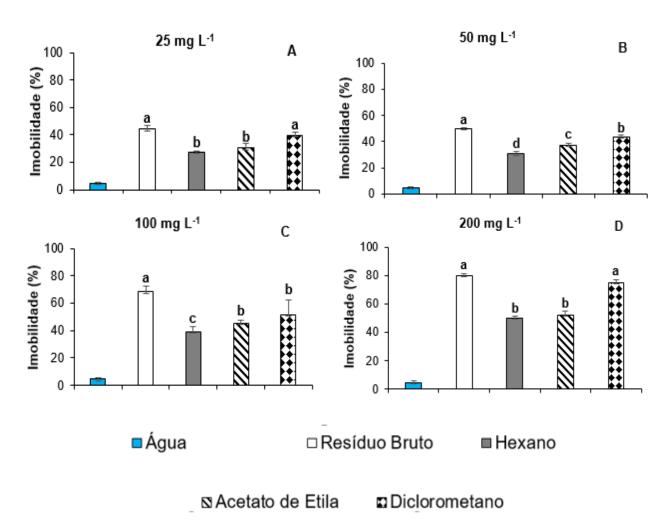


Figura 6. Efeito do resíduo bruto, frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações: A) 25 mg L⁻¹; B) 50 mg L⁻¹; C) 100 mg L⁻¹ e D) 200 mg L⁻¹, na imortalidade de indivíduos de *Meloidogyne enterollobi* in vitro.

O resíduo bruto e as frações em diclorometano e acetato de etila causaram imobilidade dos nematoides superior a 51%, na concentração de 100 mg L⁻¹. O resíduo bruto causou a maior imobilidade nos indivíduos (68%) (Figura 6C). O resíduo bruto e a fração em diclorometano na concentração de 200 mg L⁻¹ causaram as maiores medias de imobilidade, de 79 e 75% nos nematoides, respectivamente (Figura 6D).

Após a adição do NaOH para avaliação da mortalidade observou-se um número elevado de nematoides mortos, comprovando o efeito nematicida do resíduo bruto e suas frações. O resíduo bruto foi responsável pelas maiores medias de mortalidade dos nematoides, a partir da menor concentração testada, alçando 97% de mortalidade na concentração estimada de 153 mg L⁻¹ (Figura 7).

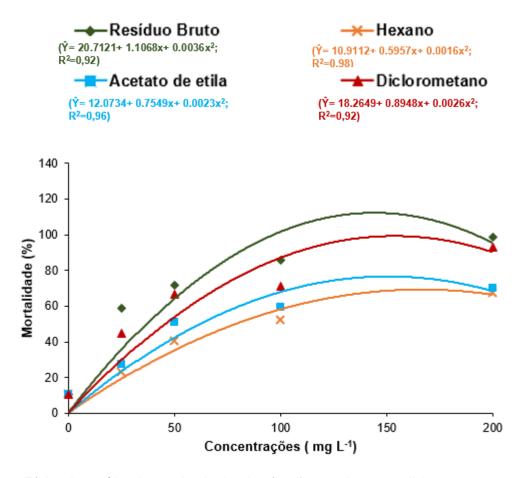


Figura 7. Efeito do resíduo bruto de sisal e das frações em hexano, diclorometano e acetato de etila na imobilidade de indivíduos de *Meloidogyne enterollobi*.

O resíduo bruto na concentração de 100 mg L⁻¹ foi o mais eficiente, causando a morte de 83% dos indivíduos, seguido da fração em diclorometano que causou 73% de mortalidade nesta concentração (Figura 7).

A fração em diclorometano na concentração estimada de 172 mg L⁻¹ causou a mortalidade de aproximadamente 95% dos nematoides. O tratamento contendo apenas água apresentou uma taxa de mortalidade de apenas 8%, comprovando que as elevadas medias de nematoides mortos foram devido a ação do resíduo de sisal e suas frações (Figura 7).

Na concentração de 25 mg L⁻¹ o resíduo bruto se destacou entre todos os extratos, causando a mortalidade de 57% dos nematoides (Figura 8A).

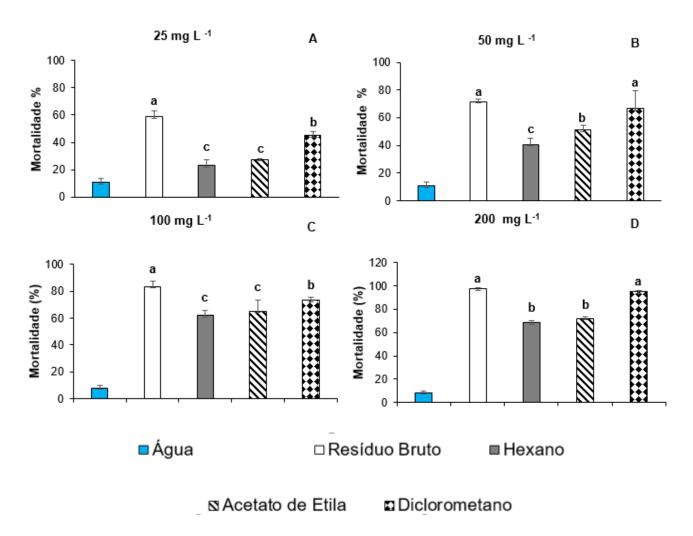


Figura 8. Efeito do resíduo bruto, frações em hexano, diclorometano e acetato de etila em diferentes concentrações: A) 25 mg L⁻¹; B) 50 mg L⁻¹; C) 100 mg L⁻¹ e D) 200 mg L⁻¹, na mortalidade de indivíduos de *Meloidogyne enterollobi* in vitro.

O resíduo bruto e a fração em diclorometano foram os tratamentos mais eficientes na concentração de 50 mg L-1, com mortalidade média de 83 e 73% dos nematoides, seguido das frações em hexano e acetato de etila que causaram 59 e 62% de mortalidade (Figura 8B).

Na concentração de 100 mg L⁻¹, o resíduo bruto foi o mais eficiente, causando a mortalidade de 83% dos nematoides, seguido das frações em diclorometano (73%), acetato de etila (65%) e hexano (61%) de nematoides mortos (Figura 8C). Na concentração de 200 mg L⁻¹ não houve diferença significativa entre o resíduo bruto e a fração em diclorometano, e os dois tratamentos causaram a mortalidade dos nematoides acima de 95%. As frações acetato de etila e hexano, nesta concentração, foram responsáveis por 71 e 68% dos indivíduos respectivamente.

DISCUSSÃO

Estudos anteriores já comprovaram o efeito nematicida do resíduo líquido de sisal sobre diferentes espécies de nematoides (DAMASCENO et al., 2015; JESUS et al., 2015; DAMASCENO et al., 2017; SANTOS, 2018). O presente trabalho buscou avaliar o efeito do resíduo líquido de sisal e as frações obtidas a partir deste resíduo no controle *in vitro* de *M. incognita* e *M. enterolobii*, buscando dessa forma, novas opções de medidas de controle que não causem impacto negativo ao meio ambiente.

O efeito nematicida do resíduo líquido de sisal e das frações obtidas a partir desse resíduo foi demonstrado em testes *in vitro*. Observou-se que o resíduo bruto e a fração em diclorometano foram os mais eficientes, causando os maiores percentuais de imobilidade e mortalidade dos nematoides nas concentrações de 100 e 200 mg L⁻¹, alcançando valores acima de 90% de mortalidade na maior concentração testada. O efeito nematicida do resíduo líquido de sisal e suas frações pode estar relacionado à presença de metabolitos secundários da planta de sisal, com atividade bioestática e biocida. De acordo com Botura et al. (2013) a planta de sisal contém alcaloides, compostos fenólicos, cumarinas, saponinas, flavonoides e taninos.

A ação nematicida do resíduo líquido de sisal também foi demonstrada por diversos autores em testes *in vitro* com nematoides parasitas de animais (SILVEIRA et al., 2012; BOTURA et al., 2013; DOMINGUES et al., 2010). Domingues et al. (2010) testaram esse resíduo no controle in vitro de nematoides do gênero *Haemonchus* e constataram sua atividade anti-helmíntica, com redução de mais de 95% desses

parasitas. Silveira et al. (2012) relataram em seus estudos a ação deste resíduo sobre a eclosão de juvenis e o desenvolvimento larval de nematoides gastrointestinais de ovinos e caprinos in vitro demonstrando o seu efeito antiparasitário, atribuindo-o à presença de compostos bioativos no resíduo.

Muitos estudos têm relatado a eficiência do uso de extratos vegetais e resíduos orgânicos no controle *in vitro* de nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. Martins e Santos (2016) estudando a ação nematicida de extratos de diferentes plantas medicinais sobre *M. incognita*, encontraram percentagens de mortalidade acima de 70%, chegando a 100% com a utilização dos extratos de lombrigueira (*Spigelia anthelmia*) e mastruz (*Chenopodium ambrosioides*). Rocha et al (2017) demonstraram o efeito nematicida do extrato aquoso de sementes de *Canavalia ensiformis*, causando 87% de mortalidade desses fitoparasitas. Mateus et al (2014) observaram em seus estudos que os extratos aquosos de gervão (*Stachytarpheta cayennensis*) e mulungu (*Erythrina verna*) foram eficientes no controle de *M. javanica*, atribuindo estes resultados ao efeito dos metabolitos secundários, como fenóis, taninos e alcaloides, presentes na composição dessas plantas.

A supressão de nematoides por fitoquímicos está relacionada à ação biológica de mais de uma sustância ativa como resultado de mecanismos diversos e concomitante como repelência, desorientação e estimulação ou inibição da eclosão (BOTURA et al., 2013).

Botura et al. (2013) em estudos com o resíduo líquido de sisal, isolaram compostos como homoisoflavonoides e saponinas e atribuíram a estes metabólitos a atividade anti-helmíntica em nematoides gastrointestinais de caprinos. Ribeiro et al. (2012) relataram o potencial bioinseticida deste resíduo e atribuíram o efeito biocida à presença de saponinas esteroidais em sua composição. Argentieri et al. (2008) também relataram que um dos possíveis mecanismos de controle de fitonematoides por meio do uso resíduo líquido de sisal pode estar associado à presença das saponinas. O efeito biológico das saponinas ocorre normalmente pela interação específica que este ativo exerce com a membrana celular dos organismos, causando alterações em sua permeabilidade (TAVA; AVATO 2006; D'ADDABBO et al., 2011).

Yang et al. (2015) em seu estudo com torta de sementes de *Camellia* no controle de *M. javanica* em bananeira observaram seu efeito nematicida tanto in vitro quanto em plantas de banana, sendo estes resultados atribuídos à presença de saponinas e compostos voláteis com destaque para o 4-metilfenol. D'Addabbo et al.

(2020) em estudo com saponinas extraídas de *Medicago sativa* no controle de *Meloidogyne incognita, Xiphinema index e Globodera rostochiensis*, observaram a eficiência desses extratos no controle desses nematoides e relataram que existe potencial para a utilização destes compostos em novas aplicações biotecnológicas tais como formulações nematicidas.

Estudos utilizando extratos e resíduos de plantas tem relatado que os flavonoides também são eficientes no controle de nematoides e tal efeito tem sido atribuído a alterações na atividade de várias enzimas e, ou processos metabólicos (KERBOEUF et al., 2008). Flavonoides extraídos de diversas plantas tem sido utilizados no controle de nematoides. Shakil et al. (2008) relataram a atividade nematicida de flavonoides isolados de quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L. (Phyllanthaceae) no controle de *M. incognita* e *Rotylenchlus reniformis*. A ação nematicida de flavonoides obtidos de raízes de mentrasto-do-grande (*Hyptis suaveolens*), de alfavação (*Ocimum gratissimum*) e de folhas de cravo-de-defunto africano (*Tagetes erecta*) foi observada por Olabiyi (2004). Este autor constatou que os flavonoides obtidos destes materiais vegetais foram eficientes no controle de *M. incognita* em tomateiro. Flavonoides das classes flavona e flavonol, isolados de flores de *Tegetes patula*, também exibiram atividade nematicida sobre juvenis de *M. incognita* (BANO et al., 2020).

Os taninos também são metabolitos secundários encontrados no resíduo de sisal, com atividade biocida e efeito no controle de nematoides. Os taninos tem a capacidade de formar complexos com as proteínas do patógeno, ligando-se à cutícula, cavidade oral, esôfago, cloaca e vulva dos nematoides, podendo causar diversas alterações nas suas propriedades físico-químicas (ATHANASIADOU et al., 2000; HOSTE et al., 2006, HOSTE; TORRES-COSTA, 2011). Icbal et al. (2007) relataram em seus estudos que taninos condensados foram responsáveis por reduzir a eclosão e o desenvolvimento de nematoides parasitas de ruminantes em ensaio in vitro. O efeito nematicida de taninos provenientes de castanhas sobre nematoides dos cistos (*Globodera rostochiensis*) foi relatado por Renco et al. (2012). Maistrello et al. (2010) também observaram a ação nematicida de taninos de castanhas em *M. javanica*.

A ação nematicida do resíduo líquido de sisal também pode estar relacionada à presença de alcaloides em sua composição. Campos (2014) estudando o uso de compostos provenientes de *Guatteria australis* no controle de *M incognita* relatou a

atividade nematicida de substâncias produzidas por esta planta. A identificação dos compostos da fração em diclorometano revelou a presença de três tipos de alcaloides. Ressalta-se que neste trabalho com *M. incognita* e *M. enterolobbi*, a fração em diclorometano obtida do extrato metanólico do resíduo líquido de sisal foi a que apresentou maior eficiência no controle destes nematoides em testes in vitro.

Dentre os metabolitos presentes no resíduo de sisal, são encontrados os triterpenos. Esta classe de metabolitos apresenta inúmeras funções biológicas entre as quais está a proteção contra patógenos e ação nematicida (CHITWOOD, 2002; HU et al., 2020). Jlng et al. (2014) observaram a atividade nematicida de compostos triterpenoides isolados das Dechapetalaceae. Flavonoides, saponina, taninos e triterpenos foram encontrados em extratos de *Eugenia uniflora*, com atividade nematicida in vitro e in vivo sobre nematoides gastrointestinais de ovinos (CASTRO et al., 2019).

O presente estudo comprovou o potencial nematicida do resíduo líquido bruto de sisal e da fração em diclorometano obtida a partir do extrato metanólico deste resíduo. A utilização do resíduo de sisal apresenta potencial para o manejo de nematoides, podendo contribuir significativamente para sistemas mais sustentáveis de produção agrícola, com o uso de tecnologias limpas. Além disso, pode também exercer um papel importante na geração de renda para inúmeras famílias rurais que sobrevivem e se mantem no campo, no semiárido baiano, com a cultura do sisal para a extração e comercialização da fibra. Essa tecnologia permitirá o aproveitamento do resíduo líquido do sisal, oriundo do desfibramento das folhas de sisal, abrindo novas oportunidades de geração de renda para os produtores rurais, com o melhor aproveitamento da planta de sisal e redução da quantidade de resíduos descartados de forma inadequada nas propriedades rurais.

É necessário que se avance nesse estudo para comprovação do efeito nematicida do resíduo de sisal e das suas frações na planta e no campo, para que se possa adotar o manejo dessas espécies de fitonematóides, com diminuição dos impactos ambientais causados pela utilização de nematicidas sintéticos e contribuindo para a econômica verde no semiárido da Bahia e outras regiões e países produtores de sisal.

CONCLUSÕES

O resíduo líquido bruto de sisal e as frações obtidas a partir desse resíduo são eficientes no controle de *M. incognita* e *M. enterolobii* em condições in vitro.

O resíduo bruto e a fração em diclorometano, nas concentrações estimadas de 153 e 172 mg L⁻¹, foram os tratamentos mais eficientes, sendo responsáveis pelas maiores taxas de mortalidade dos nematoides, 93 e 98% para *M. incognita* e 97 e 95% para *M. enterolobii*, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ARGENTIERI, M. P.; D'ADDABBO, T.; TAVA, A.; AGOSTINELLI, A.; JURZYSTA, M.; AVATO, P. Evaluation of nematicidal properties of saponins from *Medicago* spp. **European Journal of Plant Pathology**, v. 120, p. 189-197, 2008.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasited with *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal Parasitology**, v. 30, p.1025-1033, 2000.
- BANO, S., IQBAL, E. Y., LUBNA, ZIK-UR-REHMAN, S., FAYYAZ, S., & FAIZI, S. Nematicidal activity of flavonoids with structure activity relationship (SAR) studies against root knot nematode Meloidogyne incognita. **EUROPEAN JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY**, 2020.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua*, em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 533, 1981.
- BOTURA, M. B.; SANTOS, J. D. G.; SILVA, G. D.; LIMA, H. G.; OLIVEIRA, J. V. A.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA, M. J. M.; BRANCO, A. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Agave sisalana* Perr. (sisal) on gastrointestinal nematodes in goats. *Veterinary Parasitology*, v. 192, p. 211-217. 2013.
- BRAGA, T. V. Avaliação da atividade farmacológica de *Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis subsp *verticillata* como antioxidante, antifúngico, hipoglicemiante e cicatrizante. **Dissertação (Mestrado)** Universidade Federal de Ouro Preto. 175f.
- CAMPOS, V. A. C. Prospecção e estudo *in silico* de metabólitos produzidos por espécies vegetais para o controle de *Meloidogyne* spp. Lavras: Universidade Federal de Lavras. **Tese**. p.164, 2014.
- CANTU, R. R.; WILCKEN, S. R. S.; ROSA, J. M. O.; GOTO, R. Reação de portaenxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 216-218, 2009.
- CASTRO, L. L. D. D., SPRENGER, L. K., MADRID, I. M., OLIVEIRA, F. C. D., CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of Heterodera glycines. **Journal of nematology**, v. 32, n. 1, p. 117, 2000.
- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.
- D'ADDABBO, T.; CARBONARA, T.; LEONETTI, P.; RADICCI, V.; TAVA, A.; AVATO, P. Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass from Medicago sativa. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 503–519, 2011.

- D'ADDABBO T, ARGENTIERI MP, ŻUCHOWSKI J, ET AL. Activity of Saponins from *Medicago* Species against Phytoparasitic Nematodes. *Plants (Basel)*. **Published** 2020.
- D'ADDABBO, T., LAQUALE, S., LOVELLI, S., CANDIDO, V., & AVATO, P. Biocide plants as a sustainable tool for the control of pests and pathogens in vegetable cropping systems. *Italian Journal of Agronomy*, p. 137-145, 2014.
- DAMASCENO, J. C. A. D.; SOARES, A. C. F.; SANTOS, A. C. dos; CONCEIÇÃO, M. S.; TELES, Z. N. S. Resíduo de sisal sobre Meloidogyne javanica em plantas de alface. Enciclopédia Biosfera, v. 14, p. 641-650, 2017.
- DAMASCENO, J. C. A.; SOARES, A. C. F.; JESUS, F. N.; SANT'ANA, R. S. Sisal leaf decortication liquid residue for controlling *Meloidogyne javanica* in tomato plants. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 155-162. 2015.
- DOMINGUES, L. F.; BOTURA, M. B.; CRUZ, A. C. F. G.; YUKI, C. C.; SILVA, G. D.; COSTA, M. S.; MURPHY, G.; MOREIRA, E. L. T.; MENESES, I. D. S.; ALMEIDA, M. G. A. R.; BRANCO, A.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA, M. J. M. Evaluation of anthelmintic activity of liquid waste of *Agave sisalana* (sisal) in goats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 270-272, 2010.
- ELBADRI, G. A. A; LEE, D. W; PARK, J. C; CHOO, H. Y. Nematicidal efficacy of herbal powders on *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) on potted watermelon. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 12, p. 37–39, 2009.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Manejo sustentável de fitonematoides. Viçosa: UFV, 245 p. 2010.
- HOSTE, H.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M.; HOSKIN, S. O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v.22, p.253-261, 2006.
- HOSTE, H.; TORRES-COSTA, J. F. J. Non chemical control of helminthes in ruminnats: adapting solutions for changing worms in a changing world. **Veterinary Parasitology**, v.180, p.144-154, 2011.
- HU, D., GAO, H., & YAO, X. Biosynthesis of Triterpenoid Natural Products. Reference Module in Chemistry, **Molecular Sciences and Chemical Engineering**. 2020.
- HUSSEY, R. S, BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter,** v. 57, p. 1025-1028, 1973.
- ICBAL, Z.; SARVAR, M.; JABBAR, A.; AHMED, S.; NISA, M.; SAJID, M.S.; KHAN, M.N.; MUFTI, K.A.; YASSEN, M. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. **Veterinary Parasitology**, v.144, p.125-131, 2007.

- JESUS, F. N.; DAMASCENO, J. C. A.; BARBOSA, D. H. S. G.; MALHEIRO, R.; PEREIRA, J. A.; SOARES, A. C. F. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. **Agronomy for Sustainable Development**. v. 35, n. 2, p. 783 791, 2015.
- JING, SX, LUO, SH, LI, CH, HUA, J., WANG, YL, NIU, XM,. E LI, SH. Dichapetalinas biologicamente ativas de Dichapetalum gelonioides. *Jornal de produtos naturais*, *77* (4), 882-893. 2014.
- KERBOEUF, D.; RIOU, M.; GUÉGNARD, F. Flavonoids and related compounds in parasitic disease control. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 116-128, 2008.
- KUHN, O. J.; NUNES, R. V.; STANGARLIN, J. R.; RAMPIM, L.; FEY, R.; COSTA, N. V.; COSTA, P. B.; GUIMARÃES, V. F.; ZAMBOM, M. F. Ciências Agrárias: Tecnologias e Perspectivas In: COLTRO-RONCATO, S.; GONÇALVES, E. D. V.; DILDEY, O. D. F.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R. **Fitoquímicos como controle alternative de nematoides**. Ed 1. Marechal Cândido Rodon- PR: UNIOESTE, 2015. P. 188-206
- LIMA, I. D. M., VENTURA, J., COSTA, H., ARPINI, B. D. S., MARTINS, M., Bionematicida contemporâneos: aplicabilidade e importância no manejo de fitonematoides em áreas agrícolas. **Revista Incaper**, v.10, p.9 0-104, 2019.
- MAISTRELLO, L.; VACCARI, G.; SASANELLI, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologica**, v. 47, p. 48-57, 2010. MARTINS, M. da C. B.; SANTOS, C. D. G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, p. 135-142, 2016.
- MATEUS, M. A. F., FARIA, C. M. D. R., BOTELHO, R. V., DALLEMOLE-GIARETTA, R., FERREIRA, S. G. M., & ZALUSKI, W. L. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de Meloidogyne incognita (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.
- MURALI, S.; MORCHHALE, R. K. Sisal (*Agave sisalana*) fibre extraction for sustainable employment generation in india. **Technologies for Sustainable Rural Development**: Having Potential of Socio-Economic Upliftment (*TSRD–2014*), v. 1, p. 184, 2014.
- OKA, Y.; KOLTAI, H.; BAR-EYAL, M.; MOR, M.; SHARON, E.; CHET, I.; SPIEGEL, Y. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. **Pest Management Science.** v. 56, p. 983-988, 2000.
- OLABIYI, T. I. Assessment of the nematicidal properties of extracts from *Tagetes* erecta, *Ocimum gratissimu*, *Hyptis suaveolous* and *Crotalaria retusa*. Ilorin, Nigeria: University of Ilorin. **Tese.** p. 177, 2004.

- OLIVEIRA, P. A. D., CASTRO, L. M. D., ... & LEITE, F. P. L. Efeito in vitro e in vivo de extratos de *Eugenia uniflora* em nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**,2019.
- RENCO, M., SASANELLI, N., PAPAJOVÁ, I., & MAISTRELLO, L. Nematicidal effect of chestnut tannin solutions on the potato cyst nematode Globodera rostochiensis (Woll.) Barhens. **Helminthologia**, 49(2), 108-114, 2012.
- RIBEIRO, B. D.; ALVIANO, D. S.; BARRETO, D. W.; COELHO, M. A. Z. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): critical micellar concentration, antioxidante and antimicrobial activities. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 436, p. 736-743, 2013.
- RIBEIRO, R. C. F., CAMPOS, V. P., XAVIER, A. A., ROCHA, L. S., RIBEIRO, H. B., AGUIAR, F. M., & DIAS-ARIEIRA, C. R. RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DE MELOIDOGYNE JAVANICA E MAL DO PANAMÁ EM BANANEIRA [CONTROL OF MELOIDOGYNE JAVANICA AND PANAMA DISEASE WITH RHIZOBACTERIA]. **Nematropica**, p. 218-226, 2012.
- RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 331-338, 2006.
- ROCHA, T. L.; SOLL, C. B.; BOUGHTON, B. A.; SILVA, T. S.; OLDACH, K.; FIRMINO, A. A. P.; CALLAHAN, D. L.; SHEEDY, J.; SILVEIRA, E. R.; CARNEIRO, R. M. D. G.; SILVA, L. P; POLEZA, V. L. P.; PELEGRINE, P. B.; BACIC, A.; SSA, F. G.; ROESSNERB, U. Prospection and identification of nematotoxic compounds from *Canavalia ensiformis* seeds effective in the control of the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, p. 87-100, 2017.
- SANTOS, A. C. TECNOLOGIA COM RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL PARA O MANEJO DE *Helicotylenchus multicinctus* E *Meloidogyne incognita* EM BANANEIRA. **Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus Cruz das Almas- BA, 2018.
- SANTOS, A. F. J.; MARTINS, C. Y. S.; SANTOS, P. O.; CORRÊA, É. B.; BARBOSA, H. R.; SANDOVAL, A. P. S.; OLIVEIRA, L. M.; SOUZA, J. T.; SOARES, A. C. F. Diazotrophic bacteria associated with sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm): potential for plant growth promotion. **Plant and Soil**, v. 385, p. 37-48, 2014.
- SEENIVASANA, N.; SENTHILNATHAN, S. Effect of humic acid on *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956 infesting banana (Musa spp.). **Fruits**, v. 73, 2018.
- SHAKIL, N. A.; PANKA, J.; KUMAR, J.; PANDEY, R. K.; SAXENA, D. B. Nematicidal prenylated flavanones from. **Phytochemistry**, v. 69, n. 3, p. 759-764, 2008.
- SILVEIRA, R. X.; CHAGAS, A. C. S.; BOTURA, M. B.; BATATINHA, M. J. M.; KATIKI, L. M.; CARVALHO, C. O.; BEVILAQUA, C. M. L.; BRANCO, A.; MACHADO,

E. A. A.; BORGES, S.L.; ALMEIDA, M. A. O. Actionof sisal (*Agave sisalana*, Perrine) extract in the *in vitro* development of sheep and goat gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v.131, p. 162–168, 2012.

SINDIFIBRAS. **Notas de referência sobre a cadeia produtiva do sisal na Bahia**. Disponível em: http://arquivos.sindicatodaindustria.com. br/app/cni_sindicatos/2011/01/10/123/20200804145826548397i.pdf. Acesso em: 05 de ago. 2021.

SUINAGA, F. A.; SILVA, O. R. R. F.; COUTINHO, W. M. Cultivo de Sisal na região Semi-árida do nordeste brasileiro. Campina Grande: **EMBRAPA Algodão**. p. 42. 2006.

TAVA, ALDO; AVATO, Pinarosa. Chemical and biological activity of triterpene saponins from Medicago species. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 12, 2006.

YANG, X.; WANG, X.; WANG, K.; SU, L.; LI, H.; LI, R.; SHEN, Q. The nematicidal effect of *Camellia* seed cake on root-knot nematode *Meloidogyne javanica* of banana. **Plos One**. v. 10, n. 4, p. 1-18, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O subproduto (resíduo líquido) oriundo do desfibramento das folhas de sisal e as frações obtidas a partir desse resíduo apresentaram potencial de controle in vitro sobre *P. coffeae M. incognita* e *M. enterolobii*. O resíduo líquido bruto e a fração em diclorometano foram mais eficientes no controle desses nematoides, sendo responsáveis pelas maiores taxas de mortalidade, alcançando até 98% de mortalidade dos nematoides.

A formulação de produtos nematicidas a partir do resíduo líquido de sisal e sua utilização em sistemas de manejo integrado de nematoides é uma tecnologia bastante promissora, principalmente pela riqueza de substâncias bioativas presentes em sua composição. Estas substâncias apresentam efeito no controle de patógenos, incluindo nematoides parasitas de plantas. Esta tecnologia pode contribuir de forma significativa como uma nova fonte de renda para os agricultores, como consequência do melhor aproveitamento das folhas de sisal. Dessa forma, é interessante a realização de trabalhos avaliando os efeitos desse resíduo no campo, bem como o desenvolvimento de formulações que possam ser utilizadas pelos produtores rurais, no manejo de fitonematoides em diversas culturas de importância econômica. A utilização do resíduo líquido oriundo do desfibramento das folhas de sisal como matéria prima no desenvolvimento de um nematicida natural é uma inovação para o reaproveitamento de um resíduo que pode causar impacto ambiental. Ao utilizá-lo como subproduto, ocorre a valorização da cultura de sisal, em sua máxima eficiência, com geração de renda ao produtor de sisal e beneficiamento de toda a cadeia produtiva desta cultura. Essa inovação, na qual se utiliza com eficiência toda a planta de sisal, permite que a bioeconomia seja estabelecida por meio da conservação e preservação da cultura e seus subprodutos. Teremos, portanto, geração de renda, a partir de recursos naturais disponíveis, e inclusão social por meio da inovação