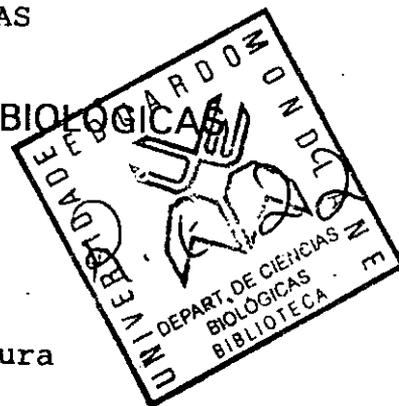


B10-65

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Trabalho de Licenciatura

TÍTULO: DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA DE DIFERENTES ESPÉCIES
DE CROTALÁRIA NO CONTROLO DE NEMÁTODOS DA GALHA
(MELOIDOGYNE SPP.)

Autora : SERAFINA MANGANA

Supervisora : RINIE v.d. OEVER (Eng^a Agrónoma)

Co-Supervisora: PAULA MOMMERS (Bióloga)

Maputo, Junho 1995

DEDICATÓRIA

A minha família: Aos meus filhos Marinela e Wilson pela paciência que tiveram e ao meu marido Silva Mulhovo que tanto contribuiu para a minha formação.

A memória do meu querido pai



AGRADECIMENTOS

A autora deste trabalho endereça os seus agradecimentos ao Departamento de Sanidade Vegetal e ao Projecto DANIDA, por ter criado condições necessárias, assim como todas as facilidades para para a boa realização deste trabalho.

Agradecimento especial é dirigido á Engenheira Rinie van den Oever, supervisora deste trabalho, pela boa conducta, sugestões, comentários que muito contribuíram para a melhoria da qualidade do presente trabalho. A ela muito obrigada.

Agradeço também a professora Paula Mommers Co-supervisora deste trabalho, pelas críticas e sugestões que muito contribuíram para o sucesso deste trabalho.

Ao Dr Mlaya pelo apoio concedido no tratamento estatístico dos dados e pela valiosa contribuição prestada.

Ainda gostaria de agradecer ao meu colega dr A. Uaciquete e ao meu marido, pelas críticas e sugestões sobre o presente trabalho.

Ao Engenheiro A. Ngazero, vai o meu agradecimento pela paciência e ensinamentos em computação no Programa MSTATC, sem o qual não seria possível a análise estatística dos dados

Gostaria de agradecer também ao técnico J. Chirruco, pelo apoio concedido durante a fase experimental do ensaio

A Direcção da Faculdade de Agronomia, também vão os meus agradecimentos especialmente ao Sr Adamo, pelas facilidades na aquisição da área para o ensaio do campo.

Aos Srs Carlos Boane e a Ida Chongo pela colaboração prestada na identificação das espécies de Crotalaria

Ao Sr V. Muteto pela ajuda prestada na recolha de de dados de temperatura durante o periodo da condução do ensaio do campo

E a todos aqueles que directa ou indirectamente contribuíram para o sucesso deste trabalho, muito obrigada.

RESUMO DO TRABALHO

Em Moçambique, o nemátodo da galha (Meloidogyne spp.) é considerado o nemátodo mais importante nas culturas, especialmente nas solanáceas, leguminosas e cucurbitáceas, daí que tem se desenvolvido um trabalho para se identificar culturas de rotação ou variedades resistentes a esta praga.

Oito espécies de Crotalaria, nomeadamente: C. juncea, C. spectabilis, C. capensis, C. intermedia, C. lanceolata, C. pallida, C. ochroleuca, C14 foram testadas e comparadas com uma variedade de tomate (UC-82B), uma variedade susceptível ao nemátodo da galha.

Os ensaios foram realizados em duas etapas e lugares diferentes e consistiram de:

Ensaio de estufa, em que as plantas foram inoculadas com cerca de 5000 nemátodos por vaso, conduzido entre Janeiro a Novembro de 1993, nas estufas da Quarentena Vegetal, em Maputo.

A eficácia das espécies de Crotalaria na redução do nemátodo da galha foi avaliada com base no grau de infestação (índice de galhas), usando uma escala de 0-10 e no número de ovos e larvas nas raízes.

Esta avaliação foi realizada sessenta dias após a inoculação (na estufa).

Este ensaio permitiu a selecção de C. juncea, C. spectabilis e C. capensis posteriormente testadas num campo altamente infestado por espécies de Meloidogyne, entre Março a Junho de 1994, no campo experimental Faculdade de Agronomia (campo Universitário).

Três meses depois do transplante de crotalarias as raízes foram avaliadas e o tomate transplantado imediatamente nos talhões das Crotalarias e na área do pousio. O tomate também foi avaliado três meses após o transplante.

Em ambos os ensaios o delineamento utilizado foi o de blocos completos casualizados, com 4 repetições no ensaio de estufa e 6 no ensaio do campo.

Tomou-se em conta o grau de infestação da cultura de tomate, como indicador da redução da infestação obtida pelas espécies de Crotalaria em comparação com o pousio (controle)

Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando ANOVA 2. Estes indicam que todas as espécies testadas na estufa são resistentes ao nemátodo da galha. Os resultados do campo revelaram que as espécies de Crotalaria testadas reduziram a infestação de espécies de Meloidogyne, contudo não mais do que o pousio

ÍNDICE

Página

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Índice	iv
1.0 Introdução	1
1.1 Importância dos nemátodos na Agricultura	1
1.2 Importância dos nemátodos da galha (<i>Meloidogyne</i> spp)	4
1.3 Distribuição de espécies de <u><i>Meloidogyne</i> spp</u> no Mundo	4
1.4 Taxonomia de espécies de <i>Meloidogyne</i>	5
1.5 Identificação das espécies de <i>Meloidogyne</i>	5
1.6 Ecologia de espécies de <i>Meloidogyne</i>	8
1.7 Danos causados por nemátodos da galha	9
1.8 Sintomas de ataque de espécies de <i>Meloidogyne</i>	9
1.9 Métodos de controle de <i>Meloidogyne</i> spp.	10
1.9.1 Rotação de culturas	10
1.9.2 Uso de variedades resistentes	11
1.9.3 Controlo biológico	11
1.9.4 Produtos químicos	12
1.9.5 Pousio	12
2.0 Breves considerações sobre o género <i>Crotalaria</i>	13
3.0 Objectivos do trabalho	15
4.0 Materiais e métodos	16
4.1 Ensaio e a sua condução	16
4.1.1 Ensaio A de estufa	16
4.1.1.1. Metodologia	16
4.1.2 Ensaio B de estufa	19
4.1.3 Ensaio do campo	20
4.1.3.1 Metodologia	20
4.2 Atenções culturais prestadas	24

4.3 Apresentação dos dados	25
5.0 Resultados	26
5.1 Considerações gerais das experiencias realizadas	26
5.1.1 Ensaio A de estufa	26
5.1.2 Ensaio B de estufa	26
5.1.3 Ensaio de estufa	27
6.0 Discussão dos resultados	41
7.0 Conclusões e recomendações	42
7.1 Conclusões	42
7.2 Recomendações	42
8.0 Referências bibliográficas	44
9.0 Anexos	46

I- INTRODUÇÃO

1.1 Importância de nemátodos na agricultura

Nemátodos são vermes arredondados que se encontram em quase todos os habitats do mundo. Eles pertencem ao subfilo Aschelminthes (Nemathelminthes), filo Nematoda que inclui nemátodos parasitas de animais, nemátodos parasitas de plantas e ainda um grupo que se alimenta de bactérias, algas, fungos ou outros nemátodos e da fauna do solo. Estes ocupam o segundo lugar a seguir aos insectos em número de espécies no reino animal (Barker et al., 1994).

Neste trabalho foram considerados nemátodos parasitas de plantas, com especial atenção ao nemátodo da galha.

Os nemátodos parasitas de plantas tem como característica principal, a presença de uma estrutura cuticular na região oral denominada estilete, através da qual absorve nutrientes do tecido da planta. A figura 1 mostra um exemplo de um nemátodo fitoparasita.

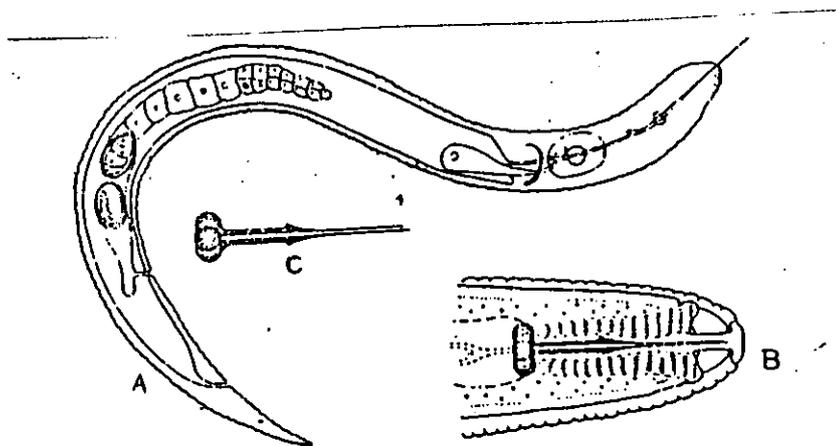


Figura 1. esquema de organização de um nemátodo fitoparasita

No passado os prejuízos por eles causados eram ignorados ou atribuídos a outras causas tais como; cansaço das terras, baixo teor de humidade ou deficiência de nutrientes no solo (Barker et al., 1994). Esta situação foi devida ao tamanho diminuto dos nemátodos a falta de conhecimento sobre a patogenicidade e a sua ocorrência. O primeiro nemátodo fitófago foi descoberto por Needham (1743) em sementes de trigo. O mesmo nemátodo é actualmente conhecido por *Anguina tritici*.

Algumas espécies de nemátodos são benéficos para a agricultura e o ambiente pois desempenham um papel importante no controlo biológico de insectos e outras pragas. E ainda outras espécies contribuem na fertilidade do solo participando na reciclagem de nutrientes (Barker et. al., 1994).

Na maioria dos países africanos, incluindo Moçambique, as doenças e pragas têm sido responsáveis pela redução da produção das culturas alimentares. Dentro das pragas, os nemátodos têm causado vários prejuízos nas culturas.

Estima-se que a média anual das perdas causadas por nemátodos fitoparasitas atinge 12,3% da produção mundial das culturas (Sasser, 1989). O mesmo autor reporta que em 20 culturas hospedeiras e que servem de alimento básico para o homem, verificou-se uma perda anual de 10.7%.

A nível mundial existem 10 géneros de nemátodos fitoparasitas economicamente importantes: Meloidogyne, Pratylenchus, Heterodera, Ditylenchus, Globodera, Tylenchulus, Xiphinema, Radopholus, Rotylenchulus e Helicotylenchus (Sasser e Freckman, 1987). A maioria destes géneros são comuns em África (Sharma e McDonald, 1990). A tabela 1 mostra alguns dados de produção onde pode se ver os danos causados por nemátodos.

Dos géneros acima mencionados, no nosso país consideram-se géneros de maior importância: Meloidogyne, Pratylenchus, Radopholus, Tylenchulus e Helicotylenchus, dos quais o Meloidogyne ocupa o primeiro lugar (v.d. Oever e Mangana, 1991).

Perante os prejuízos que o género Meloidogyne causa nas culturas e porque nenhum estudo idêntico foi realizado no país, julga-se necessário estudar a eficácia de algumas espécies de Crotalaria na redução da população desta praga.

Este estudo visa encontrar métodos culturais para controle da população de espécies de Meloidogyne, sistema que pode ser praticado pelo sector familiar ou por outros agricultores com poucos recursos para a utilização de produtos químicos.

Tabela 1. Estimativa das perdas anuais causadas por nemátodos em algumas culturas alimentares.

Cultura	Estimativa de produção (em mil ton.)	Preço estimado por ton.(US\$)	Estimativa das perdas de prod. em %	Estimativa das perdas monetárias (US\$)
Banana	2,097	431	19.7	179,049,979
Mandioca	129,020	90	8.4	975,391,200
Citrosos	56,100	505	14.2	4,022,931,000
Algodão	17,794	2,160	10.7	4,112,549,280
Feijão	19,508	544	10.9	1,156,746,300
Amendoim	20,611	416	12.0	1,028,901,120
Batata- reno	312,209	152	12.2	5,789,403,696
Arroz	469,959	342	10.0	16,072,597,800
Mapira	71,698	119	6.9	588,712,270
Cana-de- açúcar	935,769	115	15.3	16,464,854,000
Batata doce	117,337	219	10.2	2,621,073,906
Tabaco	6,205	2,996	14.7	2,732,756,460
Trigo	521,682	159	7.0	5,806,320,660

Fonte: Dados colhidos pela FAO, 1984. In Sasser, 1989.

1.2 Importância de nemátodos da galha (Meloidogyne spp.)

Este género é um dos que possui o maior número de hospedeiros, sendo difícil encontrar culturas de rotação para a sua redução. As perdas em culturas específicas são atribuídas a espécies de Meloidogyne em vários países de África. Por exemplo na Nigéria, este género causa perdas de 20 a 30% no feijão, 10 a 89% na cultura de tomate (Ogunfowora, 1976) e no Benin 55% no tomate (Zannou e Dorego, 1980).

A maioria das espécies de Meloidogyne constituem factor limitante da produção especialmente em regiões quentes do Mundo (Kleynhans, 1991).

Segundo Bridge (1972), este género causou perdas em cerca de 40% em áreas irrigadas do norte de Nigéria. Hemeng & Hemeng, (1976) referem que no Gana o mesmo género foi responsável pela redução da produção de batata em cerca de 33% .

O género é constituído por cerca de 54 espécies sendo 4 as mais comuns : Meloidogyne incognita, M. javanica M. arenaria e M. hapla. Das 4 espécies apenas as 3 primeiras foram encontradas no país (v.d. Oever & Mangana, 1991).__ Espécies deste género têm causado danos principalmente nas cucurbitáceas, solanáceas e leguminosas, algumas fruteiras e outras culturas de importância económica (v.d Oever & Mangana, 1991).

1.3 Distribuição das espécies de Meloidogyne no Mundo

A origem do género Meloidogyne não é conhecida. A sua larga distribuição em muitas culturas, torna difícil a distinção entre espécies originárias duma mesma região (Taylor e Sasser, 1978).

Em climas frios onde as temperaturas são muito baixas, a espécie mais frequente é a M. hapla. Pensa-se que esta espécie existe há bastante tempo no Norte dos Estados Unidos, no Sul do Canadá e Norte da Europa e Ásia. Em África, pode-se encontrar em altitudes acima de 1500 metros.

Nas zonas tropicais as espécies mais comuns são a M. incognita e a M. javanica . A M. arenaria também é encontrada nas mesmas regiões que a M. incognita. Portanto a parte do mundo

entre 35°S e 35°N de latitude está largamente infestada por M. javanica, M. incognita e M. arenaria.

Segundo Sasser(1977) estas espécies são as que comumente causam maiores danos nas culturas do que as espécies encontradas em regiões frias.

1.4 Taxonomia das espécies de Meloidogyne

Infelizmente a taxonomia do género Meloidogyne tem sido difícil devido a dificuldades inerentes a identificação das espécies. Por falta duma melhor classificação e por conveniência todas as espécies até agora são consideradas pertencentes a este género o que mais tarde pode vir a ser alterado.

Actualmente a identificação de espécies de Meloidogyne baseia-se na boa descrição da morfologia, conhecimento das hospedeiras e numa investigação citológica adicional.

Estudos citológicos revelam que muitos membros de Meloidogyne reproduzem-se por fertilização cruzada (amfimixia), por ambos amfimixia e partenogênese meiótica (automixia) ou por partenogênese mitótica obrigatória (apomixia).

Espécies que se reproduzem por amfimixia têm 18 cromossomas, espécies com partenogênese meiótica tem 18 cromossomas ou menos (13-17), mas algumas são diploides com 30-36 cromossomas. Algumas espécies apomíticas são diploides, outras são triploides com 50-56 cromossomas ou hipotriploides com nº de cromossomas intermédio, cerca de 45 cromossomas (Triantaphyllou,1985a). A partenogênese na M. incognita, M. javanica e M. arenaria e às vezes na M. hapla é do tipo mitótico, sem meiose durante a oogénese. O número somático dos cromossomas (2n) é mantido durante a maturação dos oócitos (Taylor e Sasser,1978).

1.5 Identificação das espécies de Meloidogyne

Os nemátodos da galha normalmente induzem galhas nas raízes da planta hospedeira. Embora as galhas são facilmente reconhecidas elas podem ser confundidas com nódulos formados por bactérias de Rhizobium nas leguminosas.

Hussey (1985) citado por Kleynhans (1991), afirma que as galhas não constituem um diagnóstico seguro na identificação do Meloidogyne, pois dependem da espécie e da planta

hospedeira envolvidas. As galhas podem estarem mascaradas ou ausentes. Portanto a extracção e identificação das espécies são essenciais.

Na identificação de espécies de Meloidogyne tem sido usado vários métodos, entre os quais destacam-se:

a) Uso de modelos perianais

Neste método utilizam-se raízes frescas com galhas e as fêmeas são extraídas por dessecção microscópica. As fêmeas possuem um comprimento de 0,8 a 2mm dependendo da espécie (Lordello, 1984). A técnica encontra-se descrita no anexo 5

b) Teste diferencial das plantas hospedeiras (Differential Host Test).

Sasser (1954) propôs este método para identificar as 4 espécies de Meloidogyne mais comuns com base na resposta de diferentes hospedeiros e no tipo de galhas induzidas.

Este teste em combinação com a morfologia dos modelos perianais, dá uma indicação preliminar das 4 espécies, baseando-se na resposta do hospedeiro. Algumas espécies de Meloidogyne possuem raças ou biotipos.

Actualmente são utilizadas 6 culturas hospedeiras para a identificação das 4 espécies mais comuns, nomeadamente: Amendoim (Var. Florunner), Melância (Var. Charleston Grey), Tomate (Var. Roma VF, UC-82B, Rodade ou Rutgers), Pimento (California Wonder), Algodão (Var. Deltapine 61) e Tabaco (Var. NC 95), (Kleynhans, 1991). A tabela 2 mostra as plantas hospedeiras e as espécies e raças que nelas se multiplicam.

Tabela 2. Identificação de espécies de *Meloidogyne*, pelo teste diferencial de plantas hospedeiras.

Espécies e raças	Tabaco	Algodão	Pimento	Melância	Amendoim	Tomate
<i>M. incognita</i>						
raça 1	-	-	+	+	-	+
raça 2	+	-	+	+	-	+
raça 3	-	+	+	+	-	+
raça 4	+	+	+	+	-	+
<i>M. arenaria</i>						
raça 1	+	-	+	+	+	+
raça 2	+	-	-	+	-	+
<i>M. javanica</i>	+	-	-	+	-	+
<i>M. hapla</i>	+	-	+	-	+	+

+ = susceptível

- = resistente

Fonte: In Taylor e Sasser, 1978.

c) Electroforese

Neste método usam-se fêmeas de Meloidogyne adultas e para a comparação das várias espécies faz-se análise de proteínas e enzimas solúveis (Barker, et. al., 1985).

Damalssso e Berge (1978) usando o mesmo método adoptaram um processo de extracção e separação por análise enzimática de extractos obtidos de fêmeas de Meloidogyne.

Em estudos realizados recentemente na Africa do Sul, foram testadas duas enzimas: a esterase e a malato dehidrogenase para a identificação de 4 espécies de Meloidogyne que ocorrem naquela região (Groenewald, 1995).

Este método é seguro na identificação de espécies de Meloidogyne, mas até agora é pouco aplicável por exigir material sofisticado.

1.6 Ecologia de espécies de Meloidogyne

A actividade dos nemátodos no solo é influenciada pela estrutura, arejamento e temperatura do solo.

A temperatura e a humidade são os 2 principais factores ecológicos, que condicionam o desenvolvimento deste nemátodo (Taylor & Sasser, 1978). Das 4 espécies mais comuns, a M. javanica, M. incognita e M. arenaria desenvolvem-se melhor em climas tropicais e subtropicais, sendo a temperatura óptima para a reprodução de 25-30°C. A temperatura óptima para a sobrevivência dos ovos e larvas é de 10-15°C (Gundy, 1985). A Meloidogyne hapla tem uma temperatura óptima de 20 a 25°C para a reprodução e desenvolvimento (Taylor e Sasser, 1978).

Segundo o mesmo autor, espécies de Meloidogyne ocorrem mais em solos arenosos com um teor de humidade de 40 a 60%. Poucas vezes são encontradas em solos com % de argila acima de 40% (Taylor et al., 1982).

Os nemátodos da galha são parasitas obrigatórios de raízes e outras partes de plantas. As larvas e fêmeas são os únicos estádios que se alimentam. Os machos e as larvas pré-parasitas são vermiformes e encontram-se livres no solo, enquanto que as fêmeas ficam completamente ou parcialmente embutidas na raiz.

Os ovos são postos numa substância gelatinosa de natureza glicoproteica (Franklin, 1978)

produzida pelas glândulas rectais e secretada pelo ânus.

As massas de ovos são normalmente depositados na superfície da raiz.

Dentro do ovo, o desenvolvimento embrionário continua até ao estágio larval. Este estágio sofre uma muda e passa para o 2º estágio, a larva infectiva. Este eclode do ovo em resposta a boas condições de temperatura e humidade e penetra na raiz ou no solo a procura da outra raiz apropriada. Durante a fase parasítica do ciclo cada larva fixa-se num sítio dentro da raiz onde se alimenta. Dá-se uma alteração da estrutura celular e formam-se células gigantes.

As larvas alimentam-se do conteúdo das células gigantes e depois de 3 mudas formam-se fêmeas ou machos. A deposição dos ovos começa cerca de uma semana depois da última muda (Franklin, 1978). Os machos aparentemente não se alimentam e eventualmente saem da raiz para o solo onde a copulação toma lugar no caso de espécies amfimíticas.

1.7 Danos causados por nemátodos da galha

O Meloidogyne uma vez estabelecido no tecido da planta causa danos, pela retirada de nutrientes do tecido e pelo distúrbio no funcionamento da raiz, resultando numa deficiente absorção da água e nutrientes do solo e consequentemente reduz-se a assimilação pelas folhas (Barker, 1994).

As aberturas feitas pelo nemátodo ao penetrar no tecido da raiz vão dar acesso a outros organismos patogénicos como fungos e bactérias (Taylor e Sasser, 1978).

Segundo Webster (1972) o ataque por Meloidogyne muda a composição mineral e fisiológica da raiz, reduz o seu desenvolvimento e elimina a resistência a outros parasitas.

1.8 Sintomas de ataque de espécies de Meloidogyne

A planta infestada responde ao ataque com um sintoma não específico que indica um mau funcionamento do sistema radicular, como clorose nas folhas devido a baixa taxa de fotossíntese (Loveys e Bird, 1973) e a murcha no período mais quente do dia.

No campo verifica-se um crescimento irregular das culturas hospedeiras, indicando zonas com infestação elevada (Lordello, 1984).

De acordo com Taylor e Sasser (1978), o sistema radicular apresenta galhas cujo tamanho varia segundo o tipo de hospedeiro e a espécie do nemátodo (ver a figura 2).



Figura 2. Planta com sintomas de Meloidogyne spp.

1.9 Métodos de controlo de Meloidogyne spp.

Para a redução da população desta praga nas culturas têm se usado vários métodos, tais como: métodos culturais, variedades resistentes, controlo biológico em alguns países, produtos químicos e outros métodos de controle.

1.9.1 Rotação de culturas

Esta prática consiste em alternar culturas hospedeiras com as resistentes a Meloidogyne. Porém, a implementação da rotação de culturas requer uma identificação prévia das espécies de nemátodos presentes, pois caso contrário a rotação pode aumentar drasticamente a população de nemátodos nessa área (Hartman e Sasser, 1985). Antes de se escolher o tipo de plantas a incluir no sistema de rotação é necessário conhecer as espécies de Meloidogyne presentes.

Embora o nemátodo de galha apresente grande número de hospedeiros, para o seu

controlo têm-se usado algumas espécies de plantas como Eragrostis, Crotalaria, Tagetes e outras que têm demonstrado uma redução destes nemátodos no solo. Contudo, parte das plantas utilizadas não possui nenhum valor comercial.

1.9.2 Uso de variedades resistentes

O cultivo de variedades resistentes para nemátodos, permite manter a densidade da população abaixo de níveis que causam danos (Cook e Evans, 1987).

Variedades resistentes a espécies de Meloidogyne podem reduzir a reprodução do nemátodo em quase 90% ou mais quando comparado com variedades susceptíveis (Taylor e Sasser, 1978).

É importante conhecer a espécie de Meloidogyne presente e saber a que espécie a variedade é resistente. De acordo com Sasser (1960) a resistência a nemátodos em certos casos é controlado por um gene ou mais na interação planta-nemátodo.

Como pouco trabalho foi feito para diferenciar as plantas hospedeiras das 4 raças de M. incognita pode ocorrer que nem todas as plantas mencionadas como resistentes a M. incognita são por exemplo resistentes a M. incognita raça 2 (Saka & Carter, 1987).

1.9.3 Controlo biológico

A população de nemátodos pode ser controlada utilizando certos géneros de fungos e insectos que atacam certos estádios do nemátodo, interrompendo deste modo o ciclo.

Os fungos podem actuar como armadilha, capturando os nemátodos da galha pelas hifas. Segundo Sayre (1971) e Webster (1972) os fungos do género Arthrobotrys produzem toxinas que matam os nemátodos. Alguns membros dos géneros Paecilomyces e Verticillum parasitam ovos e fêmeas de Meloidogyne (Sasser, 1989). Segundo o mesmo autor, certas espécies de bactérias são também utilizadas neste tipo de controlo como a Pasteuria penetrans podendo reduzir a população de Meloidogyne no solo.

Alguns insectos como colembolas e ácaros são utilizados em programas de controlo biológico.

1.9.4 Produtos químicos

Os nematicidas são relativamente caros e a sua aplicação requer um equipamento especializado, não sendo prático para a maioria dos camponeses e alguns agricultores. Nos últimos anos alguns dos nematicidas utilizados foram banidos devido ao efeito negativo ao meio ambiente ou ao próprio homem.

Segundo a sua acção os nematicidas podem ser divididos em fumigantes, não-fumigantes e sistêmicos (Lordello, 1984).

Os fumigantes na maioria são líquidos e são injectados no solo algumas semanas até um mês antes da sementeira ou plantação e difundem-se em forma de gás. Os não-fumigantes e sistêmicos estão em forma de pó ou granulado. Estes podem ser aplicados 2 a 3 semanas antes da sementeira ou transplantação para se evitar efeitos fitotóxicos, mas também podem ser aplicados na fase de sementeira ou transplantação dependendo do tipo do produto.

Existem vários nematicidas actualmente utilizados dentre os quais destacam-se: o carbofurão (Curaterr, Furadan), isazofos (Miral), fenamifos (Nemacur), aldicarb (Temik), oxamyl (Vydate) e dazomet (Basamid). Destes, os 5 primeiros além da acção nematicida também actuam como insecticida e o dazomet (fumigante) tem ainda acção fungicida e herbicida.

Em Moçambique dos nematicidas acima mencionados apenas encontram-se registados o carbofurão (Curaterr) e o isazofos (Miral) (Muiambo e Kjaer, 1994)

1.9.5 Pousio

O pousio é uma prática que consiste em deixar uma certa área sem culturas durante um período de tempo.

Segundo Ogbuji (1983), na Nigéria a maior parte dos danos causados por Meloidogyne ocorrem em sistemas agrícolas intensivos em relação ao sistema de cultivo tradicional. Todos os nemátodos fitoparasitas podem constituir pragas de culturas quando em sistemas de cultivo contínuo.

De acordo com Brown e Kerry (1987) a população de nemátodos pode aumentar

rapidamente em culturas susceptíveis e com intervalos muito curtos entre as culturas.

Existem dois tipos de pousio:

- a) Deixar a área sem culturas e sem lavar.
- b) Lavar regularmente a área e não permitir que as ervas se desenvolvam.

O primeiro tipo não tem dado efeito no controlo de espécies de Meloidogyne, porque certas ervas são hospedeiras destas espécies.

O segundo tipo é o mais recomendado pois deixa os nemátodos expostos a acção de luz solar e desta forma reduz-se a população no solo. Porém esta prática apresenta desvantagens pelo facto de favorecer a erosão e prejudicar a estrutura do solo (v.d Oever & Mangana, 1991).

2.0 Breves considerações sobre o género Crotalaria.

A Crotalaria é uma planta leguminosa utilizada como adubo verde ou cultura de cobertura em campos agrícolas e algumas espécies são cultivadas como forragem para o gado.

A Crotalaria é originária da Índia onde é cultivada desde os tempos remotos (Purseglove, 1968). Pohill (1982) refere que este género é considerado endémico no Este da Africa e é cultivado em algumas áreas da Tanzânia e Madagascar.

Na Índia, esta planta é ainda utilizada para a produção de fibras. Em alguns países como Paquistão e Brazil por ano obtêm-se cerca 130,000 toneladas de fibra de Crotalaria juncea (Anon, 19..).

A Crotalaria também como leguminosa fornece nitrogénio ao solo. Em vários países ela é utilizada em sistemas de produção sustentáveis e de baixo custo para agricultores com poucos recursos, onde os insumos como adubos artificiais são muito caros e o seu abastecimento muito inadequado.

Estudos realizados por Geurts et.al (1993) revelam um aumento de produção de feijão em cerca de 42% quando a Crotalaria é incorporada no solo como matéria orgânica.

Alguns autores afirmam que esta planta pode ser cultivada em solos infestados pelo nemátodo da galha para reduzir a população no solo (Barker, 1978). Pensa-se que a Crotalaria quando presente actua como cultura armadilha (Sasser, 1989). Isto significa que as larvas

penetram nas raízes mas não se desenvolvem até a fase adulta.

Segundo Lordello (1984) a Crotalaria é uma cultura que atrai as larvas de Meloidogyne para o seu sistema radicular sem contudo aí se desenvolverem.

McBeth e Taylor (1944) relatam que a rotação de Crotalaria spectabilis com cucurbitáceas permite um controle excelente do nemátodo da galha.

Em Zimbabwe observou-se (Anon, 1956) que a C. spectabilis mostra maior resistência a M. javanica quando em áreas altamente infestadas. Segundo o mesmo autor (1964), a M. javanica ocorre na C. ochroleuca e multiplica-se nesta espécie.

Estudos feitos por Daulton (1955) no Zimbabwe mostraram que a Crotalaria juncea pode suportar uma infestação moderada de nemátodos enquanto que a C. intermedia mostra maior resistência. A C. spectabilis foi altamente resistente (Keetch & Milne, 1982).

3.0 Objectivo do trabalho

Conhecer a eficácia de algumas espécies de Crotalaria (leguminosa) na redução da população de nemátodos da galha (Meloidogyne spp.)

3.1 Actividades específicas

3.1.1 Determinar o efeito de diferentes espécies de Crotalaria na redução de nemátodos da galha e seleccionar espécies mais eficazes para serem testadas no campo.

3.1.2 Avaliar a infestação dos nemátodos da galha numa área anteriormente ocupada por Crotalaria, plantando o tomate, que é uma cultura susceptível a este tipo de nemátodos.

4.0 MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram utilizadas 8 espécies de Crotalaria provenientes de Lichinga, Inhaca, Umbelúzi e uma parte do Zimbabwe e África do Sul.

Numa primeira fase o Sector de Nematologia fez a multiplicação da semente de Crotalaria no campo e foi feita a identificação das espécies recolhidas no país, no Sector de Herbologia do Departamento de Sanidade Vegetal, em colaboração com o Departamento de Botânica do INIA e da Faculdade de Biologia.

As espécies usadas foram: C. juncea, C. spectabilis, C. ochroleuca, C. capensis, C. pallida, C. intermedia, C. lanceolata e C. spartea e tomate como controle (Var. UC-82 B).

4.1 Ensaio e a sua condução

A parte experimental consistiu de 3 partes

4.1.1 Ensaio A de Estufa

Este ensaio foi efectuado nas estufas da Repartição de Quarentena Vegetal com início em Janeiro de 1993 a Novembro do mesmo ano. Neste local foram levados a cabo 3 ensaios utilizando inóculos de diferentes culturas (feijão nhemba, tomate e feijão vulgar) e origens: Maputo, Tete e Lichinga respectivamente.

Este ensaio teve como objectivo, seleccionar espécies de Crotalaria resistentes a diferentes espécies de Meloidogyne.

4.1.1.1 Metodologia

A semente foi tratada com NaOCl a 1% para a remoção de organismos patogénicos (anexo 1) e fez-se o teste de papel de filtro (Blotter test) (anexo 2). A semente em placas foi incubada em câmara húmida a temperatura de 25°C, para se estimular a germinação e seleccionar sementes viáveis.

Dois dias depois, transferiu-se a semente germinada para bandejas de barro (36cm x 25cm)

contendo solo esterilizado (Anexo 3). O solo utilizado foi areno-argiloso com 43,6% de areia e 8,8% de argila. Estes dados foram fornecidos pelo laboratório de solos do INIA.

Fez-se o transplante das plântulas em vasos de barro (diâmetro de 22cm e altura de 21cm), um mês depois. Cada vaso continha 8 plântulas e 4 foram posteriormente desbastadas, deixando as mais vigorosas. Todos os vasos receberam a mesma quantidade de água (400ml/vaso) e em dias alternados (3-4 vezes por semana).

Uma semana após a transplantação fez-se a adubação das plantas com uma solução de nutrientes contendo: Nitrato de potássio (1,4g/l), Sulfato de amónio (0.46g/l), Dihidrogeno fosfato de cálcio (0.70g/l) e Sulfato de magnésio hidratada (0.70g/l) e foram aplicados 400ml por vaso.

Uma semana após a adubação foi feita a inoculação do solo nos vasos com quatro plantas, com uma suspensão contendo cerca de 5000 nemátodos (ovos e algumas larvas) obtidos pelo método de Hussey & Barker (1973) (anexo 4).

A identificação de espécies de *Meloidogyne* foi feita usando o método de modelos perianais (anexo 5) e confirmada por Dr Kent Kleynhans do Instituto de Protecção de Plantas em Pretória, África do Sul.

Esta experiência foi conduzida a uma temperatura média de 25°C e a humidade relativa média de 67%.

Oito semanas após a inoculação fez-se a avaliação da infestação nas raízes onde se avaliou o índice de galha, usando a escala de 0-10 (anexo 6). Fez-se a pesagem das raízes de cada vaso, seguida da extracção usando o método de extracção de Hussey & Barker, (1973) (anexo 4). Das suspensões obtidas fez-se a contagem dos ovos e larvas em 2 subamostras de 10ml e depois calculado o número por 100ml e por vaso.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com 9 tratamentos e 4 repetições (Esquema 1) e a figura seguinte:



FIGURA 2. Um bloco do ensaio de estufa mostrando todos os tratamentos

O tratamento dos dados foi feito com base no programa MSTATC- ANOVA-2, cuja discussão encontra-se incluída no presente trabalho.

Repetições	TRATAMENTOS								
	I	8	2	1	3	6	9	4	5
II	7	5	4	2	1	8	3	9	6
III	3	6	9	4	2	7	1	8	5
IV	1	7	8	5	6	4	9	2	3

Esquema 1. Desenho experimental do ensaio de estufa

Código dos tratamentos

1. Tomate (Var. UC-82 B)

2. *C. juncea*

5. *C. lanceolata*

6. *C. intermedia*

3. C. capensis

4. C. spectabilis

7. C. pallida

8. C. spartea

9. C. ochroleuca

Os tratamentos acima mencionados foram utilizados no ensaio 1 e o inóculo usado foi a M. incognita extraído do feijão nhemba de Maputo (Faculdade de Agronomia)

Nos ensaios 2 e 3 foi eliminada uma das espécies, a C. spartea devido a baixa germinação e ao tamanho diminuto da semente. O inóculo utilizado no ensaio 2 foi a M. javanica extraído de tomate proveniente de Tete e no ensaio 3 a M. incognita e a M. javanica extraído de feijão vulgar de Lichinga respectivamente.

Nos ensaios 2 e 3 aumentou-se a quantidade de semente por placa no blotter test, por a maioria das espécies terem apresentado uma baixa percentagem de germinação no ensaio 1. Ainda no ensaio 2 a C. lanceolata foi substituída por C14 (espécie ainda não identificada), por falta de semente. No ensaio 3 usou-se de novo a C. lanceolata, proveniente da semente multiplicada.

Neste mesmo teste, a C. juncea, C. spectabilis e a C. ochroleuca foram semeadas cinco dias depois das outras espécies, por possuírem um período de germinação muito curto (3 dias).

4.1.2 Ensaio B de estufa: Teste de penetração

Este ensaio obedeceu todos os procedimentos realizados no ensaio A até a fase de inoculação

As plantas foram inoculadas com duas densidades de nemátodos, 5000 e 10000 e fez-se a avaliação em três períodos diferentes, 10, 15 e 20 dias após a inoculação.

Para a avaliação das raízes utilizou-se um método de coloração das raízes usando o ácido fucsínico (anexo 7). Este método permite observar os nemátodos no interior da raiz sem dessecá-la. O teste foi feito em 4 espécies de Crotalaria, nomeadamente: C. juncea, C. spectabilis, C. capensis e C. ochroleuca. As 4 espécies utilizadas são as que se estabeleceram facilmente, no ensaio de estufa.

4.1.3 Ensaio do campo

O ensaio foi conduzido no campo da Faculdade de Agronomia, numa área altamente infestada por espécies de Meloidogyne, no período de Março a Setembro de 1994. O solo foi bastante arenoso, com cerca de 83% de areia e 11% de argila (dados fornecidos pelo laboratório de solos da Faculdade de Agronomia)

As espécies de Meloidogyne presentes foram: a M. javanica e a M. incognita, extraídas das plantas de feijão nhemba (cultura precedente).

4.1.3.1 Metodologia

Este ensaio consistiu de 2 parte

1) Plantação de espécies de Crotalaria (ensaio montado em 10/3/1994).

Neste ensaio foram utilizadas 3 espécies de Crotalaria seleccionadas do ensaio de estufa



FIGURA 3. Crotalaria juncea em campo no período da multiplicação da semente



FIGURA 4. *Crotalaria spectabilis* em campo, na fase de multiplicação da semente



FIGURA 5. *Crotalaria capensis* na fase de multiplicação da semente

A selecção destas espécies baseiou-se principalmente na disponibilidade e capacidade de germinação da semente pois não houve diferenças significativas no que diz respeito a multiplicação do nemátodo da galha nas espécies utilizadas no ensaio de estufa.

Não foi feita a sementeira directa em campo devido às diferenças no periodo de germinação entre as diferentes espécies de *Crotalaria*, a pouca disponibilidade da semente e para prevenir uma densidade irregular entre as espécies dentro dos talhões.

A semente foi colocada em papel de filtro e incubada em câmara húmida. Dois dias depois foi transferida para bandejas de barro contendo solo esterilizado. Um mês mais tarde fez-se o transplante no campo (Esquema 2).

Repetições	TRATAMENTOS			
I	4	1	3	2
II	2	1	4	3
III	3	4	2	1
IV	4	2	1	3
V	1	2	4	3
VI	3	2	1	4

Esquema 2. Desenho experimental do ensaio do campo

Código dos tratamentos: 1. Controlo (pousio) 3. *C. capensis*
 2. *C. juncea* 4. *C. spectabilis*

A área utilizada para o ensaio foi de 374m², com seis talhões de 8m² de superfície e cada um contendo 4 linhas de 4m de comprimento e 2m de largura, sendo as duas linhas do meio a área útil. A distância entre blocos foi de 2m. O compasso entre linhas foi de 0.5m e entre covachos de 0.3m. Em cada covacho foi colocada uma planta.

Após o transplante fez-se a adubação do ensaio com um composto orgânico (estrume de

boi) para fortalecer as plantas, sendo a quantidade aplicada de 320g/linha ou seja 1,280Kg/talhão e isto equivale a 1600 Kg/ha.

Neste ensaio foi utilizada a rega por aspersão em dias alternados.

Três meses depois da plantação das espécies de Crotalaria, as plantas foram removidas em cada talhão. As raízes foram separadas das plantas e fez-se a avaliação do índice de galhas das raízes das plantas da área útil (anexo 6), assim como a extração de nemátodos em 5g de raízes(anexo 4). Depois da contagem dos ovos e larvas, fez-se o cálculo do número dos mesmos naquela quantidade de raízes.

Esta experiência foi conduzida a uma temperatura média de cerca de 20°C e a humidade relativa média de 65%.(anexo 8).

2) Plantação de tomate (Var. UC-82 B) (ensaio montado em 29/6/1994).

Quarenta e cinco dias antes da avaliação do ensaio de Crotalaria fez-se a preparação dos viveiros de tomate, numa área de 2m². Esta área foi tratada com um nematicida, Miral (isazofos, 10% GR) e foram aplicadas 4g/m², 7 dias antes da sementeira, para se garantir que as plântulas de tomate estivessem isentas de qualquer nemátodo patogénico.

Após a remoção de espécies de Crotalaria fez-se a plantação de tomate (cultura susceptível), em todos os talhões incluindo a área de controlo (área sem culturas).

Quinze dias depois da plantação fez-se a adubação do ensaio com estrume de boi (1,280Kg/ talhão). Neste ensaio também foi aplicada a rega por aspersão em dias alternados.

Três meses depois da plantação todas as plantas da área útil foram recolhidas e avaliou-se o índice de galhas nas raízes (anexo 6). De cada amostra de raízes foram extraídas 2 subamostras de 5g (quantidade máxima para o método de clorox) (anexo 4). Das suspensões obtidas foram contadas 2 subamostras de 1 ou 5ml dependendo da concentração dos nemátodos (ovos e larvas). E para o resultado foi considerado a média das duas subamostras.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados (Gomez & Gomez, 1984), com 4 tratamentos e 6 repetições.

Para o tratamento dos resultados, fez-se a análise de variância usando o MSTATC ANOVA-2 onde foram considerados 3 fontes de variação: o tratamento, a repetição (bloco) e o erro experimental

4.2 Atenções culturais prestadas

Retanchar e desbastar

Uma semana após a plantação (18/3/1994), fez-se retanchar em covachos onde as plantas não tinham se restabelecidas. Foram colocadas duas plantas por covacho e uma posteriormente desbastada, deixando a mais vigorosa. O desbaste foi efectuado um mês após a plantação.

Sacha

Fizeram-se 3 sachas ao longo do ensaio para evitar a concorrência das ervas daninhas. Para assegurar o desenvolvimento vegetativo sadio das plantas é importante o controle das infestantes logo que estas iniciam a competição com a cultura principal. Assim, um mês depois de plantação foi feita a 1ª sacha e ao mesmo tempo efectuou-se a amontoa. A erva principal foi a tiririca, difícil de controlar.

Pulverizações efectuadas

As plantas tiveram um tratamento preventivo contra o míldio, um fungo que normalmente aparece no início da época fresca, período em que foi montado o ensaio. O produto utilizado foi o Ridomil (mancozeb 48%+ metalaxil 10%) 3g/l.

Pragas observadas durante a condução do ensaio

Durante a condução do ensaio foram observadas algumas pragas nas 3 espécies de Crotalaria testadas: ácaros, afideos e Hilda e esta última em associação com as formigas. As plantas foram pulverizadas com omite(2g/l), dimetoato(2ml/l) e polytrin (0.5ml/l) respectivamente.

Apenas os ácaros e afideos foram controlados com os pesticidas mencionados. A Hilda não foi possível controlar, pois o produto utilizado não foi o mais adequado. Para um controle eficiente desta praga recomenda-se o uso de diazinão (Basudine), mas este produto não estava disponível.

Entre as espécies de Crotalaria, a C. juncea é que foi mais atacada por Hilda em relação com as restantes espécies.

4.3 Apresentação dos dados

Os resultados destas experiências serão apresentados por ensaios onde vaise efectuar a análise de variância em todos os ensaios e a comparação das médias usando o teste de Duncan, nos ensaios 2 e 3 de estufa.

Os dados colhidos nos ensaios 2 e 3 de estufa, por não apresentarem uniformidade de variância entre os diferentes blocos foram sujeitos ao agrupamento dos tratamentos que mostraram homogeneidade de variância. O teste usado foi o chi-quadrado (anexo..). Assim, o ensaio 2 ficou composto por 5 grupos e o terceiro ensaio por 4 grupos.

5.0 RESULTADOS

5.1 Considerações Gerais sobre as experiências realizadas

A semente da maioria das espécies de *Crotalaria* testadas foi de difícil estabelecimento, razão pela qual optou-se por aumentar o número de semente por placa no blotter test. Tanto na estufa como no campo as plantas inicialmente apresentaram um desenvolvimento lento mas, posteriormente elas desenvolveram-se relativamente bem.

5.1.1 Ensaio A de estufa

No ensaio 1 de estufa foram utilizadas 8 espécies de *Crotalaria*. Uma das espécies foi eliminada devido a má qualidade e ao próprio tamanho da semente (*C. spartea*). As espécies *C. lanceolata*, *C. intermedia* e a *C. pallida* também apresentaram uma percentagem de germinação relativamente baixa e foram contaminadas por fungos. Por esta razão no ensaio 1 foi considerado apenas o resultado de 4 espécies

Para o género *Crotalaria* existe muita pouca informação sobre as suas exigências, por isso houve muitas dificuldades em regular a quantidade de água por vaso e a frequência das regas, o que no início levou ao mau crescimento das plantas.

A regulação foi conseguida com o apoio do Sector de Fertilidade de Solos do INIA, o qual recomendou a rega em dias alternados.

5.1.2 Ensaio B de estufa

Neste ensaio inicialmente foram testados dois tipos de corantes, o azul de algodão e ácido fucsínico. Com o primeiro corante não foi possível observar os nemátodos no interior da raiz, em nenhuma das espécies testadas. Mesmo com o ácido fucsínico por vezes foi necessário abrir a raiz para observar os nemátodos no seu interior.

5.1.3 Ensaio de estufa

Ensaio 1

Inóculo usado: M. incognita

No ensaio 1, encontrou-se um número reduzido de espécies de Crotalaria com dados completos. Por esta razão não foi feita a análise de variância. Apenas a tabela 3 apresenta o número de nemátodos por vaso e as respectivas médias.

Nas quatro espécies avaliadas encontraram-se muito poucos ovos e larvas nas raízes (tabela 4) em comparação com o tomate, como foi o caso nos ensaios 2 e 3.

Foi calculado o factor de reprodução, que se obtém pela fórmula $R = Pf/Pi$, em que Pi é o inóculo inicial e Pf o número de nemátodos obtidos.

Tabela 3. Nº de nemátodos (ovos e larvas) obtidos por 5g de raízes, no ensaio 1 de estufa, depois de inoculadas com 5000 ovos.

Tratamento	RI	RII	RIII	RIV	Médias
<u>C. juncea</u>	70	75	110	100	89
<u>C. capensis</u>	30	140	10	10	48
<u>C. spectabilis</u>	70	10	10	0	23
<u>C. ochroleuca</u>	12	172	40	41	66
tomate	8220	6220	9393	3385	6804,5

Ensaio 2

Inoculo usado: M. javanica extraído de tomate (Tete)

Espécies de Crotalaria utilizadas: C. juncea, C. capensis, C. spectabilis, C. pallida, C. intermedia, C. ochroleuca, C14 e tomate (Var. UC-82B).

Na tabela 5 estão representados os números dos nemátodos da galha encontrados nas raízes das diferentes espécies e as respectivas médias por espécie. Os mesmos dados encontram-se representados graficamente na figura 7.

Foram formados 5 grupos de tratamentos com base na homogeneidade de variância, utilizando o teste chi-quadrado, sendo:

Grupo 1. Tratamentos : A e D (C. juncea e C. pallida)

Grupo 2. Tratamentos: F e G (C14 e C. ochroleuca)

Grupo 3. Tratamentos: C e E (C. spectabilis e C. intermedia)

Grupo 4. Tratamento: B (C. capensis)

Grupo 5. tratamento: H (tomate)

Com os valores constantes na tabela 4 foi feita a análise de variância (anexo..) usando ANOVA-2, onde foram considerados 3 fontes de variação: O tratamento, o bloco (repetição) e o erro experimental (Tabela 5)

Nenhuma das espécies de Crotalaria apresentou galhas nas raízes, embora o tomate (testemunha) apresente alta infestação o que indica que o inóculo foi eficiente.

O número de ovos e larvas encontrados nas raízes das espécies de Crotalaria foi reduzido quando comparado com o número encontrado no tomate e o inóculo adicionado (5000 nemátodos).

Em todas as espécies de Crotalaria o factor R (pf/pi) foi menor que 1, o que implica que

todas as espécies são resistentes a espécies de Meloidogyne usadas. Porém, o tomate apresenta R igual a 32, o que significa que ele é altamente susceptível.

A análise estatística dos dados obtidos mostra diferenças significativas entre os tratamentos a nível de 5% de significância.

O teste de Duncan (anexo...) mostrou diferenças significativas entre as espécies de *Crotalaria* e o tomate (tabela 6)

Inóculo: *M.javanica*

Tabela 4. Nº de nemátodos (ovos e larvas) obtidos por vaso, no ensaio 2 de estufa

Tratamentos	I	II	III	IV	Médias
juncea	2907	672	40	592	1053
capensis	10	10	10	0	8
spectabilis	70	20	10	70	43
pallida	3880	213	1720	0	1453
intermedia	80	0	20	0	25
C14	40	0	40	340	105
ochroleuca	381	429	187	770	381
tomato	97730	135641	78650	339010	162765

Número de nemátodos por vaso

Ensaio 2 de estufa

Legenda

Média de ovos por vaso

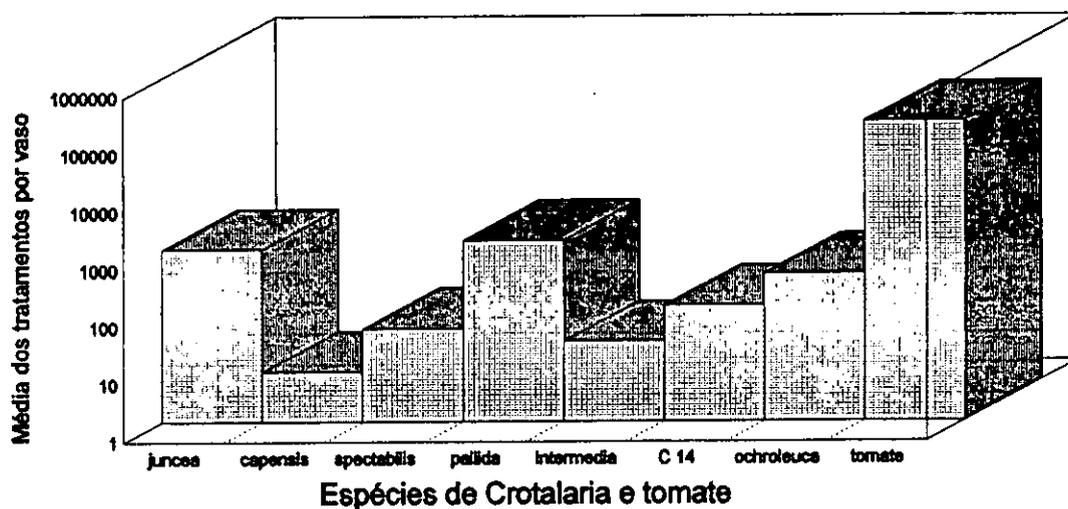


Figura 1: Média dos tratamentos calculadas com base nas 4 repetições (escala logarítmica)

Tabela 5 Análise de variância dos dados do ensaio 2 de estufa.

Fonte de variação	GL	Somatório dos quadrados	Quadrado Médio	F comp	F tab. 5% 1%
Repetição .	3	5,301x10 ⁹	1,767x10 ⁶		
Tratamento	7	9,222x10 ¹⁰	1,317x10 ¹⁰		
Co:	4	9,222x10 ¹⁰	2,305.10 ¹⁰	7.31*	4.12 7.85
C1	1	320800.5	320800.5	0.52ns	5.59 12.25
C2	1	152352	152352	1.84ns	5.59 12.25
C3	1	612.5	612.5	0.85ns	5.59 12.25
Erro	21	3,782x10 ¹⁰	1,801x10 ⁹		
Rep.X Co	12	3,782x10 ¹⁰	3,151x10 ⁹		
Rep.X C1	3	18844336.5	614778.83		
Rep.X C2	3	247802	82600.667		
Rep.X C3	3	2137.5	712.5		

GL= grau de liberdade

Co= comparação entre grupos

C1 = comparação dentro do grupo 1

C2 = comparação dentro do grupo 2

C3 = Comparação dentro do grupo 3

* = existem diferenças significativas

ns= não significativo

Tabela 6. Teste de Duncan para a comparação das médias entre os grupos, no ensaio 2 de estufa

Grupos	Médias
G5 (tomate)	162757,75 a*
G1 (pallida e juncea)	1253,00 b
G2 (ochroleuca e C14)	243,00 b
G3 (spectabilis e intermedia)	34,00 b
G4 (capensis)	8,00 b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de F.

Ensaio 3 de estufa

Inóculo: M. javanica e incognita extraído de plantas do feijão (Lichinga).

Espécies de Crotalaria utilizadas: juncea, capensis, spectabilis, intermedia, pallida, lanceolata e ochroleuca.

Como também neste ensaio os dados não apresentaram uniformidade de variância, fez-se a formação de grupos .

Foram formados 4 grupos de tratamentos com base na homogeneidade da variância, usando o teste chi-quadrado, sendo:

- 1) Tratamentos: A, C e D (C. juncea, C. spectabilis e C. intermedia)
- 2) Tratamentos: B, E e F (C. capensis, C. pallida e C. lanceolata)
- 3) Tratamento: G (C. ochroleuca)
- 4) tratamento: H (tomate)

Com os valores constantes na tabela 7, número de nemátodos (ovos e larvas) e as

respectivas médias, foi feita a análise de variância (anexo...), cujos os valores constam na tabela 8. Na figura 8 estão representadas as médias de diferentes tratamentos.

Nenhuma das espécies de Crotalaria testadas apresentou galhas nas raízes, somente o tomate foi altamente infestada.

Entre as espécies de Crotalaria, a C. ochroleuca apresentou um número elevado comparativamente com outras espécies. No tomate (testemunha) o número de nemátodos foi 100 a 500 vezes mais elevado que nas espécies de Crotalaria.

A análise estatística mostra que não há diferenças significativas entre os tratamentos. O teste de Duncan (anexo.) mostra diferenças altamente significativas entre o tomate e as espécies de Crotalaria (tabela 9).

Neste ensaio o factor de reprodução também foi inferior a 1 em todas as espécies de Crotalaria

Tabela 7. Nº de ovos e larvas de Meloidogyne obtidos por vaso, no ensaio 3 de estufa.
Inóculo: M. javanica e incognita

Tratamentos	I	II	III	IV	Médias
juncea	0	18	127	18	41
capensis	25	0	0	0	6
spectabilis	0	0	122	0	31
intermedia	240	0	0	0	60
pallida	26	0	52	10	22
lanceolata	0	20	0	0	5
ochroleuca	325	2090	3178	288	1470
tomate	586420	550122	246030	406510	447271

Número de nemátodos por vaso

Ensaio 3 de estufa

Legenda

Média de ovos por vaso

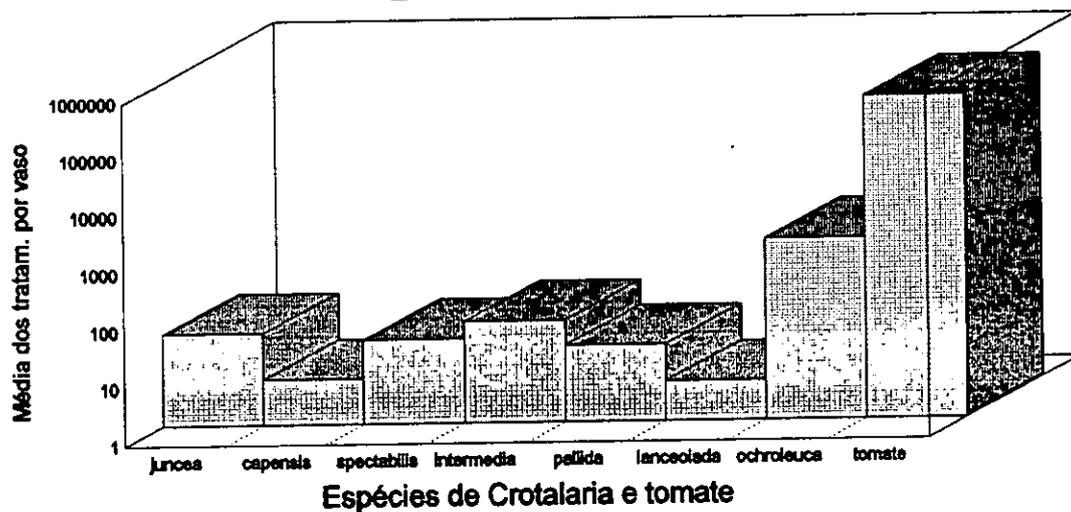


Figura 2: Média dos tratamentos calculadas com base nas 4 repetições (escala logarítmica)

Tabela 8. Tabela de análise de variância dos dados do ensaio 3 de estufa

Fonte de variação	G L	Somatório Quadrado	Quadrado Médio	F comp.	F tab.	
					5%	1%
Repetição.	3	$8,911 \times 10^7$	$2,970 \times 10^9$			
Tratamento	7	$6,995 \times 10^{11}$	$9,992 \times 10^{10}$			
Co	3	$6,996 \times 10^{10}$	$2,331 \times 10^{10}$	33.2**	4.35	8.45
C1	2	1074.125	537.063	1.42ns	4.35	9.55
C2	2	1950.625	975.313	2.58ns	4.35	9.55
Erro	2 1	$6,319 \times 10^{10}$	$3,009 \times 10^{10}$			
Rep. X Co	9	$6,319 \times 10^{10}$	$7,022 \times 10^9$			
Rep. X C1	6	2268.375	378.063			
Rep. X C2	6	2819,875	469.979			

Co = Comparação dentro dos grupos

C1 = Comparação dentro do grupo 1

C2= Comparação dentro do grupo 2

**= significativo a 1%

ns= não significativo

GL= grau de liberdade

Tabela 9. Teste de Duncan para a comparação das médias entre grupos, no ensaio 3 de estufa

Grupos	Médias
G4 (tomate)	447270,50 a*
G3 (ochroleuca)	1470,00 b
G1 (intermedia, juncea e spectabilis)	44,00 b
G2 (pallida, capensis e lanceolata)	11,00 b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Ensaio B de estufa

No teste de penetração, somente nos vasos inoculados com cerca de 10.000 nemátodos por vaso (ovos e larvas), foi possível observar algumas larvas apenas nas raízes de Crotalaria ochroleuca, 10, 15 e 20 dias depois de inoculação. Com o inóculo de 5000 nemátodos não se observaram nemátodos em nenhuma das espécies testadas: juncea, ochroleuca, spectabilis e capensis.

Ensaio do campo

Também no campo nas 3 espécies de Crotalaria testadas (C. juncea, capensis e spectabilis), não foram encontradas galhas nas raízes.

Quando as raízes de Crotalaria foram extraídas, não se encontrou larvas ou ovos nas suspensões, o que indica que a reprodução do Meloidogyne não ocorreu nestas espécies no campo. As raízes do tomate plantado após a Crotalaria e mesmo na área do pousio (clean fallow) foram altamente infestadas depois de 3 meses de experiência.

Na tabela 10 estão mencionados os números de nemátodos da galha (larvas e ovos) nas raízes de tomate e na tabela 11, os respectivos índices de galha. As médias estão representadas

graficamente na figura 9 .

A análise estatística dos dados colhidos nas raízes de tomate (anexo..) mostra que não houve diferenças significativas em termos do número de nemátodos encontrados em 5g de raízes nem no índice de galhas entre as espécies de *Crotalaria* e o pousio (tabela 12 e 13). Possivelmente a grande variação, reflectida pelo coeficiente de variação (c.v) ocorrente de 101.9% para este parâmetro, concorreu para ausência de significância. É difícil detectar significância com o c.v muito elevado.

A *C. capensis* possui a média de 16.300 nemátodos a *C. juncea* de 8.600 nemátodos. A diferença entre as duas espécies é muito grande, mas o teste não conseguiu detectar diferenças significativas. O mesmo aconteceu em relação ao índice de galhas, o pousio com o índice de 3.8 e a *C. juncea* com 2.6 e também não foi possível detectar diferenças.

Tabela 10. Número de ovos e larvas de *Meloidogyne* spp por 5g de raízes de tomate (x1000)

Tratamentos	RI	RII	RIII	RIV	RV	RVI	Média
pousio	14	18	30	3	10	2	12,6
juncea	16	11	4	2	2	16	8,6
capensis	8	3	38	15	1	32	16,3
spectabilis	1	22	3	7	2	51	14,3

R= repetição (bloco)

Tabela 11. Índice de galhas nas raízes de tomate, no ensaio do campo.

Tratamentos	RI	RII	RIII	RIV	RV	RVI	Mé dia
Talhão de pousio	3.6*	4.2	4.4	2.5	4.8	3.0	3.8
Talhão de <i>C.</i> <i>juncea</i>	2.7	2.5	3.6	2.2	1.4	3.0	2.6
Talhão de <i>C.</i> <i>capensis</i>	2.9	1.3	4.5	2.7	1.6	3.2	2.7
<i>C. spectabilis</i>	1.7	3.8	1.7	3.0	2.4	3.6	2.7

* índice de galhas, escala 0-10

Número de nemátodos por 5 g de raízes

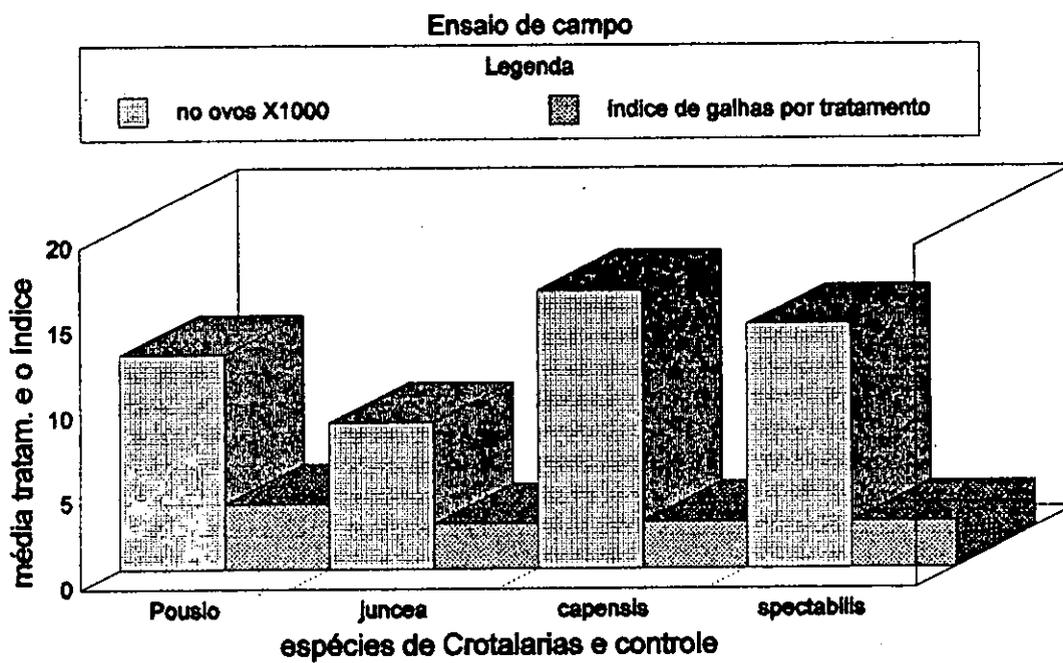


Figura 3: Médias dos tratamentos calculadas com base nas 6 repetições.

Tabela 12. Tabela de análise de variância dos dados do campo.

Variável: N° de ovos (+larvas)/10g de raízes.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F OBS	F tab	
					5%	1%
Repetição	5	1285075392.0	257015078.4	1.43	2.90	4.56
Tratamento	3	196572647.5	65524215.8	0.83	3.29	5.42
Erro Experimental	15	2615651119.0	174376741.3			
Total	23	4097299158.5				

Coefficiente de Variação= 101.95%

GL = grau de liberdade

SQ = somatório dos quadrados

QM = quadrado médio

F Obs. = F observado

F Tab. = F tabelado

Tabela 13. Tabela de análise de variância do Índice de galhas.

Fonte de variação	G L	SQ	QM	F Observado	F tabelado	
					5%	1%
Repetição	5	3.01	0.602	0.62	2.90	4.56
Tratamento	3	5.46	1.820	1.88	3.29	5.42
Erro experimental	1 5	14.54	0.969			
Total	2 3	23.01				

Coefficiente de Variação= 33.61%

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nos ensaios de estufa houve pouca penetração e reprodução de Meloidogyne spp. nas espécies de Crotalaria testadas. O número de nemátodos encontrados foi inferior a 5000 nemátodos, inóculo inicialmente utilizado, o que resulta num factor de reprodução ($R = pf/pi$) menor que 1, contrariamente ao tomate com $R > 1$. A temperatura experimental de 25°C esteve dentro do intervalo óptimo (25-30°C) para a reprodução e desenvolvimento (Gundy, 1985) o que pressupõe que deveria ter sido apropriado para a penetração das larvas nas raízes.

O tamanho dos vasos no ensaio de estufa, permitiu que as larvas encontrassem as raízes mais facilmente sem despendar muita energia na localização dos pontos de fixação na raiz.

A não penetração de Meloidogyne spp. nas espécies de Crotalaria em campo, pode ser devido a baixa densidade da população de nemátodos no solo em relação ao ensaio de estufa, onde foi utilizado um inóculo definido.

Huang (1980) refere que o principal efeito das espécies de Crotalaria, especialmente a C. spectabilis é a interrupção do ciclo de vida de espécies de Meloidogyne, o que significa que as larvas penetram nas raízes mas não são capazes de completarem o ciclo. Esta observação é contrária aos resultados obtidos no presente estudo, porque quase todas as espécies de Crotalaria apresentaram um certo número de nemátodos, o que implica que esta é a segunda geração. No ensaio de campo, as diferentes espécies de Crotalaria testadas, não mostraram maior redução da população de espécies de Meloidogyne do que o pousio (clean fallow).

Estudos realizados por Reddy et al., 1986, Rotar e Joy, 1983 e Tedford & Fortunum, 1988, citados por Araya e Caswell, 1994, mostraram que as espécies de Crotalaria podem reduzir o número de espécies de Meloidogyne ou outras espécies de nemátodos fitoparasitas.

A análise de variância dos dados do campo mostra um coeficiente de variação muito elevado. O teste F não consegue detectar diferenças significativas entre os tratamentos testados. É possível que exista diferenças entre as espécies usadas, mas o teste não conseguiu detectá-las. A heterogeneidade na distribuição de nemátodos em campos infestados pode ter influenciado para um coeficiente de variação muito elevado.

Reddy et al. (1986) também encontraram poucos nemátodos da galha (M. incognita) nos talhões de pousio, mas números elevados foram encontrados na culturas seguintes de feijão e milho, muito mais do que nos talhões onde havia se plantado C. spectabilis na época anterior.

Contrariamente a estes resultados Johnson & Campbell (1980) reportam que o pousio foi mais efectivo do que a Crotalaria spectabilis, na redução do número de nemátodos da galha no tomate, dois anos depois tratamento.

Ambos afirmam que a Crotalaria spectabilis e outras leguminosas resistentes eliminam ou reduzem populações de nemátodos quando em níveis inicialmente baixos.

McSorley et al.(1994) obtiveram uma redução de M. arenaria usando o pousio e o cultivo de C. spectabilis, mas na abóbora cultivado depois destes tratamentos ou na beringela depois dum outro ano de rotação/pousio, o índice de galhas foi de 3,9 a 4 e 4.4 a 4.5 respectivamente (escala 0-5). Também não havia diferenças significativas entre os dois tratamentos nos números de larvas encontradas nas raízes.

Estes resultados foram análogos aos obtidos no presente trabalho, embora os índices da galha fossem menores.

A não formação de galhas nas raízes de espécies de Crotalaria pode ser um mecanismo de resistência da planta (Cook & Evans, 1987).

Os resultados obtidos revelam que as raízes da maioria das espécies de Crotalaria testadas não são facilmente penetradas por espécies de Meloidogyne presentes (M. javanica e M. incognita) e portanto podem ser consideradas resistentes a estas espécies. O mesmo foi constatado por outros investigadores, no Zimbabwe, Malawi (Martin, 1961) e outros países (Araya & Caswell-Chen, 1994)

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

7.1 CONCLUSÕES

Os ensaios realizados no período de Janeiro a Novembro de 1993 (na estufa) e no período de Março a Setembro de 1994 (no campo) respectivamente, tinham como fim estudar a eficácia de algumas espécies de Crotalaria na redução de Meloidogyne spp. Os resultados destas experiências permitem tirar as seguintes conclusões:

Com base nos resultados deste estudo não se pode concluir que as espécies de Crotalaria testadas são eficazes na redução de Meloidogyne, embora mostrassem o mesmo efeito que o pousio.

Comparando com o pousio (clean fallow) o agricultor tira mais vantagens usando a Crotalaria, pois podem aumentar a fertilidade do solo em nitrogénio e em matéria orgânica, quando incorporado no solo.

7.2 RECOMENDAÇÕES

Existe uma necessidade de se realizar um estudo mais detalhado, com um desenho experimental bem definido e adequado e uma posterior avaliação dos tratamentos envolvidos, no sentido de se confirmar os resultados.

Para se ter uma ideia da disposição dos blocos na área experimental é necessário aplicar uma cultura susceptível que irá mostrar as diferentes densidades da população de nemátodos nesta área.

Como a infestação no campo geralmente é irregular, seria aconselhável repetir de campo primeiro na estufa, plantando tomate nos vasos depois da remoção das espécies de Crotalaria.

Seria importante estudar o estabelecimento de diferentes espécies de Crotalaria em campo. Não foi possível incluir algumas espécies no ensaio de campo devido a germinação ou estabelecimento na estufa.

Existe a necessidade de aprofundar o estudo do teste de penetração nas raízes de

Crotalaria utilizando diferentes concentrações ou tipos de corantes que permitam observar os nemátodos no interior das raízes sem precisar de dessecá-las.

Existe a necessidade de estudar o efeito da duração da Crotalaria no campo, para se obter uma substancial redução de Meloidogyne spp.

Também seria importante testar o efeito da incorporação da Crotalaria como material orgânico. Esta prática pode dar um efeito adicional no controle de nemátodos, devido ao aumento de inimigos naturais. Porém, este efeito não foi medido no presente trabalho.

É importante conhecer a susceptibilidade de espécies de Crotalaria a outros nemátodos patogénicos (ex. Pratylenhus zae na C. juncea) ou fungos (Fusarium na C. intermedia e C. lanceolata)

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANON., 1979. Sunhemp. In: Tropical Legumes. Resources for the Future. Nat. Acad. of Sciences, p: 272-278.
- ARAYA, M. & CASHWELL-CHEN, E.P., 1994. Penetration of Crotalaria juncea, Dolichos lablab and Sesamum indicum roots by Meloidogyne javanica. Journal of Nematology, 26 (2) ...
- BARKER, K.F., 1978. Biological control of plant pathogenic nematodes. In: W.H. Freeman and col., San Francisco, p: 87
- BARKER, K.R., HUSSEY, R.S., & KRUSBERG, L.R., 1994. Plant and Soil nematodes: Societal Impact and Focus for the Future. A cooperative State Research Service United States Department of Agricultural, and the Society of Nematologists. 11pp
- BRIDGE, J. (1972). " Plant-Parasitic Nematodes of Irrigated crops in the Northern States of Nigeria. In: The Biology and Control of Nematode pests of Food crops in Nigeria, eds, B.Fawole, O.A. Egunjobi, S.O. Adesiyun, O.A. Babatola. P:27
- BROWN, R.H & KERRY, B.R., 1987. Principles and Practice of Nematode Control in Crops. Academic Press. 447 pp
- COOK, R. & EVANS, K., 1987. In: Principles and Practice of Nematode Control in Crops, R.H. Brown and B.R. Kerry
- DALMASSO, A., & BERGÉ, J.B., 1978. Molecular polymorphism and phylogenetic relationships in some Meloidogyne spp. In: An Advanced Treatise on Meloidogyne, eds,
- DAULTON, R.A.C., 1955. Progress report on eelworm control experiments. Rhod.Tob.J 11: 21-24.
- FRANKLIN, M.T., 1978. Meloidogyne. In: The root-knot nematodes of South Africa, K.P.N. Kleynhans, Technical communication no 231. Department of Agric. Development.P: 3
- GEURTS, P., CHANGUALA, P., & TEMBE, A., 1993. O efeito da Crotalaria como adubo verde sobre o milho e feijão consociados no Sistema usado pelo Sector Familiar do Planalto do Niassa. Relatório. Nota técnica nº 64 (INIA)
- GOMEZ, K.A., & GOMEZ, A.A (1984). Statistical procedures for Agricultural Research, 2nd edition . An International Rice Research Institute Book. 680p
- GROENEWALD, A.F., 1995. Identification of four African Meloidogyne species using enzyme electrophoresis. In: Twelfth Symposium Programme and Abstracts. Nematological Society of

Southern Africa. 47p

HARTMAN, K.M. & SASSER, J.N., 1985. Identification of Meloidogyne species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: An advanced treatise on Meloidogyne. Vol. II. Methodology, eds K.R. Barker, C.C. Carter, J.N Sasser, p: 79-93.

HEMENG, O.B. & HEMENG, B.M.S., 1976. Root-knot Nematodes in Gana. In: The Biology and Control of Nematode Pests of Food crops in Nigeria, eds, B.Fawole, O.A. Egunjobi, S.O. Adesiyun, O.A. Babatola, P: 27

HOOPER, D.J., 1985. Preserving and staining nematodes in plant tissues. In: Laboratory Methods for work with plant and soil nematodes. Ed, J.F. Southey. Pg: 81-85.

HUANG, C.S., MOTA, E & SILVA, E.F.S., 1980. Interruption of the life cycle of Meloidogyne incognita by Crotalaria spp. Fitopatologia brasileira 5: 402-403

HUSSEY, R.S., 1985. Host-Parasitic relationships and associated physiology changes. In: The root-knot Nematodes of South Africa, ed, K.P.N. Kleynhans, p: 3

HUSSEY, R.S., & BARKER, K.R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of Meloidogyne spp. including a new technique. Plant disease Reporter. 57 (12): p. 1025-1028

JOHNSON, A.W., AND CAMPBELL, G.M., 1980. Managing nematode densities on tomato transplants using crop rotation and a nematicide. J.of Nematology 12 (1): 6-17

Nematology in Southern Africa, eds, D.P. Keetch & J., Heyns. Science Bulletin, No.400. Dep.of Agric & Fisheries, S. Africa. P: 113-129

KEETCH, P.D. & MILNE, D.L., 1982. The control of Plant Parasitic Nematodes. In: Nematology in Southern Africa, eds, D.P., Keetch and J. Heyns, p: 113-129

MCSORLEY, R., DICKSON, D.W., DE BRITO, J.A & HOCHMUTH, R.C., 1994. Tropical Rotation Crops influence Nematode Densities and Vegetable yields. In: Journal of Nematology 26(3): 251-362

KLEYNHANS, K.P.N., 1991. The root-knot nematodes of South Africa Technical communication No 231. Department of Agricultural Development. S.A. 61p.

LORDELLO, L.G.E (1984). Nemátodos das Plantas cultivadas, 8ª edição. Biblioteca rural, Livraria Nobel, São Paulo Brazil. 314p

LOVEYS, R.R. & BIRD, A.F., 1973. The influence of nematodes on

Photosynthesis in tomato plants. In: The root-knot Nematodes of South Africa K.P.N. Kleynhans, p: 4

MARTIN, G.G., 1961. Frequency of occurrence of Plant Parasitic nematodes in soil samples from the Federation of Rhodesia and Nyasaland. In: The Role of Marejea (Crotalaria ochroleuca) in Agricultural Production in Tanzania , eds, A.N. Minuas, M.P. Salema, S.V. Sarwatt and J.J. Weber

MCBETH, C.W & TAYLOR, A.L., 1944. Immune and resistant cover crops valuable in root-knot infested peach orchards. In: The Role of Marejea (Crotalaria ochroleuca) in Agricultural Production in Tanzania, A.N. Minuas, M.P. Salema, S.V.O. Sarwatt and J.J. Weber.

MUIAMBO, J. E KJAER, L., 1994. Guia dos Pesticidas... pp

NEEDHAM, T., 1743. Concerning certain chalky tubulous concretions, called malm, with some microscopical observations on the farina of the red lily, and of worms discovered in smutty corn. In: Plant- Parasitic Nematodes: The Farmers Hidden Enemy J.N. Sasser. P: 2

OGBUJI, R.O., 1983. Effect of cover plants in fallow lands on Root-knot nematodes population. University of Nigeria . P: 275-281.

OGUNFOWORA, A.O. (1976). Research on Meloidogyne at the Institute of Agricultural Research and Training, University of Ife, Moor Plantation, Ibadan. In: The Biology and Control of Nematode Pests of Food crops in Africa, eds B.Fawole, O.A. Egunjobi, S.O. Adesiyun, J.O. Babatola & A.A Idowu, p: 27

POHILL, R.M., 1982. Crotalaria in Africa and Madagascar. In: Some leguminous Green Manure and Pasture Crops as an alternative Nitrogen Source in the Tropic, eds, A.J.M. Brown & F. van der Wal, 1988.

PURSEGLOVE, J.W., 1968. Tropical Crops. Dicotyledones. 719pp

REDDY, K.C., SOFFES, A.R. PRIME, G.M. AND DUNN, R.A., 1986. Tropical legumes for Green Manure. Agronomy Journal. 78: 5-10

ROTAR, P.P., AND JOY, R.J., 1983. Tropic Sunhemp Crotalaria juncea Journal of Nematology 26 (2):238-240

SAKA, V.W. & CARTER, C.C., 1987. Hosts and nonhosts of the Root-knot Nematode. Meloidogyne incognita. Raleigh, North Carolina, U.S.A. P: 2

SASSER, J.N., 1989. Plant- Parasitic Nematodes: The Farmers Hidden Enemy. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology and the Consortium for Internatinal Crop Protection, Raleigh, NC., USA. 115p.

SASSER, J.N., 1954. Identification and host parasite relationships of certain root-knot Nematodes (Meloidogyne species). In: An Advanced Treatise on Meloidogyne, eds, K.R., Barker, C.C., Carter and J.N., Sasser, p:

SASSER, J.N., AND FRECKMAN, D.W. (1987). World perspective on Nematology. In: Plant-Parasitic Nematodes: The Farmers Hidden Enemy J.N., Sasser, p: 14

SAYRE, R.M., 1971. Biotic influences in soil environment. In: Biology, identification and control of root-knot nematodes, A.L. Taylor and J.N., Sasser. P:

SHARMA, S.B. & MCDONALD, D., 1990. A World list of Plant-Parasitic Nematodes associated with groundnut. In: The Biology and Control of Nematode Pests of Food crops in Africa, eds, B.Fawole, O.A: Egunjobi, S.O. Adesiyun, J.O.Babatola & A.A. Idowu p: 26

TAYLOR, A.L., SASSER, J.N. & NELSON, L.A., 1982. Relationship of climate and soil characteristics to geographical distribution of Meloidogyne species in Agricultural soils. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology, North Carolina State University and the United states Agency for International Development. Raleigh, North Carolina, USA.

TAYLOR, A.L., & SASSER, J.N., 1978. Biology, Identification and Control of root-knot Nematodes (Meloidogyne spp). A cooperative publication of the Department of Plant Pathology North Carolina State University and the United States Agency for International Development. 111 p

TEDFORD, E.C. & FORTNUM, B.A., 1988. Weed hosts of Meloidogyne arenaria and M. incognita common in tobacco in South Carolina. Supplement to the J.of Nematology 24 (4): 102-105

TRIANANTAPHYLLOU, A.C., 1985. Cytogenetics, Cytotaxonomy and Phlyogeny of Root-knot Nematode. In: An advanced treatise on Meloidogyne, eds, K.R. Barker, C.C., Carter & J.N Sasser.p. 113-126

VAN GUNDY, S.D., 1985. Ecology of Meloidogyne spp. Emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: An advanced Treatise on Meloidogyne. Biology and control. Vol I, eds k.R. Barker, C. C. Carter & J.N. Sasser.P: 177-180

VAN DEN OEVER, R. & MANGANA, S., 1991. Nemátodos. Prospecção da dispersão em algumas culturas e métodos de seu controle. Série de Investigaçãõ n° 9. 44p.

WEBSTER, J.M., 1972. Nematodes and Biology control. In: Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (Meloidogyne spp). A.C. Taylor & J.N. Sasser. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology, North Carolina State University

and the United States Agency for international development. P:

ZANNOU, T.A. & DOREGO, E.H., 1981. " Meloidogyne Research Programme in Bénin Republic. In: The Biology and Control of Nematode Pests of Food crops in Africa, eds, B.Fawole, O.A. Egunjobi, S.O. Adesiyun, O.A. Babatola & A.A Idowu, p: 27

ZECK, W.M., 1971. A rating scheme for Field evaluation of root-knot nematode infestations. In: Plant-Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agricultural, eds, M. Luc, R.A., Sikora & J. Bridge. CAB. International Institute Of Parasitology. p: 259

ANON., 1979. Sunhemp. In: Tropical Legumes. Resources for the Future. Nat. Acad. of Sciences, p: 272-278.

9.0 ANEXOS

Anexo 1) Tratamento da semente com Hipoclorito de Sódio (NaOCl).

Esta solução permite remover os fungos da superfície da semente

- 1.) Prepare uma solução de NaOCl a partir da concentração de 3,5% (javel).
- 2) Coloque a semente numa placa de vidro e deite a solução preparada em 1, até cobrir toda a semente.
- 3) Deixe durante 5 minutos e depois lave com água corrente para a remoção de NaOCl.

Anexo 2. Teste de câmara húmida (blotter test)

Este método estimula a germinação de sementes e também permite a selecção de sementes viáveis.

Procedimento

- 1) Coloque três papeis de filtro embebidos em água destilada em cada placa de petri esterilizada.
- 2) Lave a semente com a solução de NaOCl a 1% numa placa e depois de 5 minutos escoar num crivo e lave com água destilada.
- 3) Com uma pinça esterilizada tire a semente e semeie no papel de filtro (aproximadamente 25 sementes dependendo do tamanho).
- 4) Incube a semente a uma temperatura de 25°C até iniciar a germinação
- 5) Se a maioria das sementes possuírem radículas germinadas deve-se proceder a sementeira.

Anexo 3. Esterilização do solo

A esterilização do solo permite a eliminação de todos os nemátodos patogénicos incluindo outros microrganismos do solo.

Com este método é possível esterilizar grande quantidade do solo numa vez.

1) Mete água no fundo do esterilizador até nível da chapa com furos (veja a figura).

2) Enche o esterilizador com o solo

3) Faça uma lareira e coloque 3 pedras em 3 direcções

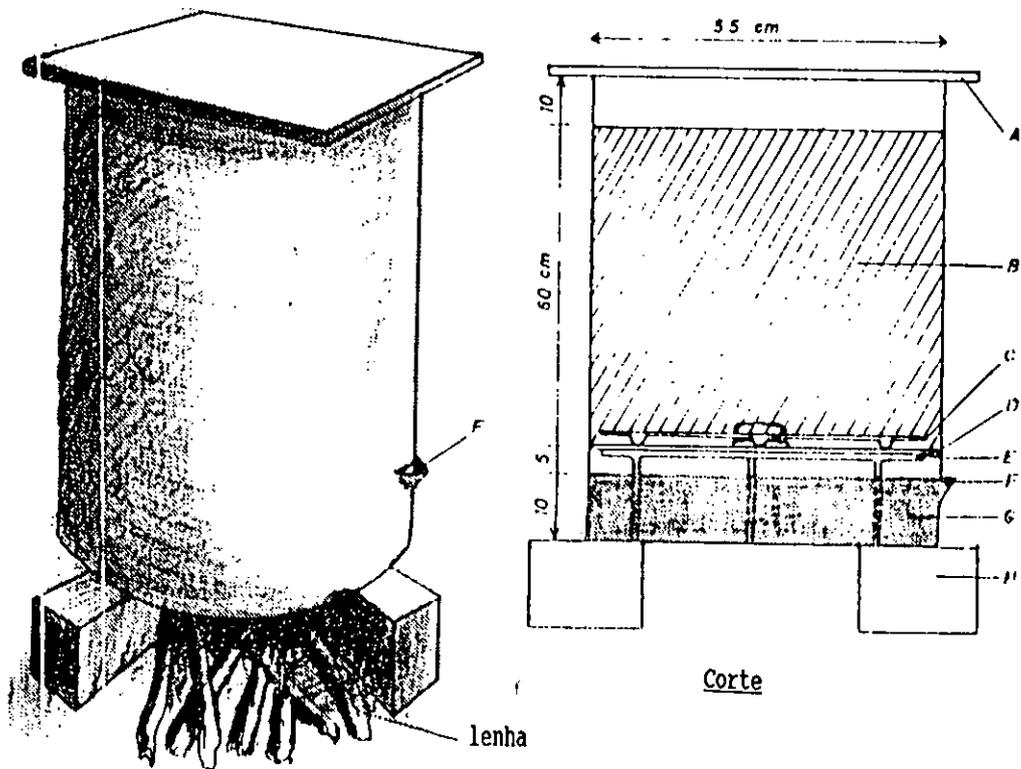
de modo a suportar o esterilizador.

4) Coloque o termómetro dentro do esterilizador e tape. Vai-se juntando a lenha até que a temperatura atinja 100 C.

5) Depois de atingidos os 100 C, mantêm-se esta temperatura durante 2 horas.

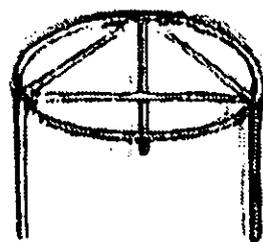
6) Depois de arrefecido o solo pode-se se encher os vasos.

Figura 17: Aparelho simples para desinfetar solo com água em vapor.

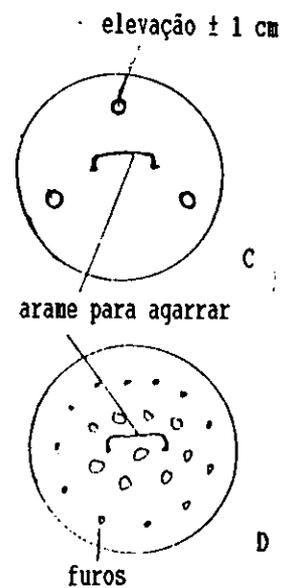


Legenda:

- A = tampa metálica ou de madeira
- B = solo que deve ser desinfetado
- C = chapa sem furos (diâmetro da chapa \pm 2 cm a menos do que da segunda chapa D)
- D = chapa com furos para a passagem do vapor
- E = suporte para as duas chapas C e D
- F = abertura para adicionar água
- G = água
- H = elevação de pedras ou de blocos de madeira



E



C

D

Anexo 4. Método de extracção de ovos de Meloidogyne utilizado o NaOCl a 0.35% (método de Hussey & Barker,1973)

Este método permite dissolover a massa gelatinosa que envolve os pacotes de ovos e esteriliza a superfície externa dos ovos.

Procedimento

1. Lavar e cortar as raízes e tirar uma subamostra de 5 gramas
2. Colocar estas raízes no liquidificador com água e mascarar durante 3 segundos.
3. Deitar a suspensão num crivo de 75 micron, colocado por cima dum outro de 25 micron.
4. Remover as raízes do crivo de 75 micron e colocá-las num frasco de cerca de 100ml e com tampa.
5. Adicionar uma solução de hipoclorito de sódio a 0.35% (20ml da solução de NaOCl a 3.5% e adicione água até a um volume de 200ml).
6. Tapar e Agitar bem o frasco contendo as raízes, durante três minutos.
7. Deitar a suspensão num crivo de 75 micron colocado por cima do outro de 25 micron. Os ovos ficarão no crivo mais fino.
8. Lavar este crivo (de 25micron) com água abundante para remover o excesso dos resíduos de NaOCl.
9. Recolher os ovos num de vidro de 100ml com ajuda do esguicho de água
10. Agitar de novo as raízes, mais duas vezes somente com água corrente, no mesmo frasco, durante três minutos .
11. Deitar a suspensão nos dois crivos, um sobre o outro (o mais fino) e juntar os resíduos obtidos no crivo de 25 micron à suspensão de ovos no copo.
12. Juntar água até a um volume de 100ml e tirar duas subamostras de 1 a 5ml para proceder a contagem.
13. Calcular o número de ovos por 100ml de suspensão e em 5 gramas de raízes.

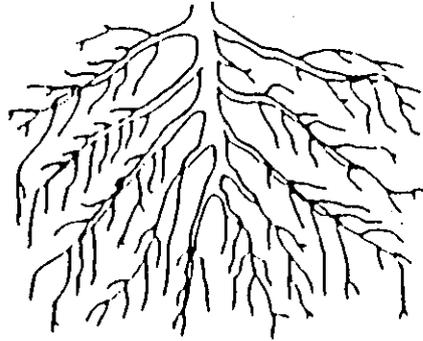
Anexo 5. Modelos perineais de Meloidigyne

Técnica utilizada na identificação de espécies de Meloidigyne. Nesta técnica utiliza-se fêmeas adultas.

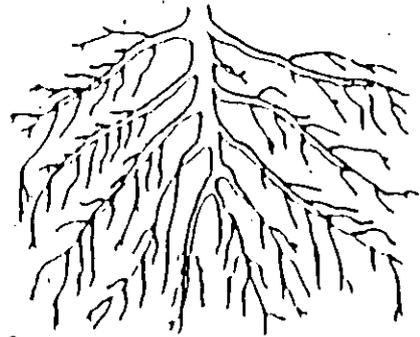
Procedimento

1. Lavar as raízes com e retirar, cuidadosamente, as fêmeas piriformes do tecido da galha, com ajuda de duas agulhas de dissecação.
2. Perfurar as fêmeas com agulha na parte posterior do pescoço e cortar para facilitar a saída de todo o conteúdo do corpo.
3. Colocar as partes limpas no lactofenol, contendo 0.03% de corante azul de algodão durante cerca de 24 horas, à temperatura ambiente.
4. Transferir os corpos coloridos para uma gota de lactofenol com azul de algodão, em cima duma lâmina de perspex, com uma agulha de dissecação.
5. Cortar a parte posterior do corpo com um escalpelo (lâmina Gillete) até ficar só um pedaço da cutícula 3 a 4 vezes maior do que a própria área perianal (veja a figura..)
6. Transferir este modelo perianal, temporariamente, para uma gota de lactofenol com azul de algodão 0.03%, numa lâmina com depressão.
7. Depois de ter cortado cerca de 10 exemplares, transferi-los para uma lâmina lisa com uma gota de glicerol.
8. Empurrar os modelos para o fundo da gota e alinhá-los em duas linhas, mais ou menos rectas, no centro da gota.
9. Escolher um filamento fino de vidro com diâmetro equivalente à espessura dos modelos. Cortar em 3 pedaços e colocá-los radialmente no interior da gota.
10. Cobrir com uma lamela quadrada ou circular, bem limpa.
11. Remover o excesso de glicerol, limpar as bordas da lamela e fixar com Glicerol ou Zut.

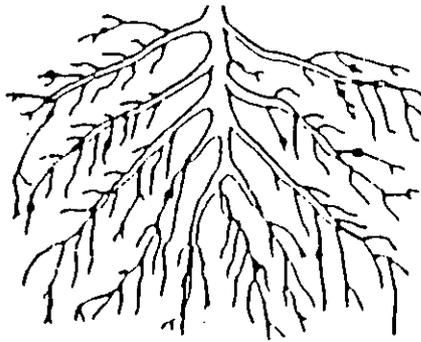
ROOT-KNOT RATING CHART



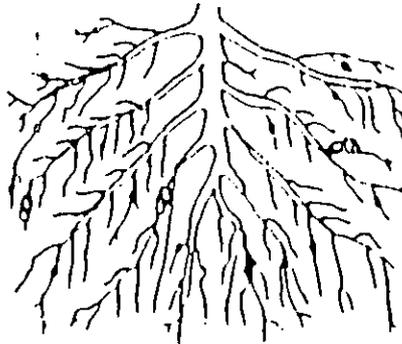
0 No knots on roots



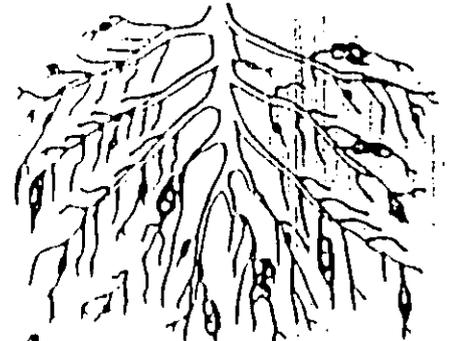
1 Few small knots, difficult to find



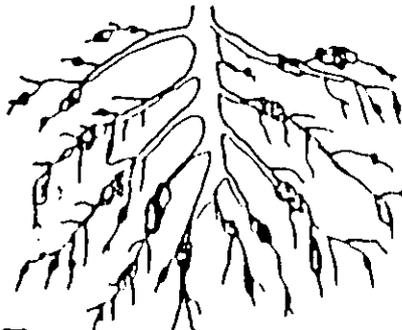
2 Small knots only but clearly visible. Main roots clean



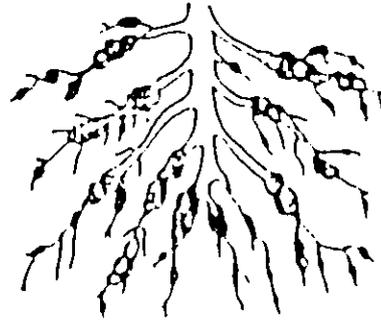
3 Some larger knots visible. Main roots clean



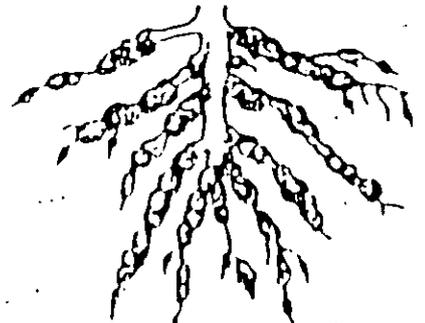
4 Larger knots predominate but main roots clean



5 50% of roots infested. Knotting on parts of main roots. Reduced root system



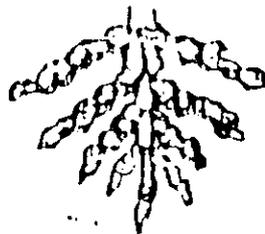
6 Knotting on main roots



7 Majority of main roots knotted



8 All main roots knotted. Few clean roots visible



9 All roots severely knotted. Plant usually dying



10 All roots severely knotted. No root system. Plant usually dead

Anexo 7 . Coloração de raízes (Hooper, 1985,

Este método permite observar os nemátodos sem dessecar a raiz. Normalmente usa-se o azul de algodão ou o ácido fucsínico e lactoglicerol para a conservação do material contendo nemátodos.

As raízes após a coloração são observados num estereoscópio.

Procedimento

1) Lave as raízes em água corrente e corte em pequenas porções de aproximadamente 1cm.

2) Ferve as raízes num balão volumétrico de 250ml durante 3 minutos, numa solução de igual volume de glicerol, ácido láctico e água destilada

3) Adicione o ácido fucsínico a 0.05% (0.015g) e deixe arrefece.

4) Escoa o conteúdo num crivo e em seguida lava em água corrente para a remoção do excesso do corante.

5) Passa as raízes para uma solução de igual volume de glicerol e água destilada e deita algumas gotas de ácido láctico.

Este material pode ser conservado nesta solução durante alguns dias.

São necessários:

10ml de glicerol

10ml de água destilada

10ml do ácido láctico

15mg do ácido fucsínico

Anexo 8. Temperatura e humidade relativa registadas durante o periodo da condução do ensaio.

Meses	Temperatura			Humidade relativa (%)		
	mínima	média	máxima	mínima	média	máxima
Abril	19,3	23.8	28.3	67.4	72.3	77.4,
Maió	16,1	21.5	27.0	67.1	69.3	76.2
Junho	13,9	20.1	26.5	49.3	54.8	62.8
Julho	12,2	18.2	24.9	49.5	56.6	64.4
Agosto	14,2,	19.6	25.0	57.6	64.4	68.8
Setembro	18.5	21.5	26.2	62.4	67.2	71.8
outubro	16.8	21.1	25.2	63.2	67.9	72.6
Médias	15.8	20.8	26.2	59.5	64.6	70.6

Anexo 9. Formação de grupos e construção de contrastes.

Na formação de grupos nos ensaios 2 e 3 de estufa foi utilizado o teste chi-quadrado, na foi aplicada a seguinte fórmula:

$$X^2 = \frac{(2,3036)f(K \log S^2 + \log S_i^2)}{1 + (K+1)/3Kf} \quad \text{onde, } i=1$$

f = grau de liberdade dos tratamentos

S²p = somatório das variância dos tratamentos

S_i = somatório de logaritmos das variâncias

K = número de tratamentos

2. Com base nos grupos (S) formados fazer a construção de contrastes.

3. Construir a tabela dos coeficientes dos contrastes seguindo a fórmula

$C_i T_i + C_j T_j = 0$, onde C_i e C_j são os coeficientes do primeiro membro e segundo membro respectivamente e T_i e T_j são os valores dos tratamentos.

4. Calcular os contrastes usando a fórmula seguinte:

$L(\text{contraste}) = C_1 T_1 + C_2 T_2 + \dots + C_i T_i$ sendo,

T_i = valor total por tratamento

C_i = coeficiente do contraste

5. Calcular o somatório dos quadrados de cada contraste, usando a fórmula seguinte:

$$SQ(j) = \frac{L^2}{\sum_{i=1}^j C_i^2}$$

6. Calcular o somatório dos quadrados dos contrastes (SQM) da seguinte maneira

$$SQ(M) = SQ(L_1) + SQ(L_2) + \dots + SQ(L_{t-1})$$

O SQ(M) deve ser igual ao somatório dos quadrados obtido na análise de variância na ANOVA.

7. Calcular o valor do F usando a seguinte fórmula

$$F = \frac{SQ(M)/(S-1)}{QME} \text{ em que, QME é o Quadrado médio do erro obtido na ANOVA} \quad QME$$

Anexo 10. Teste de Duncan

Para fazer a comparação entre diferentes médias deve se seguir o procedimento seguinte:

1. Ordenar as médias dos tratamentos em ordem decrescente

2. Calcular os valores de Amplitude Mínima Significativa

(AMS), segundo a fórmula:

$$ATE(a,p) = (QME/r)^{1/2}$$

$$AMS(a,p) = \frac{ATE(a,p)}{(2)^{1/2}} \text{ para } p=2,3,\dots,t.$$

Onde ATE = valores tabelados de amplitude total estudentizada (Significant studentized Ranges)

P = número de médias abrangidas pelos contrastes ou distância em ordem entre pares de médias a serem comparadas.

a = nível de significância

3. Calcular a média das médias por grupos

4. Fazer comparações entre as médias de diferentes grupos.

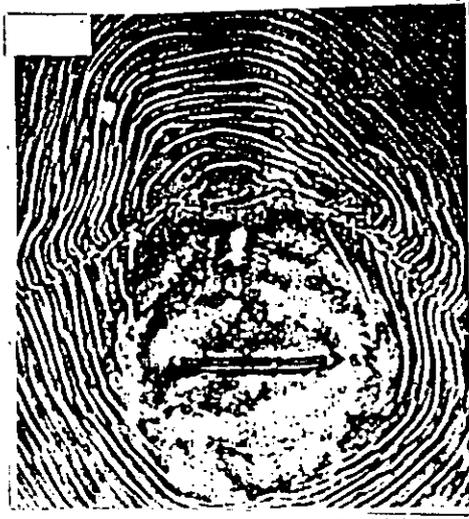


Figura. Diagrama do modelo perianal da fêmea de *Meloidogyne*, mostrando as características usadas na identificação.

