

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*: EFEITO *in vitro* DE
EXTRATOS DE PLANTAS NATIVAS DO CERRADO

Autora: Lorena Natácia da Silva Lopes
Orientador: DSc. Rodrigo Vieira da Silva

MORRINHOS - GO
2017

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*: EFEITO *in vitro* DE
EXTRATOS DE PLANTAS NATIVAS DO CERRADO

Autora: Lorena Natácia da Silva Lopes

Orientador: DSc. Rodrigo Vieira da Silva

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRA EM OLERICULTURA, no Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos – Área de Concentração: Olericultura.

MORRINHOS – GO
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

L864c Lopes, Lorena Natácia da Silva.

Controle de *Meloidogyne javanica*: efeito *in vitro* de extratos de plantas nativas do cerrado. / Lorena Natácia da Silva Lopes. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2017.

50 f. : il.

Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2017.

1. Nematoides das galhas. 2. Nematicidas naturais. 3. Metabólitos secundários. I. Silva, Rodrigo Vieira da. II. Instituto Federal Goiano. Mestrado Profissional em Olericultura. III. Título.

CDU 632

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*: EFEITO *in vitro* DE
EXTRATOS DE PLANTAS NATIVAS DO CERRADO

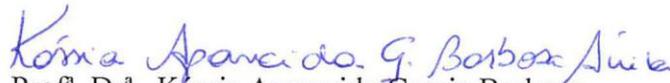
Autora: Lorena Natácia da Silva Lopes
Orientador: Rodrigo Vieira da Silva

TITULAÇÃO: Mestre em Olericultura-Área de Concentração em Manejo
Fitossanitário em Olerícolas.

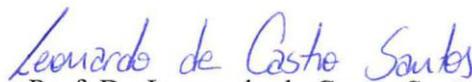
APROVADA em 15 de setembro de 2017.



Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva
Presidente da Banca
IF Goiano – Campus Morrinhos



Profª. Drª. Kássia Aparecida Garcia Barbosa
Avaliadora Externa
Centro Universitário de Goiatuba



Prof. Dr. Leonardo de Castro Santos
Avaliador Externo
IF Goiano – Campus Iporá

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre me abençoar e iluminar o meu caminho. Em especial minha querida e amada mãe, Silvânia, por sempre ter incetivado os meus estudos, acreditando no meu potencial, confiando e se orgulhando de minhas atitudes.

A minha irmã Larissa, por todos os momentos felizes e tranquilos, e também pelos agitados, pela admiração, amor, paciência e apoio financeiro.

Ao meu orientador, Rodrigo Vieira da Silva, pela oportunidade, por todo conhecimento transmitido, competência, compreensão, prontidão e até empolgação em ensinar. A você, que acrescentou não só no meu crescimento acadêmico, como pessoal, meu eterno agradecimento e reconhecimento.

A equipe do laboratório de Nematologia do IF Goiano - Campus Morrinhos, Jair Ricardo, Caio Felipe Morreira Cruz, Edcarlos Silva Alves, por todo o suporte, apoio, eficiência, participação e disposição em todas as atividades relacionadas ao meu trabalho.

À servidora e mestranda em química, Alanna Ferreira, por ser extremamente disposta e prestativa, por toda paciência e atenção a mim dedicadas, uma inestimável colaboração na parte agroquímica.

À Dra. Rosana Romero, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), por ter sido extremamente prestativa e atenciosa comigo, realizando uma inestimável colaboração na identificação das plantas utilizadas neste trabalho.

Ao meu grande amigo Leonel Teixeira, por sempre se fazer presente, pelos incentivos nos momentos difíceis.

Às novas amigas, Mylla Crysthyan, Thayssa Monize, Iara Cristina Firmino, Heloísa Nascimento, Cristiane Mendes, pelo incentivo, convívio e companheirismo.

À professora Flávia Dionsío Pereira, melhor pessoa que tive a honra de conhecer, por sempre somar, pelo apoio, pelo carinho e pela amizade que pretendo sempre manter.

Aos membros da banca, Dra. Kássia Aparecida G. Barbosa e Dr. Leonardo de Castro Santos, por concordarem em fazer parte desse momento tão especial e pelas contribuições acadêmicas.

Por fim, agradeço a todos os colegas de classe por somarem alegrias. Sentirei falta de vocês. Agradeço ainda a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA DO AUTOR

LORENA NATÁCIA DA SILVA LOPES, filha de Silvânia Alves da Silva e Gilberto Lopes de Araújo, nascida em Brasília, Distrito Federal, em 23 de abril de 1986. No ano de 2006, ingressou-se no Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí no curso Técnico em Sistemas de Informação e concomitantemente no curso Tecnólogo em Irrigação e Drenagem. Em fevereiro de 2009, iniciou o curso de Bacharelado em Agronomia na mesma instituição. Durante a graduação participou de diversos projetos de pesquisa na área de fitopatologia, trabalhando com fungos e bactérias, sob a orientação do professor Dr. Milton Luiz da Paz Lima. Graduou-se em Agronomia em março de 2014. Dando sequência nos estudos, em setembro de 2015 ingressou-se no Programa de Pós-graduação em Olericultura, em nível de Mestrado, área de concentração em Ciências Agrárias, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, realizando pesquisas direcionadas ao controle de nematoides fitopatogênicos, sob a orientação do professor Dr. Rodrigo Vieira da Silva, que resultou em uma dissertação, defendida em 15 de setembro de 2017.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Bioma Cerrado	2
2.2 Nematoides do gênero <i>Meloidogyne</i>	3
2.3 <i>Meloidogyne javanica</i> Chitwood 1949	6
2.4 Controle de Nematoides.....	7
2.5 Uso de extratos de plantas.....	9
2.6 Referências Bibliográficas	11
3. CAPÍTULO I	16
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	20
Local dos experimentos	20
Material Vegetal.....	20
Obtenção do extrato metanólico bruto	22
Obtenção dos nematoides.....	23
Técnicas de trabalho empregadas	24
Obtenção de juvenis <i>M. Javanica</i>	24
Preparo da solução estoque e diferentes concentrações.....	24

Estudo das concentrações dos extratos metanólicos na mortalidade de juvenis de segundo estágio de <i>M. Javanica</i>	25
Delineamento estatístico	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÕES	30
LITERATURA CITADA	30
APÊNDICES	34

RESUMO

LOPES, LORENA NATÁCIA DA SILVA. Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, agosto de 2017. **Controle de *Meloidogyne javanica*: Efeito *in vitro* de Extratos de Plantas Nativas do Cerrado.** Orientador: Dsc. Rodrigo Vieira da Silva.

Foram analisados extratos metanólicos de cinco espécies de plantas nativas do Cerrado goiano: mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes.), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) e lobeira (*Solanum lycocarpum* A.St.–Hil) *in vitro* para o controle de *Meloidogyne javanica*. Foram analisadas as seguintes concentrações: 0; 12,5; 25; 50 e 100 mg L⁻¹ dos extratos metanólicos. Em tubos e posteriormente em placas de Petri colocaram-se separadamente a suspensão contendo 200 juvenis de segundo estágio (J2) do nematoide, juntamente com as concentrações dos extratos, incubados em câmara de crescimento a 25°C. Após 48 horas realizou-se a quantificação dos J2 vivos, ou seja, aqueles que atravessarem o papel de filtro colocado sobre as placas Petri sob microscópio Fotônico. A quantificação dos J2 foi realizada com o auxílio da câmara de Peters. Houve diferença significativa entre os extratos que foram eficientes em causar a mortalidade dos J2 de *M. javanica*. O extrato que causou a maior mortalidade de J2 foi o de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), 80% na concentração de 100 mg L⁻¹. Independente dos extratos, as melhores concentrações foram as maiores de 50 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹. Este efeito foi provavelmente devido a presença de metabólicos secundários pertencentes a classes importantes, tais como esteroides, fenóis simples, flavonoides, flavanonas, flavanonóis, saponinas e taninos, substâncias conhecidas por apresentar atividade antibactericida e nematicida. Com base nos resultados, o extrato de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) se destacou apresentando um grande potencial para o controle de *M. javanica*. Portanto há

necessidades de novos estudos *in vivo* sobre a ação nematicida para a comprovação de sua efetividade.

PALAVRAS-CHAVE: Nematoides das galhas; nematicidas naturais; metabólitos secundários.

ABSTRACT

LOPES, LORENA NATACIA DA SILVA. Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, agosto de 2017. **Controle de *Meloidogyne javanica*: Efeito *in vitro* de Extratos de Plantas Nativas do Cerrado.** Orientador: DSc. Rodrigo Vieira da Silva.

METHANOL extracts from five species of plants native to the Cerrado of Goiás were analyzed: mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) And lobeira (*Solanum lycocarpum* A.St.-Hil) *in vitro* for the control of *Meloidogyne javanica*. They analyzed the following concentrations: 0; 12.5; 25; 50 and 100 mg L⁻¹ of the methanol extracts. In tubes and then in Petri dishes were placed the suspension containing 200 second nematode juveniles (J2) together with the extracts concentrations, incubated in a growth chamber at 25 ° C. After 48 hours quantification of live J2 was performed, that is, those that cross the filter paper placed on the Petri plates under a Photonic microscope. The quantification of J2 was performed with the help of the Peters chamber. There was a significant difference between the extracts that were efficient in causing the mortality of the J2 of *M. javanica*. The extract that caused the highest mortality of J2 was barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), 80% in concentration of 100 mg L⁻¹. Regardless of the extracts, the best concentrations were higher than 50 mg L⁻¹ and 100 mg L⁻¹. This effect was probably due to the presence of secondary metabolites belonging to the important classes, such as steroids, simple phenols, flavonoids, flavanones, flavanonols, saponins and tannins substances known to have antibactericidal and nematicidal activity. Based on the results the barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), extract showed a great potential for the control of *M. javanica*. Therefore, there is a need for new *in vivo* studies on nematicidal action to prove its effectiveness.

KEYWORDS: Root-knot nematodes; natural nematicides; secondary metabolites.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado brasileiro vem sofrendo um acelerado processo de degradação, provocado principalmente pela rápida expansão da agropecuária, iniciada na década de 1970 (RIBEIRO; GALIZONI, 2005). Ainda há necessidades de estudos voltados para a identificação de plantas úteis do bioma Cerrado, principalmente quando comparadas à grande diversidade existente e o tamanho da área ocupada. É relevante considerar que os recursos disponíveis na natureza, uma vez extintos, estarão indisponíveis para pesquisas futuras. Entre esses pode se considerar os recursos oferecidos pelo efeito de extratos vegetais no controle de nematoides (RATTER et al., 1997).

Um fator relevante sobre o uso de extratos botânicos é a existência de diferentes técnicas de aplicação via solo e via foliar. Ressalta-se que o estudo da aplicação destes extratos via solo tem resultados significativos no controle de fitonematoides (GARDIANO et al., 2008).

Os nematoides causam danos em diversas culturas, e os prejuízos estão relacionados com a densidade populacional destes vermes. O controle químico com o uso de nematicidas, na maioria das vezes, eleva o custo de produção e possui alta toxicidade. Além disso, vários nematicidas não possui registro específico, nem eficiência garantida. Dentre as estratégias de manejo, o controle alternativo com o uso de substâncias de plantas nativas do Cerrado torna-se uma opção viável no controle populacional dos fitonematoides, uma vez que estas plantas possuem substâncias com potencial atividade nematicida. Nesse contexto, a utilização de extratos vegetais pode tornar-se uma medida viável, principalmente para pequenas áreas de cultivo (GARDIANO et al., 2011).

Com base no exposto, objetivou-se avaliar, *in vitro*, o efeito do extrato de plantas nativas do Cerrado no controle de *Meloidogyne javanica*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bioma Cerrado

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, perdendo em extensão de área apenas para a Amazônia, e é considerado a última fronteira agrícola do planeta (BORLAUG, 2002). Além disso, constitui-se um dos biomas mais antigos e ricos do planeta em formas de vidas. A flora, a fauna e a cultura existentes fazem desse bioma uma das mais importantes regiões naturais a serem preservadas para as futuras gerações (WWF, 2017).

A vegetação natural do Cerrado é caracterizada por algumas espécies dominantes, pertencentes principalmente às famílias Fabaceae, Poaceae, Asteraceae, Rubiaceae, Arecaceae e Cyperaceae (GOODLAND, 1970). Plantas pertencentes a essas famílias botânicas são encontradas em maior concentração e biodiversidade vegetal, representadas por diferentes fisionomias, como o Cerrado *sensu stricto*, cerradão, campo limpo, campo sujo, matas ciliares, matas galerias e veredas, campo e cerrado ruprestre (CARES; HUANG, 2008; EITEN, 1993; COUTINHO, 1978).

No Brasil, esse bioma se destaca, dentre outros motivos, pela importância que exerce na manutenção de bacias hidrográficas brasileiras, como as dos rios Paraná, São Francisco, Araguaia e Tocantins, e também por exercer papel de sumidouro dos gases de efeito estufa. Todavia, a consagração como área de expansão agropecuária confere ao bioma uma posição de suma importância no cenário econômico brasileiro, principalmente na produção de grãos e pecuária extensiva para a exportação (RATTER et al., 1996).

Ao longo das últimas quatro décadas, o Cerrado tornou-se a maior fonte brasileira de produção de soja, arroz, milho, cana-de-açúcar e algodão. Associado a isso, serve de área de pastagem para a maior parte do rebanho de gado do país. Cerca de 80%

da sua área original já foi alterada de alguma forma, restando apenas 20% de vegetação em estágio primário. Cerca de 5% do bioma encontra-se em unidades de conservação, restando somente 2,2% de proteção integral (KLINK; MOREIRA, 2002; MYERS et al., 2000).

2.2 Nematoides do gênero *Meloidogyne*

O gênero *Meloidogyne* faz parte da classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, infraordem Tylenchomorpha, superfamília Tylenchoidea e família Meloidogynidae (KARSEN; MOENS, 2006). As espécies do gênero *Meloidogyne* descrita por Goeldi (1887) constituem uma pequena parte do filo Nematoda, que compreendem os nematoides em geral, incluindo os parasitas do homem, dos animais e de plantas, além de espécies de vida livre presentes no solo, água doce e no mar (MAGGENTI, 1981).

A espécie foi relatada pela primeira vez em uma viagem ao Brasil realizada pelo suíço Jobert, quando ele procurava identificar um problema que causava a queda da produtividade nos cafezais no estado do Rio de Janeiro no ano de 1877, uma possível doença que provocava o engrossamento das raízes do cafeeiro, inclusive levando diversas plantas a morte em função do nível de parasitismo (FERRAZ; MONTEIRO, 1995).

Os nematoides das galhas radiculares *Meloidogyne* spp. alimentam-se de células vegetais modificadas, encontradas no interior das raízes das plantas, ocasionadas pelas substância injetadas pelos nematoides, por meio de seu estilete. Este parasitismo induz a formação de galhas ‘engrossamentos’ resultante da hipertrofia e hiperplasia das células ao redor do sítio de alimentação, o que caracteriza seu nome popular (MOURA, 1997). Existem vários fitonematoides que causam danos às culturas agrícolas, mas os do gênero *Meloidogyne* são seguramente os de maior importância na agricultura mundial, inclusive no Brasil, por constituir o grupo de fitoparasitas com mais de 100 espécies descritas e mais de 2000 plantas hospedeiras. (MOENS et al., 2009; SASSER; FRECKMAN, 1987).

O ciclo de vida destes fitonematoides tem uma duração média entre 24 e 35 dias, com faixa ideal de temperatura de 25 a 30 °C. Essa etapa é representada por seis estádios fenológicos: ovo, quatro juvenis (J1, J2, J3, J4) e adulto (BLUM, 2006).

O ciclo se inicia com a deposição dos ovos pela fêmea (cerca de 500 ovos), que são envoltos em uma matriz gelatinosa, cuja função é a de protegê-los da dessecação. Esses ovos são depositados em um único local da raiz, em meio ao parênquima cortical. O desenvolvimento embrionário e a formação do juvenil dentro do ovo é o período denominado de primeiro estágio juvenil (J1); ainda dentro do ovo, ele passa pela primeira ecdise, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J2), que eclode devido a pressão causada pelo estilete, e também pela ação de enzimas produzidas nas glândulas esofagianas, liberadas via canal do estilete. O J2 se move no solo a procura da raiz onde irá se alimentar, sendo esta procura ao acaso e também guiada por algumas substâncias exsudadas da raiz do hospedeiro. Posteriormente, o J2 penetra na raiz e move-se entre as células, em direção ao córtex, região de diferenciação celular. Contornando a barreira formada pela endoderme, migra em direção à ponta da raiz, até a região meristemática apical onde se fixa e inicia a alimentação. Assim, a parede celular é puncionada pelo estilete que injeta secreções das glândulas esofagianas, que expandem as células do cilindro vascular, aumentando as taxas de divisão celular no periciclo. Isso leva a formação das células gigantes e próximas a essas células ocorre a hiperauxina, promovendo a hiperplasia e hipertrofia. Essas células gigantes, denominadas de células nutridoras, são as responsáveis pelo sustento dos J3 e J4. Posteriormente, os J4 saem da raiz, movem-se livremente no solo e ficam sem se alimentar, permanecendo algumas fêmeas no solo. Dependendo do tipo e do modo de reprodução das espécies, o macho pode procurar por uma fêmea e acasalar-se, permanecendo no solo até à morte. A reprodução desse gênero pode ocorrer por anfimixia ou partenogênese, a depender da espécie em questão (ABAD et al., 2009; MOENS et al., 2009; MOENS, 2006; TIHOHOD, 2000; EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

Figura 1: Esquema ilustrativo do ciclo de vida dos nematoides do gênero *Meloidogyne*



Fonte: Elaborado pela autora.

Em algumas plantas hospedeiras, as galhas podem ser pequenas ou insignificantes, resultando na maioria das vezes em não identificação visual do parasitismo. Sob condições ambientais normais, a maioria dos adultos presentes de *Meloidogyne* spp. são fêmeas. Já em condições ambientais desfavoráveis tais como elevada população de nematoides na raiz, ou até mesmo resistência da planta hospedeira, os juvenis que se desenvolveriam fêmeas, tornam-se machos, pois seu primórdio sexual se desenvolve em testículos, ao invés de ovários. Tal processo é conhecido por reversão sexual e atua como um dos mecanismos de sobrevivência, pois menos massa contendo ovos serão produzidas e o parasitismo sobre a planta parasitada torna-se menos intenso, garantindo assim a sobrevivência das fêmeas formadas (MOENS et al., 2009; FREITAS et al., 2006).

Os nematoides pertencentes a esse gênero tem dimorfismo sexual, com diferenças na forma do corpo entre machos com formatos vermiformes e fêmeas com

formas arredondadas, que são estabelecidas durante o desenvolvimento pós-embriônico. Os machos mudam de forma piriforme para vermiforme durante o quarto estágio juvenil (J4), sofrendo uma metamorfose na qual o corpo se alonga, assumindo uma forma vermiforme (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

2.3 *Meloidogyne javanica* Chitwood 1949

No ano de 1885, Treub havia descrito uma espécie de nematoide sedentário na cultura da cana-de-açúcar na Indonésia, especificamente na região da Ilha de Java, e nomeou-a de *Heterodera javanica* Treub 1885. Porém, no ano de 1949, Chitwood realizou uma revisão de *Meloidogyne* Goeldi 1887. Nesse estudo, a espécie descrita por Treub foi transferida para *Meloidogyne*, mantendo-se o nome específico, *Meloidogyne javanica* Chitwood 1949 (SANTOS, 1997).

O nematoide *Meloidogyne javanica* Chitwood 1949 (*M. Javanica*) é a segunda espécie mais comum e importante, em razão de causar danos a um elevado número de plantas hospedeiras e sua ampla distribuição geográfica. Até o momento, três raças de *M. javanica*, segundo Rammah e Hirschmann (1990), foram encontradas na literatura: raça 1, parasitando fumo, melancia e tomate; raça 2, parasitando as plantas citadas anteriormente mais o pimentão; raça 3, que parasita as mesmas plantas que a raça 1 mais o amendoim. No entanto, uma nova raça de *M. javanica* (raça 4) foi detectada pela primeira vez no Brasil, em Londrina, causando danos ao *Arachis pintoi* Krapov. & Gregory em campo. Plantas atacadas pelo nematoide tem redução de crescimento, folhas menores e amareladas, resultando em declínio da cultura (CARNEIRO et al ., 2003).

Apesar de já ter sido detectada 4 raças fisiológicas, o *M. Javanica* tem sido reportado como uma espécie que tem baixo nível de variabilidade intraespecífica. Estudos recentes realizados com sete populações provenientes de bananeiras de diferentes regiões do Brasil revelaram uma variabilidade intra-específica de aproximadamente 29,1%, que é ainda considerada baixa. Entretanto, estudos realizados com quatro populações brasileiras oriundas de *M. javanica*, tem variabilidades morfológicas, enzimáticas, fisiológicas e genéticas. A presença de quatro raças fisiológicas detectadas em *M. javanica* é outro exemplo de variabilidade intra-específica

observada nessa espécie (COFCEWICZ et al. 2004; CARNEIRO et al., 2003; CASTAGNONE-SERENO et al., 1994).

2.4 Controle de Nematoides

A maioria dos cultivos de plantas sofrem com os danos causados pelo ataque de nematoides, que acarretam prejuízos na produtividade e podem causar até a perda total. Fatores como a densidade populacional dos nematoides no solo, nível de fertilidade, umidade e a interação com outros organismos patogênicos determinam o nível de danos a cultura (TIHOHOD, 2000).

Os fitonematoides causam perdas anuais estimadas em 125 bilhões de dólares em todo o mundo, constituindo-se em um fator limitante à produção agrícola mundial. No Brasil, a quantificação de perdas não é exata, por causa das interações com outros tipos de danos provocados por pragas, doenças, fatores edafoclimáticos, presenças de plantas daninhas e inadequação de tratamentos culturais. Entretanto, há o desconhecimento da importância econômica dos nematoides, e frequentemente a omissão por partes dos produtores, que muitas vezes não dão a devida atenção quando a população de nematoides se encontra muito alta, causando assim prejuízos visíveis na produção (RITZINGER; FANCELLI, 2006; CHITWOOD, 2003).

Na literatura encontram-se descritos diferentes métodos de controle de fitonematoides. O seu manejo é uma tarefa difícil, principalmente pelas limitações da maioria dos métodos utilizados (NEVES et al., 2008). Entre as estratégias de manejo de doenças em geral, a utilização de resistência é, sem dúvida, uma das alternativas mais desejáveis, considerando sua compatibilidade com outras práticas de manejo, que não prejudicam o meio ambiente. Frequentemente, os nematologistas relacionam as respostas do hospedeiro ao parasitismo dos nematoides com a habilidade da planta em suportar a reprodução do nematoide. A definição mais utilizada de resistência é a habilidade da planta em inibir a reprodução da espécie do nematoide. Portanto, uma planta suscetível pode ser intolerante, sendo supressa devido ao parasitismo do nematoide, ou pode ser tolerante com limitado crescimento, permitindo que o nematoide se desenvolva. Esses diferentes conceitos em áreas distintas devem ser considerados para definir a resistência da planta a pragas e patógenos, os métodos utilizados para

avaliar a resistência e a natureza da interação da praga ou patógeno com o hospedeiro (RITZINGER; FANCELLI, 2006; FANCELLI, 2003).

A utilização de plantas antagonistas e/ou armadilhas em esquemas de rotação, sucessão ou plantio consorciado, torna-se uma alternativa bastante viável para o controle de nematoides. Tal método consiste no uso de plantas em que o nematoide após entrar na raiz não consiga completar seu ciclo, prejudicando assim a reprodução do patógeno. Algumas delas são capazes de fixar nitrogênio da atmosfera e todas fornecem expressivos volumes de matéria orgânica, aumentando a atividade de fungos antagonistas e melhorando as características físicas e químicas do solo (FERRAZ; VALLE, 2001). As espécies de plantas mais estudadas estão consorciadas, principalmente, em três famílias, sendo a Asteracea (Compostas) (ZAVALETA-MEJIA; GOMEZ, 1995), Poaceae (Gramineas) (DIAS-ARIEIRA et al., 2003), e Fabaceae (Leguminosas) (ROSA et al., 2004).

Contudo, o controle biológico é considerado uma alternativa viável para o manejo de fitonematoides, por minimizar os danos ambientais e ser mais vantajoso economicamente, quando comparado aos métodos químicos em pequenas áreas. O uso de microrganismos é uma prática eficiente no manejo de fitonematoides. Vários organismos são considerados inimigos naturais de fitonematoides, tais como fungos, bactérias, nematoides predadores e microácaros, que podem ter potencial para o controle biológico. Dentre os inimigos naturais dos nematoides fitoparasitos, os fungos destacam-se como o grupo mais diversificado e estudado dentre os agentes de controle biológico. O fungo *Paecilomyces lilacinus* e as bactérias *Pasteuria* spp e *Bacillus subtilis* têm se mostrado eficientes agentes para controle de *Meloidogyne* spp. (COIMBRA; CAMPOS, 2005; MOURA, 1997).

A rotação de culturas para espécies do gênero *Meloidogyne* é muito difícil, devido à sua grande diversidade, pois esse gênero possui mais de 2000 plantas hospedeiras, com destaque para as espécies *M. incognita* e *M. javanica* (FERRAZ et al., 2010).

O controle químico é considerado uma estratégia de manejo eficaz em alguns casos, mas inviável economicamente devido ao alto custo, o que o torna desvantajoso, principalmente para pequenas áreas de cultivo agrícola. Além disso, em excesso, produtos químicos são extremamente tóxicos ao homem e ao meio ambiente, o que o torna uma desvantagem em relação ao seu uso.

2.5 Uso de extratos de plantas

Plantas que tem efeitos antagônicos a nematoides são promissoras para o controle alternativo desse grupo de patógenos, podendo ser utilizadas em rotação de culturas, plantio intercalar ou aplicadas como tortas ou extratos vegetais (OLIVEIRA et al., 2005). A utilização de extratos poderá ser uma ferramenta adicional para o uso integrado com outras práticas dentro do manejo de nematoides (FERRAZ et al., 2010).

A probabilidade de controle de fitonematoides via extratos ou óleos de origem vegetal com propriedades nematicidas é estudada por diversos pesquisadores em todo o mundo, testando-se metabólitos e componentes químicos de muitas plantas para o controle do nematoide das galhas (CHITWOOD, 2002; FERRIS; ZENG, 1999).

As plantas nas quais encontram-se mais estudos relacionando ao preparo de extratos ou para a extração de óleos essenciais com propriedades nematicidas são: *Mucuna pruriens* (mucuna); *Tagetes* spp. (cravo-de-defunto); *Crotalaria* spp. (sendo a *C. juncea* a mais estudada); *Azadirachta indica* A. Juss (nim); diversas Poaceas (antiga gramíneas); *Ricinus communis* (mamona); brássicas e algumas plantas com características medicinais e aromáticas (FERRAZ et al., 2010).

Foi analisada a ação de compostos extraídos de folhas e de sementes de mucuna-preta, por meio do uso de extratos aquosos a 0,1 g mL, que foram pulverizados em plantas de tomateiro, nas quais verificou-se uma redução significativa do número de galhas e de ovos nas plantas inoculadas com *M. incognita* de 26,5% e 29,7%, respectivamente, em relação à testemunha que foi pulverizada apenas com água destilada (LOPES et al., 2005). Em outro estudo, analisou-se em experimentos *in vitro* a inibição e a eclosão de J2 de *M. incognita* em 100%, logo após 48 horas de exposição dos juvenis, nas diferentes concentrações 6,6%, 10%, 13,3%, 16,6%, 20%, do extrato aquoso oriundo de folhas de *T. patula* (cravo-de-defunto) (BHARADWAJ; SHARMA 2007).

Foram analisados os extratos aquoso e metanólico de *Crotalaria juncea*, sendo utilizado o aquoso na concentração de 50 g L⁻¹, o que causou a morte de alguns juvenis. No entanto, observou-se melhores resultados nos extratos metanólicos, porque os compostos com propriedades nematicidas presentes naquela espécie são mais solúveis em metanol do que em água, devido às suas propriedades hidrofóbicas (AMARAL et al., 2002).

Conhecido popularmente como nim ou amargosa, a *Azadirachta indica* atrai a atenção de muitos pesquisadores por conter propriedades químicas como esteroides, terpenoides e glicosídeos, que podem controlar mais de 220 espécies, dentre elas insetos, fungos, bactérias, fitovírus e nematoides. Houve redução significativa no número de galhas e no número de ovos de *M. javanica*, quando aplicado ao solo o extrato aquoso de folhas de nim nas concentrações de 1,5% e 3,0%. Observou-se em testes *in vitro*, que o extrato bruto de nim na concentração de 0,25 g mL⁻¹, reduziu em 100% a eclosão e causou 100% de mortalidade de J2 de *M. incognita* (JAVED et al., 2008; CHITWOOD, 2002; ADEGBITE; ADESIYAN, 2005).

O capim-limão, também conhecido como capim santo, capim cheiroso ou capim-cidreira *Cymbopogon citratus*, reduziu em até 44,2% a reprodução de *M. javanica*, quando utilizado o seu extrato aquoso na concentração de 0,1g mL⁻¹. O capim-limão pertence a família Poaceae, e os principais componentes do seu óleo essencial são o citral, terpenos e geraniol (GARDIANO et al., 2009; NEGRELLE; GOMES, 2007). Segundo Sangwan et al. (1990), o composto geraniol, possui características com ação nematicida em J2 de *M. javanica*, *H. cajani* Koshi, (1967) e *Tylenchulus semipenetrans* Cobb (1914).

Em estudos foram analisados extratos metanólicos obtidos a partir de raízes de *Panicum maximum* cv. Guiné, na concentração de 0,1 g mL⁻¹, obtendo uma redução da eclosão dos nematoides *M. javanica* e *Heterodera glycyne* (DIAS-ARIEIRA et al., 2003). Amaral et al. (2002) verificaram que, o extrato aquoso obtido a partir das folhas de *Brachiaria decumbens*, na concentração de 4 gL⁻¹, apresentou efeito tóxico sobre J2 de *M. exigua*.

Algumas plantas pertencentes à família Brassicaceae possuem determinados compostos químicos em sua composição, como glicosinolatos e isotiocianatos, que apresentam atividade nematicida (CHITWOOD, 2002). Foi avaliado o efeito *in vitro* do extrato cetônico de mostarda *Brassica campestris* L., e verificou-se que ocorreu redução de 47% na taxa de eclosão de J2 de *M. javanica*, em comparação com o tratamento controle, composto somente por água (NEVES et al., 2005).

Estudos avaliaram o efeito do uso de extrato aquoso de 153 plantas documentadas na medicina chinesa tradicional, sendo que 64 delas foram citadas como anti-helmínticas, e, dentre essas, 36 foram efetivas no controle *in vitro* de *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus vulnus* (FERRIS; ZHENG 1999).

Foi analisado o efeito do extrato aquoso de folhas de hortelã, *Mentha piperita* pertencente a família das *Lamiaceae* na concentração de 2 gL⁻¹, que resultou na ocorrência de 45% de mortalidade sobre o nematoide *Scutellonema bradys*, em inhame (COIMBRA et al., 2006).

Espécies de manjerição *Ocimum* spp., também pertencentes a família das *Lamiaceae*, são citadas por conter substâncias com ações nematocidas, principalmente as espécies *O. sanctum* L., *O. basilicum* L. e *O. americanum* L. (CHITWOOD, 2002). Em estudo realizado por Lopes et al., (2005) verificou-se uma redução significativa de 32% no número de galhas causadas por *M. incognita* em raízes de tomateiro quando utilizado o extrato aquoso de manjerição *O. basilicum* a 0,1g mL⁻¹.

2.6 Referências Bibliográficas

ABAD, P.; CASTONONE SERENO, P.; ROSSO, M. N.; ENGLER, J. A.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: Perry R., MOENS M., STARRJ. L., eds. Root-Knot Nematodes, Cambridge, USA, **CABI Internacional**, p.163-181, 2009.

ADEGBITE, A. A.; ADESIYAN, S. O. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 1, n. 1, p. 18-21, 2005.

AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P.; CARVALHO, D. A. Efeitos de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidades de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n.1, p. 43-48, 2002.

BORLAUG, N. E. Feeding a world of 10 billion people: the Miracle ahead. In: r. Bailey (ED.). **Global warming and other Eco-myths**, Competitive enterprise institute, Roseville, EUA. p. 29-60, 2002.

BLUM, L. E. B. Fitopatologia: O estudo das doenças de plantas. Brasília: **Otimismo**, p.258, 2006.

BHARADWAJ, A.; SHARMA, S. Effect of some plant extracts on the hatch of *Meloidogyne incognita* eggs. **International Journal of Botany**, v. 3, n. 3, p. 312-316, 2007.

CARES, J. E.; HUANG, S. P. Comunidades de nematoides de solo sob diferentes sistemas da Amazônia e Cerrados brasileiros. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussaard L (eds.) **Biodiversidade do solo em Ecossistemas Brasileiros**. Universidade Federal de Lavras - MG. p. 409-444, 2008.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; NEVES, D. I. N.; ALMEIDA, M. R. A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 219-221, 2003.

CASTAGNONE-SERENO P; VANLERBERGHE-MASUTTI F; LEROY F. Genetic Polymorphism between and within *Meloidogyne* species detected with RAPD markers. **Genome**, v.37, p. 904-909,1994.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P. *QUÉNÉHERVÉP*. Enzyme phenotypes and genetic diversity of root- knot nematodes parasitising *Musa* in Brazil. **Nematology**, v. 6, p. 85-95, 2004.

COUTINHO, L.M. O conceito de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.1, p.17-23, 1978.

COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; SOUSA, C. S.; RIBEIRO, F. L. B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1209-1211, 2006.

COIMBRA, J. L.; CAMPOS V. P. Efeito de exsudatos de colônias e de filtrados de culturas de actinomicetos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p.232-238, 2005.

CHITWOOD, D. J. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture- Agricultural Research service. **Pest Management Science**, v.59, p. 748-753, 2003.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERRAZ, S.; DEMUNER, A. J.; FREITAS, L. G. Eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* frente a extratos químicos dos sistemas radiculares de *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum* cv Guiné. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 87-92, 2003.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root- Knotnematode. *Meloidogyne* sp. And races. In: Nickle, W. R. ed. **Manual of agriculture nematology**. New York, p. 191-274, 1991.

EITEN, G. VEGETAÇÃO DO CERRADO. IN: NOVAES PINTO, M. (Org.). **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. Brasília: Editora da UnB. p. 17-73, 1993.

FANCELLI, M. **Resistência e alternativas de controle de pragas**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 5. WORKSHOP DO GENOMA *MUSA*, 1. Paracatu. Anais... Cruz das Almas: Gráfica e Editora Nova Civilização. p.127- 133, 2003.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoídeos**. Viçosa: UFV, 2010. 245 p.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: Bergamim Filho, A., Kimati H. & Amorim L. **Manual de Fitopatologia**, v.1: Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres, cap. 8, p. 168-201, 1995.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, n.3, p.241-263, 1999.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. 3ª edição. Ed. UFV. Viçosa - MG. 2006.

GARDIANO, C. G.; MURAMOTO, S. P.; KRZYWANOWSKI, A. A.; ALMEIDA, W. P.; SAAB, O. J. G. A. Efeito de Extratos Aquosos de Espécies Vegetais Sobre a Multiplicação de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.78, n.4, p.553-556, 2011.

GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X.; FREITAS, L. G. Avaliação de extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p.551-556, 2009.

GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; CARVALHO, S. L.; FREITAS, L. G. Avaliação de extratos aquosos de espécies vegetais, aplicados via pulverização foliar, sobre *Meloidogyne javanica*. **Summa Phytopathologica**, v.34, n. 4, p.376-377, 2008.

GOODLAND, R.J.A. Plants of the Cerrado vegetation of Brazil. **Phytologia**, v. 20, p.57-80, 1970.

JAVED, N.; GOWEN, S. R.; INAM-UL-HAQ, M.; ABDULLAH, K.; SHAHINA, F. Systemic and persistent effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations against root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica* and their storage life. **Crop Protection**, v. 26, p. 911-916, 2008.

KARSSSEN, G; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: Perry, R.L.; Moens, M. (eds.) **Plant Nematology**. Cambridge, MA, USA, p. 59-90, 2006.

KLINK, C. A. & MOREIRA, A. G. Past and current human occupation, and land use. In: OLIVEIRA, P. S. & MARQUIS, R. J. (eds). The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna. **Columbia University Press**, New York. 69-88, 2002.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X. Efeito de extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-74, 2005.

MAGGENTI, A. General nematology. New York: **Springer Verlag**. p.372, 1981.

- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for consevation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.
- MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. **Meloidogyne species a diverse group of novel and important plant parasites**. Pp. 483 *In*: Perry, R. N.; Moens, M.; Starr, J. L. (eds). **Root-knot nematodes**, Wallingford, UK. p. 1-17, 2009.
- MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. **Meloidogyne species a diverse group of novel and important plant parasites**. *In*: Perry, R. N, Moens, M; Starr, J. L. (Eds) **Root-knot nematodes**, Cambridge, MA, USA, CABI International. p. 1-17, 2006.
- MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. *In*: LUZ, W. C.(Ed.): **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 209-244, 1997.
- NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 9, n. 1, p. 80-92, 2007.
- NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; FABRY, C. F. S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERREIRA, P. A.; FERRAZ, L. O.; DHINGRA, O. D.; FERRAZ, S. Ação Nematicida de Óleo, Extratos Vegetais e de Dois Produtos à Base de Capsaicina, Capsainóides e Alil Isotiocianato sobre Juvenis de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, 2008.
- NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FABRY, C.F.S.; COUTINHO, M. M.; DHINGRA, O. D.; FERRAZ, S.; DEMUNER, J. A. Atividade de extratos de alho (*Allium sativum*), mostarda (*Brassica campestris*) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) sobre eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 273-278, 2005.
- OLIVEIRA, F. S.; ROCHA, M. R.; REIS, A. J. S.; MACHADO, V. O. F.; SOARES, R. A. B. Efeito de produtos químicos e naturais sobre a população de nematóide *Pratylenchus brachyurus* na cultura da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, p. 171-178, 2005.
- RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F. & BRIDGEWATER, S.:“The brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity”. **Annals of Botany**, 80: p. 223-230,1997.
- RATER, J. A; BRIDGWATER, S.; ATKINSON, R.; RIBEIRO, J. F. Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado Vegetation II. Comparison of the woody vegetation of 98 areas. **Edinburgh Jornal of Botanics**, v. 53, p.153-180, 1996.
- RAMMAH, A.; HIRSCHMANN H. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.22, p. 56-68, 1990.
- RIBEIRO, E. M e GALIZONI, F. M. “Expansão da agropecuária e terras comuns: quatro casos nos cerrados de Minas Gerais”. *In*: Anais do XLIII Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural (SOBER), Ribeirão Preto, p. 19, 2005.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.

ROSA, R. C. T.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Efeitos do uso de *Crotalaria juncea* e carbofuran em fitonematóides ectoparasitos de cana-de-açúcar. **Fitopatologia Brasileira**. v. 29, p. 447-449, 2004.

SANTOS, J. M. **Estudos das principais espécies de *Meloidogyne Goeldi* que infectam o cafeeiro no Brasil com descrição de *Meloidogyne goeldii* sp.** Botucatu, 1997. 153 f. Tese de Doutorado em Proteção de Plantas. Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista.

SANGWAN, N. K.; VERMA, K. K.; DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of some essential plant oils. **Pesticide Science**, v. 28, p. 331-335, 1990.

SASSER, J. N. & FRECKMAN, D. W. A World perspective on nematology: the role of the society. In: J. A. Veech & D. W. Dickson, (Ed.) **Vistas on Nematology**. Maryland: Society of Nematologists, p. 7-14, 1987.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 372 p.

WWF. World Wide Fund for Nature, 2017. Disponível em: < www.wwf.org.br>. Acesso em: 16 mar. 2017.

ZAVALETA-MEJÍA E; GOMEZ RO. **Effect of *Tagetes erecta* L. in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) intercropping on some tomato pests.** *Fitopatologia* v.3, p.35-46, 1995.

3. CAPÍTULO I

Controle de *Meloidogyne javanica*: Efeito *in vitro* de extratos de plantas nativas do Cerrado

(Normas de acordo com a Revista Brasileira de Ciências Agrárias)

RESUMO

Os metabólicos secundários presentes nas plantas são constantemente estudados a fim de se analisar sua atividade biológica. Considerando a importância desses estudos, objetivou-se avaliar a mortalidade *in vitro* de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*, quando utilizado extratos metanólicos de cinco espécies de plantas nativas do Cerrado goiano: mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes.), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) e lobeira (*Solanum lycocarpum* A.St.–Hil) *in vitro*. Os extratos das plantas foram obtidos a partir da maceração a frio, e posteriormente levados ao evaporador rotativo e depois foram fracionados nas concentrações de 0; 12,5; 25; 50 e 100 mg L⁻¹, dos diferentes extratos metanólicos. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em condições de laboratório, utilizando tubos de ensaio e, posteriormente, em placas de Petri. Foram pipetados 1,5 mL da solução com as respectivas concentrações e mais 1 mL da suspensão contendo em média 200 J2 de *M. javanica*, formando, um volume total de 2,5 mL. Após 24 horas, os tubos foram vertidos em placas de Petri e mantidos por mais 24 horas, quando foi realizada a quantificação dos J2 vivos, ou seja, aqueles que atravessaram o papel nas placas de Petri e continuavam móveis. A quantificação foi realizada com auxílio da câmara de Peters, sob microscópio fotônico. Houve diferença significativa entre os extratos e suas concentrações que foram eficientes em causar a

mortalidade dos J2 de *M. javanica*. O extrato de barbatimão, (*Stryphnodendron adstringens*) destacou-se em relação aos demais pela elevada taxa de mortalidade de juvenis, sendo que na concentração de 100 mg L⁻¹ resultou em mortalidade de 80%, enquanto que o extrato de lobeira (*Solanum lycocarpum* A.St.-Hil) foi o de mais baixa efetividade, com apenas 10% de mortalidade na mesma concentração. A ação nematicida foi detectada nos extratos metanólicos, causando a mortalidade de J2 de *M. javanica* em condições em in vitro. Entretanto, novos estudos deverão ser realizados para validar essa atividade biológica in vivo dos extratos de plantas nativas do Cerrado sobre os nematoides.

Palavras-chave: Nematoides das galhas, nematicidas naturais, metabólitos secundários.

Control of *Meloidogyne javanica*: In vitro effect of extracts of plants native to the Cerrado

ABSTRACT

The secondary metabolites present in plants are constantly studied in order to analyze their biological activity. Considering the importance of these studies, the objective was to evaluate the in vitro mortality of juveniles of the second stage (J2) of *Meloidogyne javanica*, when using methanolic extracts of five species of plants native to Cerrado goiano: mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), barbatimão (*Stryphnodendron astringens* (Mart.) Coville), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) and lobeira (*Solanum lycocarpum* A.St.-Hil) in vitro. The extracts of the plants were obtained from the cold maceration and later brought to the rotary evaporator after it was fractionated in the concentrations of 0; 12.5; 25; 50 and 100 mg L⁻¹ of the different methanolic extracts. The experiment was installed in a completely randomized design under laboratory conditions using test tubes and later in Petri dishes. 1.5mL of the solution was pipetted with the respective concentrations and another 1mL of the suspension containing on average 200 æl of *M. javanica* forming a total volume of 2.5mL. After 24 hours, the tubes were poured into Petri dishes and held for another 24 hours when quantification of the living J2 was performed, those that crossed the paper in the Petri dishes and remained mobile. The quantification was performed with the help of the Peters chamber, under a photonic microscope. There was a significant

difference between the extracts and their concentrations that were efficient in causing mortality of the J2 of *M. javanica*. The barbatimão extract, *Stryphnodendron adstringens*, was outstanding in relation to the others due to the high mortality rate of juveniles. At 100 mg L⁻¹ concentration, 80% mortality was obtained, whereas the lobeira extract (*Solanum lycocarpum* A.St.- Hil) was the lowest effective, with only 10% mortality at the same concentration. The nematicidal action was detected in methanolic extracts causing J2 mortality of *M. javanica* under in vitro conditions. However, new studies should be carried out to validate this in vivo biological activity of extracts of Cerrado native plants on nematodes.

Key words: Root-knot nematodes, natural nematicides, secondary metabolites.

INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é o segundo maior bioma do Brasil, com aproximadamente 205 milhões de hectares, declarado como a savana mais rica do mundo em biodiversidade, com a presença de diversos ecossistemas. Abrange cerca de 20% do território nacional, e nesse espaço territorial, encontram-se as nascentes das três maiores bacias hidrográficas da América do Sul (Amazônica/Tocantins, São Francisco e Prata), o que resulta em um elevado potencial aquífero, o que favorece a sua biodiversidade (MMA, 2017; Myers et al., 2000).

Além dos aspectos ambientais, o Cerrado tem grande importância social. Muitas populações sobrevivem de seus recursos naturais e detêm um conhecimento tradicional de sua biodiversidade. Mais de 220 espécies têm uso medicinal e mais de 416 delas podem ser usadas na recuperação de solos degradados, além de servirem de proteção contra a erosão. Mais de 10 tipos de frutos comestíveis são regularmente consumidos pela população local e vendidos nos centros urbanos, como os frutos do pequi (*Caryocar brasiliens*, Camb.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), bacupari (*Salacia crassifolia* Mart.), cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* St. Hill), araticum (*Annona crassifolia* Mart.) e as sementes do barú (*Dipteryx alata* Vogel.) (MMA, 2017).

As diversas tipologias vegetacionais existentes no Cerrado são adaptadas a solos distróficos com teores elevados de alumínio e pertencentes às classes dos Cambissolos, Latossolos e Neossolos Quartzarênicos (Toledo et al., 2009).

Há relatos da ocorrência de vários gêneros de nematoides em solos do Cerrado, tanto em áreas nativas quanto em cultivadas. Os nematoides são organismos pertencentes ao filo Nematoda, que possuem tamanho reduzido, variando de 0,3 a 3,0mm de comprimento, e de 15 a 50µm de diâmetro. Possuem coloração quase transparente, por isso, muitas vezes escapam a nossa percepção. Esses vermes movimentam-se como serpentes e habitam solos, rios, lagos e mares, podendo ser encontrados desde regiões extremamente frias, até em regiões de deserto (Freitas et al., 2006).

Em estudo realizado por Cares et al. (1991) comparou-se a predominância de gêneros de nematoides em campo Cerrado, mata de galeria e campo úmido. Espécimes dos gêneros *Aorolaimus*, *Coslenchus*, *Criconema*, *Discocriconemella*, *Hemicriconemoides* e *Trophotylenchulus* foram encontrados com maior frequência em áreas de Cerrado *sensu stricto*, enquanto os dos gêneros *Meloidogyne*, *Hemicycliophora*, *Aphelenchoides*, *Malenchus*, *Helicotylenchus* e *Ditylenchus* em mata de galeria. Nos campos úmidos, os nematoides encontrados com maior frequência foram os dos gêneros *Caloosia*, *Criconemella*, *Filenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema* e *Meloidogyne*. As populações de alguns nematoides foram maiores nas áreas cultivadas do que nas áreas nativas, ou seja, se adaptaram bem às novas condições.

O gênero *Meloidogyne* Goeldi 1887 é conhecido como nematoide das galhas radiculares. Algumas espécies desse gênero são amplamente disseminadas e capazes de parasitar plantas superiores, de diferentes famílias botânicas. Essas espécies constituem-se do grupo de fitoparasitas mais importantes do mundo, com mais de 100 espécies descritas e mais de 2000 plantas hospedeiras, representando uma grande ameaça à produção agrícola mundial (Perry et al., 2009; Karssen et al., 2006; Moura, 1996).

O manejo de nematoides do gênero *Meloidogyne* é bastante difícil devido à amplitude de hospedeiros, sua alta capacidade reprodutiva e sua adaptação a diferentes condições de ecossistemas. Por essas razões, métodos alternativos de controle tem sido cada vez mais estudado, visando facilitar o manejo (Lopes et al., 2008).

Existem fatores positivos na utilização de extratos vegetais de plantas do Cerrado no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*, com vantagens em relação aos nematicidas sintéticos. Diversos pesquisadores já demonstraram o efeito de extratos vegetais no controle de nematoides, utilizando-se principalmente de plantas medicinais para o controle do nematoide de galhas (Frighetto et al., 1994; Silva, 1993; Silva & Ribeiro, 1989; Scramin et al., 1987).

Outra vantagem quanto a utilização de substância nematicida de origem vegetal é que os próprios agricultores podem coletá-las, prepará-las e aplicá-las em reboleiras infestadas com nematoides. Tais compostos também podem resultar em produtos comerciais potencialmente menos tóxicos (Lopes et al., 2005).

De forma geral, os compostos químicos presentes em plantas podem atuar diretamente inibindo a eclosão de ovos ou causando mortalidade de juvenis de nematoides presentes no solo, interferindo diretamente na densidade populacional. Assim, para o resgate do uso de plantas baseado na experimentação empírica, deve haver um grande esforço para a formatação das informações científicas obtidas e, para tanto, objetivou-se avaliar o efeito de substâncias de plantas nativas do Cerrado no controle da mortalidade de Juvenis de segundo estágio de *M. javanica in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local dos experimentos

O experimento foi conduzido no laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, localizado no município de Morrinhos, Estado de Goiás, situado nas coordenadas geográficas 17° 43`S e 49° 08`W, a uma altitude de aproximadamente 850 metros.

A identificação das espécies nativas do Cerrado em forma de exsicatas foi realizada pela Dra. Rosana Romero, do Instituto de Biologia Herbarium Uberlandense (HUFU), da Universidade Federal de Uberlândia.

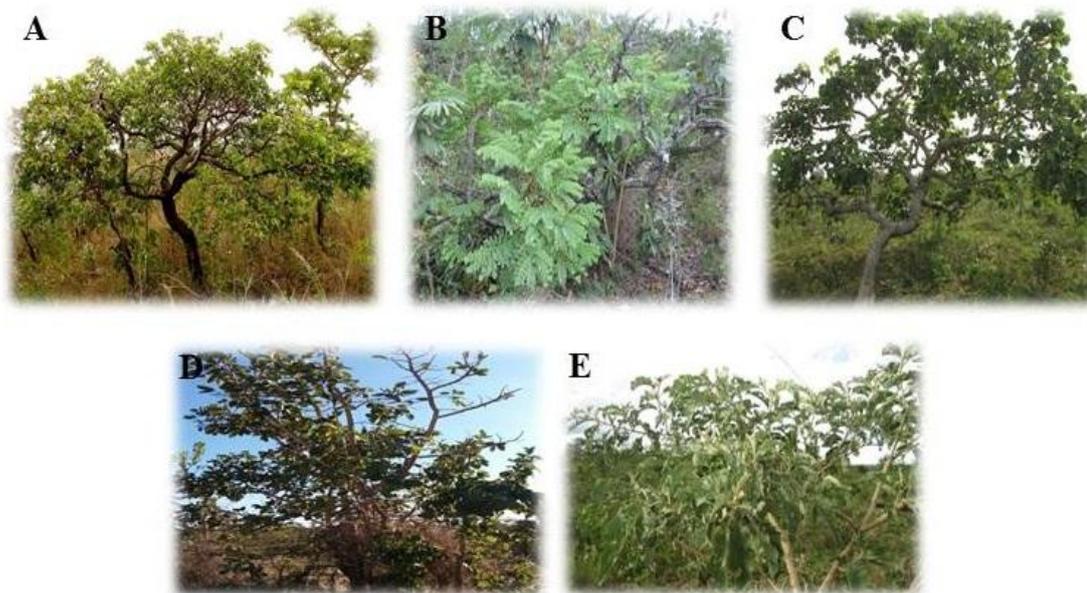
Material Vegetal

Foram coletadas folhas das seguintes espécies: mangaba (*Hancornia speciosa*), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), pequi (*Caryocar brasiliense*), jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*) e lobeira (*Solanum lycocarpum*) (Figura 1). As coletas foram feitas em dezembro de 2016, no verão, período chuvoso na área de preservação da fazenda Panamby, na região de Cristalina, Goiás, com coordenadas geográficas 16°49'59.12" de latitude sul e 47°31'21.78" de longitude oeste, à 980 m de altitude.

A planta de lobeira (*Solanum lycocarpum*) a qual foram coletadas as folhas, estava em estágio de florescimento. A de pequi (*Caryocar brasiliense*) estava em frutificação e

as demais em estágio de desenvolvimento. As maiores folhas foram coletadas de uma única planta, na parte superior da copa.

Figura 1: Plantas nativas do Cerrado que foram coletadas as folhas para obtenção dos extrato: A) mangaba (*Hancornia speciosa*, Gomes.); B) barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*, (Mart.) Coville); C) pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.); D) jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*, Mart.); E) lobeira (*Solanum lycocarpum*, A.St.–Hil) Morrinhos-GO, 2017.



Fonte: Autora.

Obtenção do extrato metanólico bruto

Após a coleta, as folhas foram separadas dos galhos e submetidas ao processo de higienização em água corrente, e o excesso de água foi retirado naturalmente ao ar livre. Em seguida, acondicionaram-nas em sacos de papel e secou-as, em estufa de circulação forçada (marca: Tecnal[®]) por 48 horas, a uma temperatura de 50 °C. O material vegetal foi triturado em moinho de facas (marca: Fortinox[®]). O pó obtido foi armazenado por 2 semanas em temperatura ambiente, em frascos cor âmbar.

Retirou-se amostras de 100 gramas de cada espécie e essas foram maceradas a frio. Posteriormente, adicionou-se 500 mL de etanol 95%, mantendo-as assim por 7 dias. Filtrou-se a solução obtida com papel filtro quantitativo, que depois foi submetido ao evaporador rotativo (marca: Solab[®]) a temperatura de 55°C. O concentrado extraído foi retirado do balão do evaporador rotativo com metanol e colocado em frasco, onde ficou por mais 7 dias até a evaporação total do metanol (Figura 2).

Figura 2: Processo de preparo dos extratos metanólicos. A) Moinho de facas; B) Maceração a frio; C) Extração no evaporador rotativo; D) Extrato metanólico. Morrinhos-GO, 2017.



Fonte: Autora.

Obtenção dos nematoides

Os inóculos dos nematoides utilizados no experimento foram obtidos de populações puras de *M. javanica*, cedidos pelo laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos. Essas populações foram multiplicadas em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da variedade Santa Cruz 'Kada'. Para obtenção das mudas de tomateiro, as sementes foram semeadas em bandejas de isopor com 128 células, contendo substrato comercial (marca: Bioplant[®]). Quando as plantas atingiram 4 ou 5 folhas definitivas, foram transplantadas para vasos de polipropileno, com capacidade para 1 L. O substrato utilizado constituiu-se de uma mistura de solo e areia na proporção de 2:1 (v/v), previamente autoclavada, em autoclave vertical a 120 °C por uma hora e mantidas em casa de vegetação por 60 dias.

A extração dos ovos de *M. javanica* foi realizada segundo a metodologia de Boneti & Ferraz (1981). A contagem dos ovos para a calibração da suspensão (3.000 ovos/vaso) foi feita em microscópio estereoscópio, utilizando a câmara de contagem de Peters (marca: Astel[®]). Posteriormente, foram realizados 4 furos com 1 cm de profundidade, próximo ao caule do tomateiro, onde foi feita a inoculação de 4 mL contendo os ovos. Em cada furo foi colocado 1 mL (Figura 3).

Figura 3: Multiplicação do inóculo. A e B) Plantas de tomate cultivar Santa cruz ‘Kada’; C) Ovos e juvenis de segundo estágio; D) Inoculação de ovos de *Meloidogyne javanica*. Morrinhos-GO, 2017.



Fonte: Autora.

Técnicas de trabalho empregadas

Para a extração dos ovos dos nematoides foi seguido o método descrito por Boneti & Ferraz (1981). As raízes foram imersas cuidadosamente em uma vasilha com água para retirar o excesso de terra aderido a elas, fragmentadas em pedaços de 2cm e colocadas no copo do liquidificador, adicionando-se até cobri-las uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e água em um volume total de 300 mL. Elas foram trituradas na menor velocidade, durante 20s. A suspensão contida no copo foi vertida em uma peneira de 100 mesh, sobreposta a uma de 400 mesh. O resíduo da peneira de menor mesh foi descartado. Com a ajuda de uma pisseta com água, o resíduo da peneira de 400 mesh foi recolhido em um copo do tipo Becker.

Obtenção de juvenis *M. Javanica*

Para a obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2), a suspensão de ovos da população de nematoides foi vertida cuidadosamente em uma câmara de eclosão (prato sobreposto com uma peneira e papel toalha). Após 24 horas foi feita a troca da água para eliminar nematoides já eclodidos, e, em seguida, a câmara de eclosão foi mantida a 25 °C por mais 48 horas no escuro. Posteriormente, os nematoides que eclodiram foram recuperados em peneira granulométrica de 400 mesh e usados no teste de mortalidade.

Preparo da solução estoque e diferentes concentrações

Foi medida a massa de 160 mg do extrato vegetal seco, referente a cada amostra obtida por meio do extrato metanólico bruto, processo descrito anteriormente. Diluiu-se

16 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) a 1%, em 16 mL de água deionizada, obtendo-se a concentração de 100 mg L⁻¹. Para a concentração de 50 mg L⁻¹, mediu-se a massa de 80 mg do extrato vegetal e o dissolveu em 16 µL de DMSO (1%), diluído em 16 mL de água deionizada. Para a concentração de 25 mg L⁻¹, mediu-se a massa de 40 mg do extrato vegetal que foi dissolvido em 16 µL de DMSO (1%), mais 16 mL de água deionizada. Para a concentração de 12,5 mg L⁻¹, 20 mg do extrato vegetal foi dissolvido em 16 µL de DMSO (1%), mais 16 mL de água deionizada.

Estudo das concentrações dos extratos metanólicos na mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. Javanica*

Nesta etapa, foram analisados os extratos botânicos de mangaba, barbatimão, pequi, jatobá e lobeira, nas concentrações de 0; 12,5; 25; 50 e 100 mg L⁻¹. Para o preparo das concentrações do extrato utilizou-se a metodologia descrita anteriormente.

Para avaliar o efeito dos extratos botânicos sob o juvenil de segundo estágio (J2), adicionou-os em tubos de ensaio de vidro (dimensões 25 x 150 mm), de 1 mL, contendo esses nematoides. Em seguida, para cada tubo de ensaio preestabelecido, adicionou-se 1,5 mL de solução dos extratos botânicos. No tratamento controle acrescentou-se água deionizada. Os tubos de ensaio foram fechados com camada dupla de lenço de papel permeável por 24 horas, a 25 °C, no escuro. Em seguida, verteu-se em placa de Petri de vidro (dimensões 90x90 mm) a solução (extrato+nematoides) e manteve-se assim por mais 24 horas, quando foi realizada a quantificação dos J2 vivos. A quantificação foi feita em câmara de contagem de Peters (marca: Astel[®]) sob microscópio estereoscópio, estabelecendo-se como vivos aqueles que atravessaram o papel e continuavam móveis.

Delineamento estatístico

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo, fatorial 5x5 (extratos botânicos x concentrações), com seis repetições. A parcela experimental foi representada por cada tubo e posteriormente pelas placas de Petri, totalizando 150 unidades experimentais.

Antes da avaliação final, fez-se 3 ensaios para ajustar a técnica. As avaliações foram feitas após 48 horas da implantação do experimento, avaliando-se a contagem dos nematoides que atravessaram o papel filtro, os quais foram classificados como vivos.

Os dados numéricos foram avaliados estatisticamente mediante análise de variância e, quando significativos, realizou-se a análise qualitativa pelo teste de Scoot-Knott a 5% de probabilidade. Para os dados quantitativos, realizou-se a análise de regressão. Para o tratamento dos dados, foi utilizado o software Sisvar[®] (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre os fatores “extratos” e “concentração” para a variável mortalidade de juvenis. Nesse sentido, o efeito dos extratos variou em função das concentrações empregadas.

A população inicial do tratamento controle variou de 160 a 176 J2 vivos. A maior mortalidade de J2 ($P \leq 0,05$) ocorreu nos extratos de barbatimão, *Stryphnodendron adstringens*, onde foi verificado apenas 14 J2 vivos para a concentração de 100 mg L⁻¹ do extrato de barbatimão, o que representou 80% de mortalidade, sendo esse o melhor resultado obtido. Na concentração de 100 mg L⁻¹ do extrato de mangaba, *Hancornia speciosa*, manteve-se vivos 92 J2, o que equivale a 40% de mortalidade; 128 em extrato de jatobá, *Hymenaea stigonocarpa*, e pequi, *Caryocar brasiliense*, que equivale a 20%, e 147 em lobeira, *Solanum lycocarpum*, correspondente a taxa de 10% de mortalidade (Figura 1).

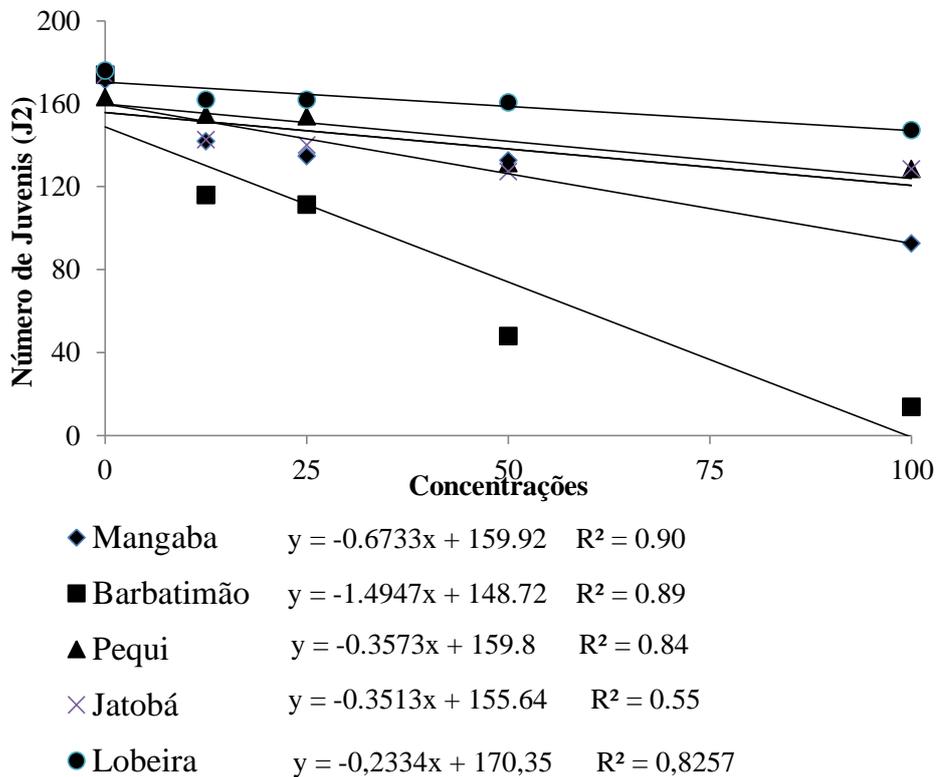
Verificou-se que em todos os tratamentos houve a mortalidades dos nematoides, obtendo-se os maiores índices nas concentrações de 50 e 100 mg L⁻¹, respectivamente. Independentemente do extrato analisado, as melhores concentrações foram sempre as maiores, onde ocorreu mais mortalidades (Figura 1).

Visualmente não observou-se quaisquer alterações quanto ao formato e a coloração dos nematoides. Ao se aplicar os extratos botânicos, eles mantiveram-se íntegros e com a coloração característica da espécie (transparente). Verificou-se também que os nematoides quantificados como vivos movimentavam-se, embora, lentamente, e os que estavam imóveis se encurvavam. Os caracterizados como mortos se estendiam, ficando esticados. Ou seja, verificou-se que os extratos botânicos, nas concentrações mais baixas, não foram efetivos nos nematoides, pois esses ultrapassaram a barreira imposta pelo papel toalha e continuavam ainda com certa motilidade.

O modelo de regressão linear teve melhor ajuste em resposta ao tipo de extratos botânicos, obtendo os maiores valores para R². A tendência foi obter maiores taxas de mortalidades, independente do tipo dos extratos botânicos utilizados, a medida que

aumentou a concentração. Com o extrato de barbatimão, obteve-se a maior taxa de mortalidade, seguido pelo extrato de mangaba, jatobá, pequi e lobeira (Figura 1).

Figura 1: Número médio de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* em função das concentrações de extratos metanólicos das espécies de plantas nativas do Cerrado. Morrinhos – Goiás, 2017.



Fonte: Dados da pesquisa.

Percebe-se a eficiência na utilização dos extratos, haja vista a alta taxa de mortalidade de J2 de *M. javanica*. Com exceção ao tratamento controle, nas demais concentrações, o extrato de barbatimão foi o que apresentou melhor resultado de mortalidade (116,00; 111,33; 48,00; 14,00) em 12,5; 25; 50; 100 mg L⁻¹. Extratos concentrados a 12,5 mg L⁻¹ mantiveram a mortalidade nos demais extratos na faixa de 142,00 a 162,00. Extratos concentrados a 25 mg L⁻¹, preparados com jatobá e mangaba, obtiveram mortalidade de 140,00 e 134,67. Já com os extratos de pequi e lobeira as mortalidades foram de 154,00 e 162,00. Extratos concentrados a 50 mg L⁻¹, como os de mangaba, pequi e jatobá mataram, em média, 132,67; 131,33; 127,33. O de lobeira foi o menos eficiente, cuja média foi de 160,67. Para os extratos concentrados a 100 mg L⁻¹, como o extrato de mangaba, obteve-se em média 92,67; para os de pequi, jatobá e lobeira as médias foram de 128,67 e 147,33 (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios da mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* em função da concentração dos extratos metanólicos de plantas nativas do Cerrado. Morrinhos-GO, 2017.

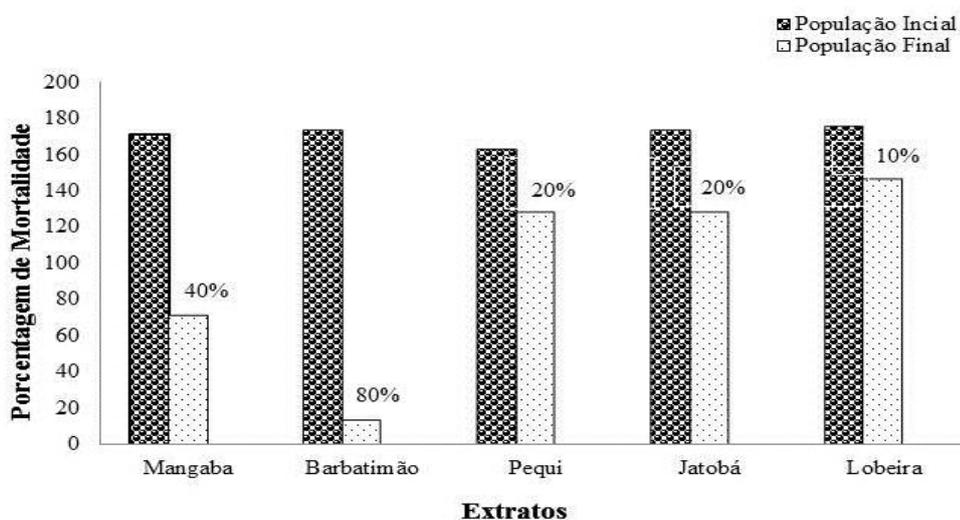
Característica avaliada	Extrato	Concentração (mg L ⁻¹)					Média
		0	12,5	25	50	100	
Nematoides Juvenis	Mangaba	171,33a	142,00b	134,67b	132,67b	92,67b	134,67
	Barbatimão	174,00a	116,00a	111,33a	48,00a	14,00a	92,67
	Pequi	163,33a	154,67b	154,00c	131,33b	128,67c	146,40
	Jatobá	173,67a	142,67b	140,00b	127,33b	128,67c	142,47
	Lobeira	176,00a	162,00b	162,00c	160,67c	147,33c	161,60
	Média	171,67	143,46	140,4	120,00	102,27	135,56

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para a mesma característica avaliada, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados da pesquisa.

Dos extratos analisados, o extraído de folhas de barbatimão, *Stryphnodendron adstringens*, obteve-se uma taxa de 80% de mortalidade de J2 de *M. Javanica*; Verificou-se as seguinte taxas para as demais: mangaba, *Hancornia speciosa*, 40%; jatobá, *Hymenaea stigonocarpa*, 20%; pequi, *Caryocar brasiliense*, 20% e lobeira, *Solanum lycocarpum*, 10% (Figura 2).

Figura 2. Porcentagem de mortalidade de juvenil de segundo estágio (J2) de cada extrato. Morrinhos-GO, 2017.



Fonte: Dados da pesquisa.

A primeira etapa para a extração do princípio ativo que foi utilizado no experimento foi a maceração a frio com etanol, devido ao fator de maior afinidade de polaridade do soluto. Segundo Dias et al., (2000) os extratos botânicos obtidos pelo método de maceração dos tecidos, em geral, tem maior efeito nematotóxico ou nematicida em comparação aos extratos obtidos por infusão. Quando realizada a retirada dos extratos do balão do evaporador rotativo com auxílio do metanol, espera-se que as substâncias presentes nos extratos se solubilizem para que tenham maior afinidade com a polaridade do soluto.

O barbatimão é uma espécie da família Fabaceae e subfamília Mimosoideae. Espécies dessa família possui substâncias bioativas presentes nas suas folhas e cascas, como inibidores de proteases, taninos, saponinas, inibidores de tripsina, alcaloides, terpenos, esteroides, estilbenos e flavonoides (Oliveira et al., 2002; Soares et al., 2002; Pinho et al., 2012). Essas substâncias, cuja ação já foi comprovada em fitonematoides, inibe o ataque de predadores como insetos, aves, herbívoros, fungos, bactérias, entre outros (Cenci et al., 2007; Nico et al., 2004; Chitwood, 2002; Mian & Rodríguez-Kábana, 1882). Esse fato pode justificar a mortalidade igual ou superior a 80% em *M. javanica* deste estudo.

No trabalho realizado por Maistrello et al., (2010) verificou-se a redução da eclosão do nematoide das galhas *in vitro* e redução do número de ovos de J2 em tomateiros, utilizando taninos de castanheira, atribuindo tal resultado ao efeito nematostático e de desorientação do movimento dos nematoides. Já em experimentos *in vitro* realizados por Olabiyi et al. (2008) verificaram que os extratos aquosos de espinho-de-cristo (*Euphorbia hirta* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus amarus* L.) e fedegoso (*Cassia obtusifolia* L.) a 0,15 e 0,20 g mL⁻¹, ocasionaram até 100,0% de mortalidade de juvenis de *M. incognita*. Nas análises fitoquímicas das plantas estudadas, constatou-se que elas possuem diferentes compostos químicos, que podem exercer atividade nematicida. Nessas análises foram encontrados taninos, flavonoides, alcaloides, esteróis e glicosídeos.

Estudos feitos com *H. Contortus*, parasita de ruminantes, realizados por Oliveira et al. (2011) avaliaram a eficácia *in vitro* da aroeira (*Myracrodrum urundeuva* L.). Os pesquisadores relataram que o extrato de folhas foi efetivo, inibindo 98% da eclosão na concentração de 1,25 mg mL⁻¹, enquanto o extrato do caule inibiu a eclosão em 83% na concentração de 5 mg mL⁻¹. Ao utilizar o extrato de folhas e caule no teste de

desembainhamento na concentração de 0,31 mg mL⁻¹, ocorreu um bloqueio de 100% do processo. De acordo com o autor, *M. urundeuva* pode ser usado para o controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes e a atividade anti-helmíntica da planta se dá, provavelmente, devido à presença de taninos.

Portanto, vale salientar que o extrato metanólico de barbatimão, uma espécie nativa do Cerrado brasileiro, mesmo que ainda não esteja relatada na literatura quanto a utilização para o controle de fitonematoides, obteve grande potencial para o controle de *M. Javanica*. Ressalta-se que as demais plantas analisadas não devem ser descartadas quanto ao seu potencial nematicida. Entretanto, novos estudos serão necessários para validar o potencial nematicida *in vivo*, tais como estudos fitoquímicos, para que possa concluir se a sua atividade nematicida é devida a um único composto ou advém do sinergismo entre os vários compostos.

Conclusões

Extratos metanólicos preparados a partir de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) controla juvenis de segundo estágio (J2) *in vitro* com grande eficiência. Desse modo, esta espécie apresenta potencial de utilização para o controle de *M. javanica*.

Literatura Citada

Almeida, N. F.; Mori, F. A.; Goulart, S. L.; Mendes, L. M.; Ribeiro, A. O. Rendimentos em taninos das folhas de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* em diferentes períodos de coleta visando a produção de adesivo para a madeira. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 11., 2008, Londrina. Anais. Londrina, p.5-8, 2008.

Boneti, J. I. S.; S. Ferraz. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 6, n.3, p.553, 1981.

Cares, J. E. & Huang, S. P. Nematode fauna in natural and cultivated cerrados of Central Brazil. Fitopatologia Brasileira, 16:199-209, 1991.

Cenci, F. B.; Louvandini, Mcmanus, C. M. Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. Veterinary Parasitology, Amsterdam, v.144, p.132-137, 2007.

Chitwood, D. J.: Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v.40, p.221-249, 2002.

- Dias, C. R.; Schwan, A. V.; Ezequiel, D. P.; Sarmiento, M. C. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *M. incognita*. *Nematologia Brasileira*, v.24, p.203-210, 2000.
- Ferreira, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v.35 n.6, p.1039-1042, 2011.
- Freitas, L. G.; Oliveira, R. D. L. & Ferraz, S. *Introdução à Nematologia*. 3 ed. Ed. UFV. Viçosa-MG. 2006.
- Frighetto, R. S. T.; Zavatti, L. M. S. Avaliação de espécies vegetais no controle de *Meloidogyne incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 18. Campinas, *Resumos*. Campinas: Sociedade Brasileira de Nematologia, p.33, 1994.
- Haslam, E. *Chemistry of vegetable tannins*. London: Academic, p.177, 1966.
- 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.
- Karssen, G.; Moens, M. Root-knot nematodes. In: Perry, R.L.; Moens, M. (eds.) *Plant Nematology*. Cambridge, MA, USA, p.59-90, 2006.
- Lopes, E. A. S.; Ferraz, L. G. de Freitas.; Ferreira, P. A. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). *Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas*, v.2, n.1, p.17, 2008.
- Lopes, E. A.; Ferraz, S.; Freitas, L. G.; Ferreira, P. A.; Amora, D. X.: Efeito de extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. *Nematologia Brasileira*, v.29, n.1, p.67-74, 2005.
- Maistrello, L.; Vaccari, G.; Sasanelli, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Helminthologica* v.47, p.48-57, 2010.
- Mian, I. H.; Rodríguez-Kábana, R. Organic amendments with high tannin and phenolic contents for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica*, v.12, n.2, p. 221-234, 1982.
- Ministerio do Meio Ambiente. Disponível em <http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso em: 23 de ago. 2017.
- Moura, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. IN: Luz, W. C.(ED.): *Revisão anual de patologia de plantas*, Passo Fundo, v.4 p.209-244, 1996.
- Myers, N. Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Fonseca, G. A. B.; Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, v.403, p.853-858, 2000.

- Nakamura, S.; Hongo, M.; Sugimoto, S.; Matsuda, H. & Yoshikawa, M.: Steroidal saponins and pseudoalkaloid oligoglycoside from Brazilian natural medicine, "fruta do lobo" (fruit of *Solanum lycocarpum*). *Phytochemistry*, v.69, p. 565-1572, 2008.
- Nico, A. I.; Jimenez-Diaz, R. M.; Castillo, P. Control of root-knot nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. *Crop Protection*, Oxford, v.23, n.7, p.581-587, 2004.
- Olabiya, T. I. Pathogenicity study and nematotoxic properties of some plant extracts on the root-knot nematode pest of tomato, *Lycopersicon esculentum* (L.). *Plant Pathology Journal* v.7, n.1, p.45-49, 2008.
- Oliveira, L. M. B.; Bevilaqua, C. M. L.; Macedo, I. T. F.; Morais, S. M.; Machado, L. K. A.; Campello, C. C.; Mesquita, M. A. Effects of *Myracrodrum urundeuva* extracts on egg hatching and larval exsheathment of *Haemonchus contortus*. *Parasitology Research*, Paris, v.109, n.3, p.893-898, 2011.
- Oliveira, L. G. ; Gozzo, A. J.; Nunes, V. A.; Silva, I. C; Sampaio, M. U; Sampaio, C. A. M.; Araújo, M. S. Inibidores de proteases encontrados em sementes de *Caesalpinia echinata* (pau brasil)-isolamento e caracterização do inibidor de tripsina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, p.72-74, 2002.
- Perry, R. N.; Moens, M. ; Starr, J. L.: Root- knot nematodes. In: Eisenback JD & Hunt DJ, eds. *General Morphology*. Virginia, USA. CABI International, p.18-54, 2009.
- Sasanelli, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematologia Mediterranea*, v.20, p.53-55, 1992.
- Silva, T.; Carvalho, M. & Braz-Filho, R. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). *Química Nova*. v.4, n.26, p. 517-522, 2003.
- Silva, J. F. V.: Efeito de *Azadirachta indica* sobre *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro. *Brasil. Nematologia Brasileira*, p.17:29, 1993.
- Silva, G. S.; Ribeiro, V. Q. Efeito da incorporação de folhas de "neem" (*Azadirachta indica*) ao solo sobre a incidência de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. *Brasil. Nematologia Brasileira*, v.13, p.10-11, 1989.
- Soares, J. D. A. H.; Alves, R. K. ; Isac, E. ; Bezerra, J. C; Gomes, M. H.; Santos, S. C.;Ferri, P. H.: Atividade tripanocida in vivo de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliense* (pequi). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, p.01-02, 2002.
- Schwarz, A.; Pinto, E.; Haraguchi, M.; Oliveira, C. A.; Bernardi, M. M. & Spinosa, H. D. Phytochemical study of *Solanum lycocarpum* (St. Hil) unripe fruit and its effects on rat gestation. *Phytotherapy research* v.21, p.1025-1023, 2007.

Scramin, S.; Fernandes, L. M. S.; Silva, H. P.; Yahn, C. Atividade nematicida de extratos vegetais sobre *Meloidogyne incognita*. Brasil. Fitopatologia Brasileira. v.12, n.2, p.151, 1987.

Toledo, L. O.; Anjos, L. H. C.; Couto, W. H.; Correia, J. R.; Pereira, M. G.; Correia, M. E. F. Análise multivariada de atributos pedológicos e fitossociológicos aplicadas na caracterização de ambientes de cerrado no norte de Minas Gerais. Revista Árvore, v.33 p. 957-968, 2009.

Pinho, L.; Souza, P. N. S.; Sobrinho, E. M.; Almeida, A. C.; Martins, E. R. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. Ciência Rural, Santa Maria, v.42, n.2, p.326-331, fev, 2012.

Yoshihara, E.; Minho, A. P. ; Yamamura, M. H. Efeito anti-helmíntico de taninos condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.34, n.6, p.3935-3950, 2013.

APÊNDICES

Apêndice A: Resumo de análises de variância do número de nematoides juvenis de segundo estágio (J2) em função de concentração de extratos de plantas nativas do Cerrado goiano. Morrinhos – GO, 2017.

Fatores de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados
		Juvenil
Extratos	4	80517,76**
Concentrações	4	82205,76**
Extratos x Concentrações	16	47533,00**
Resíduo	125	46398,00
Total	149	256654,96
CV (%)		14,21

CV – Coeficiente de variação; ^{NS} - Não significativo pelo teste de F; ** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de F; * - Significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F

Apêndice B: Significância do efeito de extratos vegetais, distintas concentrações e interação destes fatores na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2). Morrinhos – GO, 2017.

Fatores de variação	Mortalidade de juvenis
Extratos	54,23**
Concentrações	55,36**
Extratos x Concentrações	8,00**
Coeficiente de variação	14,21

** significativo (p<0,01)