

Efeito de extratos vegetais sobre o parasitismo do *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, no algodoeiro

Effect of plant extracts about parasites of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, in cotton

Geuma A Silva¹, João Luiz Coimbra², Florisvalda S Santos³, Heliab B Nunes⁴

1. Graduanda do curso de Agronomia, Departamento de Ciências Humanas, Universidade do Estado da Bahia/UNEB, Campus IX, CEP: 47800-000, Barreiras-BA. e-mail: geumajo@hotmail.com; 2. Professor de Fitopatologia do Departamento de Ciências Humanas, UNEB, BR 242, Loteamento Flamengo, 47800-000, Barreiras, BA. e-mail: jcoimbra@uneb.br; 3. Professora de Microbiologia do Instituto de Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável da Universidade Federal da Bahia, rua Professor José Seabra, S/N, Centro, 47805-100, Barreiras, BA. e-mail: flvsantos@ufba.br; 4. Engenheiro Agrônomo, Técnico de Laboratório de Fitopatologia do curso de Engenharia Agrônômica, Departamento de Ciências Humanas, Universidade do Estado da Bahia (UNEB), BR 242, Loteamento Flamengo, 47800-000, Barreiras, BA. e-mail: heliabnunes@hotmail.com

Resumo O nematóide de galhas *Meloidogyne incognita*, raça 3, é um dos principais patógenos da cultura do algodoeiro. Considerando que o emprego de plantas com propriedades nematicidas para o controle de fitonematóides vem sendo muito estudado como alternativa ambientalmente aceitável, frente aos impactos causados pelos nematicidas químicos, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos extratos vegetais obtidos da casca e da folha de *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril), *Astronium fraxinifolium* (gonçalo-alves), *Hymenaea courbaril* (jatobá) e *Mimosa tenuiflora* (jurema-preta) sobre o parasitismo do nematóide *M. incognita* raça 3 no algodoeiro. Os extratos vegetais foram preparados utilizando-se 1g de material seco (folha ou pó da casca) para 10 ml de água destilada e esta mistura permaneceu em repouso por 24 h, sendo, posteriormente, filtrada. O experimento foi conduzido em viveiro telado, onde cada muda dos tratamentos foi infestada com cerca de 1000 ovos de *M. incognita* raça 3, permanecendo por em viveiro telado por 45 dias. Durante esse período, foram feitas as aplicações dos extratos vegetais no solo na proporção de 50 ml por muda. Essas aplicações foram realizadas a cada 8 dias, sendo a primeira realizada 2 dias antes da infestação. Foram avaliados o número de galhas e de ovos por sistema radicular de cada muda de algodoeiro. Os extratos obtidos da folha e casca do Jatobá e do Tamboril foram os mais eficientes, reduzindo o número de galhas por sistema radicular em 65% a 97% quando comparados com a testemunha. Nenhum extrato vegetal reduziu significativamente o número de ovos por sistema radicular do algodoeiro

Palavras-chaves: cerrado, *Meloidogyne incognita*, nematicidas naturais, patogenicidade.

Abstract The nematode *Meloidogyne incognita*, race 3 is among the nematodes that cause more damage to the cotton crop, limiting their

agricultural productivity. Whereas the use of plants with properties nematicides to control plant parasitic nematode has been much studied as an alternative environmentally acceptable, front to the impacts caused by chemical nematicides, this study has the objective to evaluate the effect of plant extracts obtained from the bark and sheets of *Enterolobium contortisiliquum* (Tamboril), *Astronium fraxinifolium* (gonçalo-alves), *Hymenaea courbaril* (jatobá) and *Mimosa tenuiflora* (Jurema) on the nematode parasitism of branch *M. incognita* in cotton. The extracts were prepared using a 1 g of dry material (sheet or powder of bark) for 10 ml of distilled water and the mixture remained at rest for 24 hours, and thereafter filtered. The experiment was conducted in greenhouse nursery, where every plant of treatment was infested with about 1.000 eggs of *M. incognita*, remaining for 45 days after infestation. During this period, the applications were made of plant extracts to the ground at the rate of 50 ml for plant. These applications were made every 8 days, the first one carried out 2 days before infestation. Were evaluated the number of galls and eggs by the rootworm of each galls in cotton. The extracts obtained from the sheets and bark of Jatobá and Tamboril were the most efficient, reducing the number of galls on the root system by 65% to 97% compared with the control inoculated. About the number of eggs, no treatment promoted a significant reduction when compared with the control inoculated.

Keywords native plants, savannah, natural nematicides, pathogenicity, rootworm.

Introdução

O Brasil ocupa a quinta colocação entre os maiores produtores

mundiais de algodão, com estimativa de 7,18 milhões de fardos no ciclo 2007/08, ou, aproximadamente, 1,436 milhão de toneladas, pelos números do USDA - United States Department of Agriculture (Anuário Brasileiro de Algodão 2008). Na Bahia a produção concentra-se no semi-árido, na região que abrange os municípios de Barreiras, Luís Eduardo Magalhães, São Desidério e Roda Velha.

Além das adversidades da natureza, como fatores climáticos, a cultura do algodão sofre com pragas e doenças, com destaque para o ataque de nematóides, patógeno que por sua importância, busca-se os mais variados controles alternativos para sua eliminação.

A infecção de *M. incognita* nas raízes de algodão resulta em ruptura da epiderme, do xilema e do tecido cortical, em resposta ao desenvolvimento das células gigantes e à formação de galhas. O aumento da atividade metabólica das células gigantes estimula a mobilização de fotoassimilados da parte aérea para as raízes e, em particular, para as próprias células gigantes, as quais são utilizadas para a alimentação do nematóide. Além disso, afeta a absorção de água e nutrientes pelas raízes (Shepherd e Huck 1989, Zimmerman e McDonough 1978). Dentre os métodos de controle de nematóides, o uso de extratos de plantas tem sido investigado como alternativa ambientalmente sustentável frente aos impactos causados pelos nematocidas químicos.

O cerrado ocupa grande parte do território brasileiro e é caracterizado pela grande variedade de paisagens e relativa riqueza biológica composta de uma ampla gama de espécies vegetais e animais. No entanto, seus ecossistemas encontram-se bastante alterados pela substituição de espécies vegetais nativas, pelo desmatamento e pelas queimadas, diminuindo a diversidade genética de material vegetal, material este que é desconhecido pela ciência quanto ao potencial germicida.

Atentando-se para sustentabilidade do bioma Cerrado, este pode se tornar uma fonte de matéria prima para obtenção de extratos vegetais com efeito nematocida. Considerando o potencial do uso de extratos vegetais para o controle de nematóides, objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito de extratos vegetais obtidos de plantas do cerrado baiano sobre o parasitismo do nematóide de galha da espécie *M. incognita* raça 3 no algodoeiro.

Métodos

O trabalho foi conduzido em viveiro telado, sendo as avaliações realizadas nos laboratórios de Fitopatologia e Nematologia pertencentes à Universidade do Estado da Bahia - UNEB, *campus* IX, sediado no município de Barreiras-BA, no período de março a setembro de 2008.

As coletas do material vegetal para obtenção dos extratos foram realizadas na região do cerrado, numa área antropizada, o *Campus* IX da UNEB em Barreiras-BA, e no município de Ibotirama-BA. Foram coletadas as folhas e as cascas do caule de quatro espécies de plantas nativas do cerrado para obtenção dos extratos vegetais (Tabela 1).

Os extratos das folhas das espécies vegetais foram obtidos

Tabela 1 Espécies nativas do cerrado baiano utilizadas na pesquisa.

Nome científico	Nome vulgar	Local de coleta
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> Vell.	Tamboril	Campus IX- UNEB
<i>Astronium fraxinifolium</i> Schott.	Gonçalo-Alves	Campus IX- UNEB
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Jatobá	Campus IX- UNEB
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	Jurema-preta	Ibotirama-Ba

segundo o método de Ferris e Zheng (1999). Para isso, as folhas coletadas das espécies vegetais descritas anteriormente foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa por 24 horas, a uma temperatura de 60° C. Após esse período, foi pesado 1 grama de material vegetal seco e colocado em um Becker contendo 10 ml de água destilada. A suspensão obtida foi mantida em repouso por 24 horas em local seco e escuro, para evitar a ação direta da luz. Após esse período as folhas foram macerada com a auxílio de almofariz e pistilo, sendo em seguida filtrada em papel Whatman nº 1. Os extratos obtidos foram mantidos congelados em um congelador.

Para obtenção dos extratos da casca do caule das espécies vegetais descritas na Tabela 1 foi usada a metodologia utilizada por Torres *et al.* (2001). Para isso, as cascas foram colocadas para secar em estufa a 40° C por 3 dias e, posteriormente, moídas com auxílio de um moinho de martelo até a obtenção de um pó, com granulação uniforme. Para uma maior eficiência na granulação, o pó foi passado numa peneira de malha 2 mm, em seguida, preparou-se as misturas na proporção de 10 gramas de pó de cada espécie vegetal para 100 ml de água destilada, permanecendo em repouso por 24 horas, com o propósito de extrair os compostos hidrossolúveis. Findo esse processo, foi realizada a coagem usando tecido de algodão com malha fina. Os extratos foram armazenados em congelador.

O nematóide *M. incognita* raça 3 foi multiplicado em tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill) da cultivar Santa Cruz (Kada) plantados em vasos contendo substrato esterilizado composto por uma mistura de solo, areia e esterco bovino na proporção de (2:1:1) e mantidos em casa de vegetação. Para montagem do experimento foram semeadas em sacos de polietileno contendo substrato esterilizado composto por uma mistura de solo, areia e esterco bovino na proporção de (2:1:1) sementes de algodão cultivar Delta Opal. Vinte dias após a semeadura do algodoeiro, foi adicionado em cada saco de muda contendo o substrato cerca de 50 ml de extrato vegetal obtido conforme descrito anteriormente. Dois dias após a aplicação do extrato vegetal, foi realizada a infestação do substrato com cerca de 1000 ovos de *M. incognita* raça 3, obtidos de plantas infectadas e mantidas em casa de vegetação, sendo a extração realizada pelo método de Hussey e Barker (1973).

Seis dias após a infestação do substrato com ovos do nematóide foi realizada nova aplicação dos extratos vegetais sendo novamente repetida a cada oito dias totalizando cinco aplicações durante todo experimento. Quarenta e cinco dias após a infestação do substrato com o nematóide, cada planta foi retirada cuidadosamente dos sacos para a avaliação do número de galhas e número de ovos por sistema radicular do algodoeiro. A contagem do número de galhas

foi realizada com o auxílio de uma lupa e contador manual. Os ovos foram extraídos pelo processamento de raízes conforme metodologia de Hussey e Barker (1973) e a contagem foi feita, utilizando microscópio óptico e lâmina de Peters.

O experimento foi montado em delineamento experimental do tipo blocos ao acaso (DBC), composto de dez tratamentos com quatro repetições (Tabela 2). Os dados obtidos foram transformados para $\sqrt{x + 1}$, sendo as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância e submetidos à análise de variância pelo programa “Statistical Analysis Software” (SISVAR) licenciado pela Universidade Federal de Lavras - UFPA.

Resultados e discussão

Quatro extratos vegetais (casca de Jatobá, folha de Jatobá, casca de Tamboril e folha de Tamboril) reduziram significativamente o número de galhas por sistema radicular do algodoeiro, quando comparado com a testemunha inoculada ($p \leq 0,05$) (Figura 1). Desses extratos, o obtido da casca e da folha de Jatobá (*Hymenaea courbaril*) reduziram em 97% e 65%, respectivamente o número de galhas por sistema radicular do algodoeiro. O extrato obtido da casca e da folha de Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) reduziu em 65% e 69%, respectivamente o número de galhas por sistema radicular do algodoeiro quando comparados com a testemunha inoculada. O extrato obtido da casca de Jatobá foi o que apresentou o menor número de galhas por sistema radicular. Entretanto, os extratos obtidos da folha e casca de Jurema (*Mimosa tenuiflora*) e da folha e casca de Gonçalo-Alves (*Astronium fraxinifolium*) não apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas com a testemunha inoculada ($p \leq 0,05$).

A redução do número de galhas por sistema radicular do algodoeiro observada nos extratos de casca e folha de Jatobá e na casca e folha de Tamboril pode ser explicada pela menor infecção do juvenil de segundo estágio (J2) de *M. incognita*. Isso se deve,

Tabela 2 Denominação dos tratamentos utilizados na pesquisa

Tratamentos	Denominação
T1	Testemunha Absoluta (Tomateiro sem o nematóide)
T2	Testemunha Inoculada (Algodoeiro inoculado com nematóide)
T3	Algodoeiro inoculado + extrato da folha do Gonçalo-Alves
T4	Algodoeiro inoculado + extrato da casca do Gonçalo-Alves
T5	Algodoeiro inoculado + extrato da folha do Jatobá
T6	Algodoeiro inoculado + extrato da casca do Jatobá
T7	Algodoeiro inoculado + extrato da folha da Jurema
T8	Algodoeiro inoculado + extrato da casca da Jurema
T9	Algodoeiro inoculado + extrato da folha do Tamboril
T10	Algodoeiro inoculado + extrato da casca do Tamboril

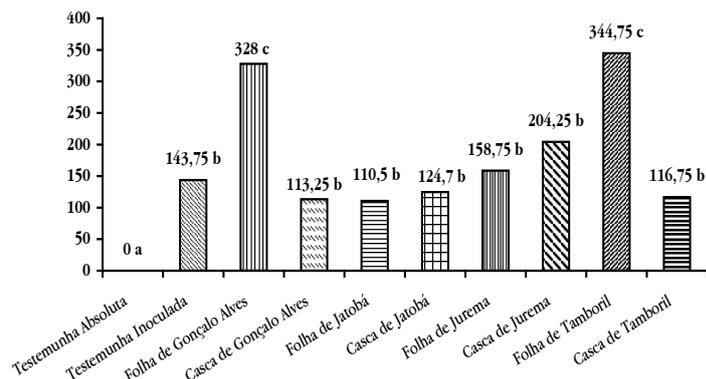


Figura 1 Efeito dos extratos vegetais obtidos de plantas do cerrado do oeste baiano sobre o número de galhas por sistema radicular do algodoeiro.

provavelmente, pela presença nos extratos destes vegetais, de substâncias alcalóides com propriedades nematicidas. Substâncias denominadas terpenos e compostos fenólicos já foram encontradas na casca do Jatobá com comprovada propriedade antimicrobiana (Marsaioli 1975, Gonçalves *et al.* 2005). A eficiência do Tamboril em minimizar a infecção pelo nematóide pode também estar associada à presença de substâncias com potencial nematicida, porém, tornam-se necessário estudos químicos para identificação destas substâncias.

Santos e Coimbra (2008) também constataram a eficiência do extrato da folha do Jatobá e do Tamboril em reduzir o número de galhas de *M. javanica* em plantas de tomateiro. Além da redução do número de galhas, também foi constatado 100% de imobilidade dos J2. Trabalhos demonstraram o efeito nematicida dos extratos vegetais no controle de muitos fitonematóides de importância agrícola. Stephan *et al.* (2001), *apud* Gardiano (2006) encontraram um efeito nematicida do extrato de cinamomo sobre o *M. incognita*. Segundo os mesmos autores, a mortalidade usando este extrato foi em torno de 100%. Coimbra *et al.* (2006) também avaliaram a ação de extratos vegetais sobre a mobilidade e a mortalidade de *Scutellonema bradyi* (Stainer e LeHew), nematóide causador da casca preta do inhame. Neste trabalho, todos os extratos vegetais testados foram capazes de inibir a mobilidade e causar mortalidade ao nematóide.

Com exceção dos extratos de casca e folha de Jurema, folha de Gonçalo-Alves e folha de Tamboril, todos os demais extratos reduziram o número de ovos por sistema radicular, embora essa redução não tenha sido estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$, Figura 2).

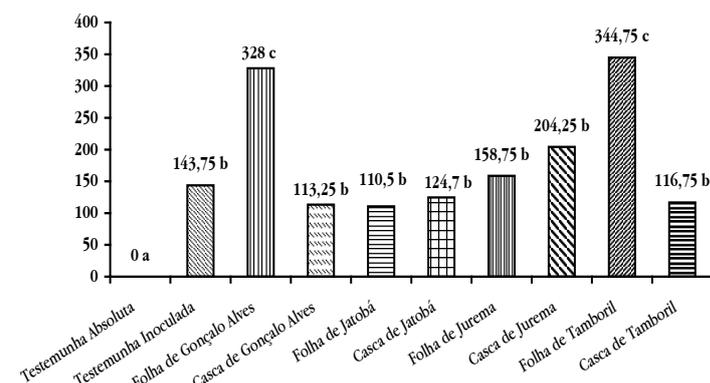


Figura 2 Efeito dos extratos vegetais obtidos de plantas do cerrado baiano sobre o número de ovos por sistema radicular do algodoeiro

Essas reduções variaram numa percentagem muito baixa, com valores de 13% a 23% quando comparadas com a testemunha inoculada (Figura 2). Apesar desses extratos vegetais não terem alcançado valores significativos de redução de número de ovos por sistema radicular, eles atuaram na redução do número de ovos, mesmo que em menores proporções, demonstrando a presença de substâncias de natureza tóxica aos nematóides. Essa menor redução no número de ovos por sistema radicular do algodoeiro pode ter sido causado por alguma substância contida no extrato que interferiu no ciclo de vida do nematóide. A menor infecção do nematóide na raiz pode ter reduzido o número de fêmeas por galha na raiz e, conseqüentemente, reduzido o número de ovos por sistema radicular.

Gardiano (2006) testou vários extratos de plantas como arruda (*Ruta graveolens*), nim (*Azadirachta indica*) e boldo (*Coleus barbatus*), dentre outros, e comprovou que também não houve diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos utilizados quanto à redução no número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular. Outra planta que não apresentou resultado significativo foi o confrei (*Symphitum officinalis*); no entanto, Dias *et al.* (2000), em teste *in vitro* observaram alta efetividade na inativação de *M. incognita* dos extratos obtido do mesmo.

Dentre os extratos das plantas avaliadas neste trabalho, o Gonçalves-Alves e a Jurema estão entre as espécies que não reduziram significativamente nem o número de galhas nem o número de ovos por sistema radicular ($p \leq 0,05$) (Figuras 1 e 2). No entanto, estas espécies tiveram destaque no trabalho de Santos (2006) em que o extrato das folhas das mesmas reduziram o número de galhas, além de reduzir o número de massa de ovos de *M. javanica* em plantas de tomateiro. Esta divergência de resultados pode ter ocorrido pela forma de biodegradação dos extratos no solo, uma vez que, Santos (2006) utilizou substrato comercial esterilizado do tipo Plantmax®, com diversidade microbiana reduzida.

Os extratos que não mostraram nenhum efeito sobre a redução do número de ovos do *M. incognita*, provavelmente não tiveram seu princípio ativo extraído das plantas, ou mesmo que extraídos, estes possam ter sofrido fotodecomposição pelo modo de extração utilizado. Scramin *et al.* (1987) comprovaram a diferença de comportamento ao *M. incognita* de diferentes extratos (hexânico, clorofórmico e etanólico) de uma mesma parte vegetal, em que o extrato clorofórmico de folhas de *Ageratum conyzoides* mostrou atividade potencial ao nematóide, ao passo que os extratos hexânico e etanólico não tiveram atividade expressiva. Em virtude da ineficiência na redução de galhas e ovos de *M. incognita* de alguns extratos neste trabalho, é necessária a elaboração de novos testes com outras metodologias de extração que visem obter maiores quantidades de constituintes químicos que atuem sobre a infecção dos nematóides, uma vez que, a propriedade química do princípio ativo desses extratos é desconhecida.

Nematicidas naturais têm sido procurados pelos pesquisadores como um método muito promissor para substituir os atuais produtos

químicos, que são muito tóxicos e detrimentalmente ao ambiente. Porém, a resistência dos agricultores em adotar esse tipo de controle para fitonematoides é a principal barreira para o seu uso. Para o pequeno produtor, o uso de extratos vegetais para o controle de fitonematoides na agricultura seria uma alternativa viável, já que o mesmo não dispõe de recursos para a aquisição de nematicidas químicos no mercado. Entretanto, para o grande produtor, se tornaria uma conscientização para se conservar a flora do cerrado baiano, uma vez que suas espécies nativas podem ser no futuro, uma fonte de novas moléculas nematicidas que substituam as atuais, já que estas estão cada vez mais perdendo efeito sobre o nematóide, devido ao surgimento de variedades resistentes. Portanto, os resultados deste trabalho serão importantes para dar início à busca de compostos contra os nematóides, servindo de base para o desenvolvimento de novas formulações, menos danosas ao homem e ao ambiente, e, ainda, compor de um banco de extratos e biomoléculas nematicidas.

Referências

- Anuário Brasileiro do Algodão (2008) Disponível em: <http://www.anuarios.com.br/upload/publicacaoCapitulo/pdfpt/pdf227.pdf>. Acesso em: 21 de agosto de 2008
- Santos IL, Coimbra JL (2008) Toxicidade de extratos vegetais obtidos de plantas do cerrado baiano ao nematóide de galhas (*Meloidogyne javanica*). Magistra, Cruz das Almas-Ba. (Artigo aceito para publicação).
- Coimbra JL, Soares ACF, Garrido MS, Sousa CS, Ribeiro FLB (2006) Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41: 209-1211.
- Ferris H, Zheng L (1999) Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology** 31: 241-263.
- Gardiano CG (2006) **A atividade nematicida de extratos aquosos e tinturas vegetais sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949**. Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Gonçalves AL, Filho AA, Menezes H (2005) Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivo Instituto Biológico** 72: 353-358.
- Hussey RS, Barker KR (1973) A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter** 57: 1025-1028.
- Santos IL (2006) **Controle do nematóide de galha, *Meloidogyne javanica* (treub) Chitwood, com extratos vegetais obtidos de plantas do cerrado baiano**. Monografia de conclusão do curso de graduação em Engenharia Agrônoma. Barreiras: Universidade do Estado da Bahia.
- Scramin S, Silva HP, Fernandes LMS, Yhan CA (1987) Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. **Nematologia Brasileira** 11: 89-102.
- Shepherd RL, Huck MG (1989) Progression of root-knot nematode symptoms and infection on resistant and susceptible cotton. **Journal of Nematology** .21: 235-241.

- Torres AL, Barros R, Oliveira JV (2001) Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology** 30: 151-156.
- Zimmerman MH, McDonough J (1978) Dysfunction in the flow of food. In: Horsfall JG, Cowling EB (ed.). **Plant disease: an advanced treatise**. New York: Academic Press. v.3, p.117-140.