

Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2¹

Action of medicinal plant extracts on juveniles of *Meloidogyne incognita* race 2

Maria da Conceição Beserra Martins² e Carmem Dolores Gonzaga Santos^{3*}

RESUMO - Os fitonematóides são parasitas que afetam seriamente as culturas em todo o mundo comprometendo a produção agrícola e, por vezes, inviabilizando a utilização de numerosas áreas de cultivo. A busca por medidas alternativas de controle em substituição aos nematicidas convencionais é uma preocupação mundial, justificando pesquisas com substâncias naturais por serem eficientes e ecologicamente corretos. Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito de extratos vegetais de agrião-do-brejo (*Eclipta alba* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum*), artemísia (*Artemisia vulgaris*), capim citronela (*Cymbopogon winteranus*), chambá (*Justicia pectoralis*), confrei (*Symphytum officinale*), hortelã (*Mentha x vilosa*), lombrigueira (*Spigelia anthelmia*), mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) e menta (*Mentha arvensis*) na motilidade e mortalidade de juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. Os extratos, obtidos a partir de folhas secas sob infusão ou sob maceração em água, foram diluídos e distribuídos em placas de Petri às quais foram adicionados 50 juvenis de segundo estágio (J2). Após permanecerem por 48 horas nos extratos, todos os J2 móveis ou imóveis foram contados e, em seguida, transferidos para água determinando-se, após 24 horas, a porcentagem de J2 mortos. Os J2 ainda ativos foram inoculados em mudas de tomateiro ‘Santa Clara’ em casa de vegetação para avaliar a sua infectividade. Os extratos macerados das plantas medicinais, excetuando-se capim citronela, hortelã e menta, apresentaram alta atividade nematicida com mais de 70% de J2 mortos. Mortalidade total ocorreu em extratos de lombrigueira, agrião-do-brejo e mastruz. A ausência de galhas nas raízes de tomateiros inoculados confirmou o efeito tóxico desses extratos.

Palavras-chave: Nematóide das galhas. Substâncias naturais. Controle alternativo.

ABSTRACT - Phytonematodes are parasites that seriously affect crops worldwide, compromising agricultural production and sometimes preventing the use of many cultivated areas. The search for alternative control measures to replace conventional nematicides is a global concern, and explains research into natural substances due to their being efficient and environmentally friendly. The aim of this study was to evaluate the effect of plant extracts from the false daisy (*Eclipta alba*), basil (*Ocimum basilicum*), mugwort (*Artemisia vulgaris*), citronella (*Cymbopogon winteranus*), water willow (*Justicia pectoralis*), comfrey (*Symphytum officinale*), cuban mint (*Mentha x vilosa*), pink root (*Spigelia anthelmia*), epazote (*Chenopodium ambrosioides*) and wild mint (*Mentha arvensis*) on motility and mortality in juveniles of *Meloidogyne incognita* race 2. Extracts, obtained from dried leaves under infusion or macerated in water, were diluted and spread onto Petri dishes to which were added 50 second-stage juveniles (J2). After remaining for 48 hours in the extracts, all the J2, both mobile and immobile, were counted and then transferred to water, where after 24 hours, the percentage of dead J2 was determined. Any still active J2 were inoculated into ‘Santa Clara’ tomato seedlings in a greenhouse so as to evaluate their infectivity. The macerated extracts of the medicinal plants, except for the citronella, cuban mint and wild mint, showed high nematicide activity, with over 70% of the J2 dead. Total mortality was seen with the extracts of pink root, false daisy and epazote. The absence of galls in the root system of the inoculated tomato plants confirmed the toxic effect of these extracts.

Key words: Root-knot nematode. Natural substances. Alternative control.

DOI: 10.5935/1806-6690.20160016

* Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 24/02/2015; aprovado em 24/09/2015

Parte da dissertação do primeiro autor apresentada no Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia/CCA/UFC

²Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia/CCA, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil, mcbm22@hotmail.com

³Departamento de Fitotecnia/CCA, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil, carmelo@ufc.br

INTRODUÇÃO

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nematoda: Meloidogynidae), são fitopatógenos que afetam numerosas culturas em todo o mundo provocando perdas significativas na produção ou comprometendo a qualidade dos produtos agrícolas. Elevado número de espécies vegetais são citados como hospedeiras de *Meloidogyne* spp no Brasil (MANSO *et al.*, 1994). A busca de novas práticas de controle de fitonematoides em substituição aos nematicidas convencionais, tóxicos, caros e poluentes, constitui-se numa preocupação mundial (FERRAZ; FREITAS, 2004). As medidas alternativas de controle recomendadas para as fitonematoses incluem a rotação de cultura, o uso de plantas antagonistas, utilizadas em plantio intercalado, consorciado ou em rotação, a incorporação de matéria orgânica, o controle biológico, entre outros (FERRAZ *et al.*, 2012; MELLO; MACHADO; INOMOTO, 2006; SILVA *et al.*, 2006; SILVA, 2012). Atualmente, a utilização de substâncias naturais como extratos vegetais e óleos essenciais que possuem propriedades nematicidas, tem sido buscada por pesquisadores por serem eficientes e ecologicamente corretos (CARBONI; MAZZONETTO, 2013; FERRAZ; FREITAS, 2004; MOREIRA; SANTOS; INNECCO, 2009; STEFFEN *et al.*, 2008).

As plantas medicinais, cujo mercado tem crescido bastante nos últimos anos, vêm sendo estudadas e empregadas no manejo de fitopatógenos em razão de possuírem substâncias que podem apresentar ação biológica diretamente contra numerosos fitopatógenos ou induzir resistência em plantas nas quais são aplicadas (FRANZENER *et al.*, 2007; STANGARLIN; KUHN; SCHWAN-ESTRADA, 2008). O interesse crescente de seu emprego no controle de pragas e de doenças se deve à sua eficácia aliada ao menor efeito negativo que causa ao meio ambiente (CARBONI; MAZZONETTO, 2013; STANGARLIN; KUHN; SCHWAN-ESTRADA, 2008).

No Brasil, há uma grande diversidade de plantas medicinais com propriedades anti-helmínticas e que possuem conhecida atividade contra fitonematoides. Em alguns casos, as plantas medicinais podem ser empregadas como antagonistas ou incorporadas ao solo, contudo, na maioria das vezes utilizam-se seus óleos essenciais ou extratos obtidos de raízes ou da parte aérea, as quais contêm substâncias nematotóxicas como alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos, compostos fenólicos, taninos entre outros (COIMBRA *et al.*, 2006; GARDIANO *et al.*, 2011; MATEUS *et al.*, 2014; NEVES *et al.*, 2008).

Extratos obtidos de folhas e sementes de mamão (*Carica papaya* L.), de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), extratos foliares de hortelã (*Mentha piperita* L.), de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.),

de melão de São Caetano (*Mormodica charantia* L.), de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), de orégano (*Origanum vulgare* L.) entre várias outras espécies, têm apresentado resultados satisfatórios no controle de nematoides fitopatogênicos (COIMBRA *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2000; GARDIANO *et al.*, 2011).

Em razão disto, objetivou-se com este trabalho avaliar, *in vitro*, o efeito de extratos aquosos de dez plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2, bem como verificar a ação dos extratos sobre a sua infectividade.

MATERIAL E MÉTODOS

Os testes, *in vitro*, foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Extratos vegetais de dez espécies medicinais: agrião-do-brejo (*Eclipta alba* L. Hassk), alfavaca (ou manjerição) (*Ocimum basilicum* L.), artemísia (*Artemisia vulgaris* L.), capim citronela (*Cymbopogon winteranus* Jowitt), chambá (*Justicia pectoralis* var. *stenophylla* Leonard), confrei (*Symphytum officinale* L.), hortelã (*Mentha x villosa* Huds), lombrigueira (*Spigelia anthelmia* L.), mastruz (ou erva-de-santa-maria) (*Chenopodium ambrosioides* L.) e menta (*Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Holme), comumente encontradas em pequenas hortas e em viveiros de plantas medicinais, foram testadas com relação ao seu efeito sobre juvenis do segundo estágio (J2) do nematoide das galhas.

As espécies medicinais foram selecionadas com base em suas ações vermífugas e propriedades terapêuticas, agrião-do-brejo, artemísia, chambá, confrei, lombrigueira e mastruz, ou por sua resistência já constatada ao *M. incognita* raça 2, alfavaca, capim citronela, hortelã e menta (MOREIRA, 2007), as quais despertaram o interesse da condução de ensaios para investigar a existência de compostos tóxicos ao nematoide das galhas nos seus extratos foliares. Todas as mudas utilizadas foram provenientes do Horto Medicinal da UFC.

Preparo dos extratos aquosos das espécies medicinais

Folhas intermediárias e jovens obtidas das espécies medicinais foram distribuídas em bandejas plásticas e secas ao ar por três a sete dias, variando de acordo com a espécie vegetal, em ambiente de casa-de-vegetação a uma temperatura de 31 ± 3 °C.

A forma de obtenção dos extratos foi baseada no método utilizado por Dias *et al.* (2000), para ensaios com juvenis de *M. javanica*. Os extratos de cada uma das 10 espécies foram preparados sob duas maneiras: infusão e maceração. Para obtenção do extrato por

infusão, 10 g de folhas secas foram colocadas em erlenmeyer e sobre elas foram adicionados 100 mL de água fervente. As folhas permaneceram em repouso por 24 horas à temperatura ambiente (27 ± 2 °C). No dia seguinte, o extrato foi filtrado em gaze e em papel Whatman nº 1. Para eliminar vestígios de fragmentos foliares, o extrato foi centrifugado a aproximadamente 2.000 rpm por 15 minutos. Ao final, obteve-se o extrato por infusão a 10% (p/v). Para o preparo do extrato por maceração, adicionaram-se 100 mL de água fria, previamente fervida, a 10 g de folhas secas contidas em um erlenmeyer, o qual foi coberto e mantido em repouso por 24 horas. Decorrido este tempo, procedeu-se à maceração das folhas em almofariz com auxílio de um pistilo. O extrato foi filtrado em gaze e papel Whatman nº 1 e igualmente centrifugado, obtendo-se o extrato por maceração a 10% (p/v). Nos dois casos, infusão e maceração, os extratos obtidos foram diluídos empregando-se uma parte do extrato e uma parte de água fervida e fria, de forma a se obter a diluição a 5% (p/v) correspondente.

Obtenção dos juvenis

Os juvenis de *M. incognita* raça 2 foram obtidos a partir de massas de ovos retiradas de raízes infestadas de tomateiros 'Santa Clara' mantidas em casa de vegetação. Com auxílio de estilete, aproximadamente 20 massas de ovos foram transferidas para placas de Petri contendo água. Após 24 horas, os juvenis eclodidos foram recolhidos com auxílio de pipeta semiautomática transferindo-os para as placas contendo os diferentes extratos.

Avaliação do efeito dos extratos vegetais sobre os juvenis

Após o preparo dos extratos aquosos das 10 espécies, um volume de 2 mL de cada extrato obtido por infusão ou por maceração, nas diluições de 10 e 5%, foi transferido para placas de Petri de acrílico medindo 3,5 cm de diâmetro. As placas devidamente numeradas foram dispostas em bandejas individuais, adicionando-se à cada placa 50 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* raça 2. Cada bandeja continha, portanto, placas com um dos quatro tipos de extratos vegetais. O controle dos ensaios consistiu de placas contendo 2 mL de água fervida e fria e com 50 juvenis.

Delineamento experimental

Utilizou-se neste ensaio um esquema fatorial ($2 \times 2 \times 10$) +1, sendo dois métodos de obtenção dos extratos (maceração e infusão), duas diluições (10 e 5%), 10 espécies medicinais e água (controle), dispostos em um delineamento inteiramente casualizado. Foram empregadas oito repetições (placas) e 400 juvenis por tratamento,

totalizando 17.600 juvenis examinados, incluindo todas as placas e o controle dos ensaios.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7,5 *beta* (SILVA; AZEVEDO, 2009), com a comparação das médias feita pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Avaliação dos resultados

As avaliações para determinar a ação nematostática dos extratos vegetais foram realizadas sob microscópio estereoscópio observando-se a motilidade dos juvenis 48 horas após a montagem dos ensaios. Registrou-se a quantidade de J2 ativos e inativos, considerando-se inativos os juvenis sem motilidade e que apresentavam o corpo com aspecto retilíneo. Após essa contagem, todos os J2 de cada placa foram transferidos com auxílio de uma pipeta semiautomática para placas de Petri contendo água, com o propósito de se verificar uma possível recuperação de suas atividades. Decorridas 24 horas, foi feita uma nova observação e contagem dos juvenis com e sem atividade para, com isto, inferir um efeito nematicida aos extratos. Assim, foram considerados mortos os J2 que não recuperaram a motilidade após as 24 horas de incubação em água.

Avaliação da infectividade dos juvenis em mudas de tomateiro

Após a segunda contagem de J2 em água, recolheram-se todos os juvenis ativos de um mesmo tratamento, ou seja, obtidos de cada um dos quatro extratos das 10 espécies, em uma suspensão a qual foi empregada para inocular, individualmente, mudas de tomateiro 'Santa Clara' que permaneceram por 45 dias em casa de vegetação (31 ± 3 °C). Este teste foi realizado para se verificar se os J2 ativos, após incubação na água, ainda permaneciam infectivos. Os juvenis que permaneceram os três dias na água (controle) foram também inoculados em mudas de tomateiros.

A avaliação da infectividade foi realizada ao término dos 45 dias, com a observação da presença ou não de galhas e massas de ovos nas raízes dos tomateiros. Nos casos positivos, procedeu-se à contagem do número de galhas e de massa de ovos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Imotilidade e mortalidade *in vitro*

Os resultados da ação dos extratos foliares das 10 espécies medicinais sobre a motilidade e mortalidade

dos juvenis de *M. incognita* raça 2 estão apresentados na Tabela 1. Imotilidade superior a 75% foi observada em extratos de todas as espécies medicinais obtidos por infusão na diluição a 10%. Números mais elevados de juvenis inativos foram verificados em extratos preparados por maceração a 10% de sete espécies, excetuando-se apenas capim citronela, hortelã e menta. Na diluição a 5%, este efeito nematostático foi verificado somente em extratos de lombrigueira e de mastruz, nas duas formas de obtenção, maceração e infusão (Tabela 1).

Com relação ao efeito nematicida, confirmado pela mortalidade dos J2 após incubação em água, verificou-se que percentuais superiores a 75% foram observados em ambos os tipos de extratos (infusão e maceração) de seis espécies, agrião-do-brejo, alfavaca, artemísia, chambá, lombrigueira e mastruz, na diluição a 10%. Essa ação foi, contudo, mais pronunciada nos extratos obtidos por maceração, cuja mortalidade de J2, na maioria dos casos, variou de 88 a 100.

Na diluição a 5%, eficaz ação nematicida ocorreu apenas em extratos de lombrigueira (71,5%) e de mastruz (100%), registrando-se para os extratos das quatro demais espécies percentuais máximos de 16% (Tabela 1). Resultados similares, quanto à superior eficiência de extratos obtidos por maceração sobre o preparo por infusão, foram também observados por Dias *et al.* (2000) em ensaios envolvendo extratos aquosos de outras espécies medicinais e juvenis de *M. incognita*. De acordo com Ferris e Zheng (1999), a diferença na ação tóxica de extratos vegetais pode ser em razão de o princípio ativo presente nas folhas ser, provavelmente, sensível ao calor. Entretanto, neste trabalho observou-se, particularmente para a lombrigueira, que o maior efeito nematostático/nematicida do extrato macerado sobre o extrato da infusão na diluição a 10%, foi invertido na diluição a 5%, ocasião em que o extrato resultante da infusão das folhas provocou a mortalidade dos juvenis em número maior (82,5%) que o do macerado (71,5%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2 inativos contados após 48 horas de exposição a extratos de plantas medicinais obtidos por maceração ou infusão e número de juvenis mortos contados após 24 horas da recuperação em água

| Tratamentos | 48 horas nos extratos | | | | 24 horas na água | | | |
|-----------------|-------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Maceração | | Infusão | | Maceração | | Infusão | |
| | 10% | 5% | 10% | 5% | 10% | 5% | 10% | 5% |
| Agrião | 50,00 Aa* (100,0%)** | 5,88 Ec (11,8%) | 44,75 Bb (89,5%) | 4,75 Gc (9,5%) | 50,00 Aa (100,0%) | 3,88 Gc (7,8%) | 43,25 Bb (86,5%) | 4,75 Gc (9,5%) |
| Alfavaca | 46,00 Ba (92,0%) | 5,88 Ed (11,8%) | 37,75 Db (75,5%) | 19,25 Ec (38,5%) | 46,00 Ba (92,0%) | 5,88 Fd (11,8%) | 31,13 Db (62,3%) | 12,00 Ec (24,0%) |
| Artemísia | 46,25 Ba (92,5%) | 8,00 Dc (16,0%) | 40,00 Cb (80,0%) | 3,50 Gd (7,0%) | 44,88 Ca (89,8%) | 8,00 Ec (16,0%) | 39,00 Cb (78,0%) | 3,50 Gd (7,0%) |
| Capim citronela | 5,50 Eb (11,0%) | 0,00 Fc (0,0%) | 44,38 Ba (88,8%) | 0,75 Hc (1,5%) | 0,00 Gb (0,0%) | 0,00 Hb (0,0%) | 3,38 Ga (6,8%) | 0,00 Hb (0,0%) |
| Chambá | 44,13 Ba (88,3%) | 5,13 Ed (10,3%) | 38,88 Cb (77,8%) | 20,25 Dc (40,5%) | 44,25 Ca (88,5%) | 5,25 Fd (10,5%) | 38,75 Cb (77,5%) | 19,13 Dc (38,3%) |
| Confrei | 36,88 Cb (73,8%) | 21,75 Cd (43,5%) | 40,88 Ca (81,8%) | 23,63 Cc (47,3%) | 35,63 Db (71,3%) | 24,75 Cc (49,5%) | 39,50 Ca (79,0%) | 23,63 Cc (47,3%) |
| Hortelã | 22,88 Db (45,8%) | 5,00 Ec (10,0%) | 38,00 Ca (76,0%) | 4,38 Gc (8,8%) | 13,00 Fb (26,0%) | 5,00 Gc (10,0%) | 19,50 Ea (39,0%) | 4,37 Gc (8,8%) |
| Lombrigueira | 50,00 Aa (100,0%) | 35,75 Bd (71,5%) | 45,25 Bb (90,5%) | 41,25 Bc (82,5%) | 50,00 Aa (100,0%) | 35,75 Bd (71,5%) | 44,88 Bb (89,8%) | 41,25 Bc (82,5%) |
| Mastruz | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) | 50,00 Aa (100,0%) |
| Menta | 25,34 Db (50,7%) | 9,63 Dc (19,3%) | 44,00 Ba (88,0%) | 10,38 Fc (20,8%) | 23,00 Ea (46,0%) | 9,63 Dc (19,3%) | 15,75 Fb (31,5%) | 7,13 Fd (14,3%) |
| Água*** | 0,50 Fa (1,0%) | 0,75 Fa (1,5%) | 0,88 Ea (1,8%) | 0,75 Há (1,5%) | 0,50 Ga (1,0%) | 1,13 Ha (2,26%) | 1,13 Ha (2,26%) | 0,75 Ha (1,5%) |

*Número médio de oito repetições com 50 juvenis testados/placa; **Percentual; *** Controle negativo; Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tuckey; (P<0,01); Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey; (P<0,01)

A atividade anti-helmíntica desta espécie medicinal, conhecida por lombrigueira, foi relatada por Morais *et al.* (2002), para o nematoide de caprinos *Haemonchus contortus*. Os autores observaram uma imobilização significativa de juvenis com a utilização do extrato etanólico da parte aérea dessa planta, atribuindo o efeito tóxico do extrato aos principais constituintes, o alcaloide diterpênico spigantina e 3,7-dihidroxi-3',4'-dimetoxiflavona.

Com base nas análises, ressalta-se que não houve diferença estatística significativa quanto à mortalidade de juvenis de *M. incognita* raça 2 entre os extratos de agrião do brejo, lombrigueira e mastruz obtidos por maceração na diluição a 10%. Os resultados dos demais extratos foliares, porém, diferiram entre si e, exceto para o capim citronela a 5%, todos os valores de imotilidade e mortalidade em extratos diferiram daqueles verificados com os juvenis que permaneceram em água (controle) (Tabela 1).

Comparando-se os valores na contagem de J2 inativos com os de J2 mortos em extratos macerados de agrião do brejo (100%), alfavaca (92%), chambá (88,3%), confrei (73,8%), lombrigueira (100%) e mastruz (100%), observa-se que o efeito nematostático, então verificado nesses extratos diluídos a 10%, já seria o efeito nematicida, inferindo-se que a ação tóxica que os inativou nos extratos não possibilitou a sua recuperação na água.

O extrato do agrião-do-brejo apresentou um efeito nematostático/nematicida bem elevado na diluição a 10%, contudo, tanto a inativação como a morte de juvenis na diluição a 5%, não alcançaram os 12%. Begum, Shaikat e Siddiqui (2003), verificaram que extratos aquosos de *Eclipta prostrata*, espécie do mesmo gênero do agrião, em concentrações mais elevadas provocaram menor percentual de mortalidade em juvenis de *M. javanica*.

Os resultados obtidos com extratos aquosos de alfavaca confirmaram que, a exemplo de outras espécies do gênero *Ocimum* como *O. sanctum* e *O. americanum*, estas plantas têm uma atividade nematicida muito pronunciada (FERRAZ; FREITAS, 2004). Além do monoterpeno linalool, há registro do sesquiterpeno eugenol presente em óleo essencial obtido de alfavaca, compostos referidos como de ação nematicida (FERRAZ *et al.*, 2012; LOPES *et al.*, 2005; MAZUTTI *et al.*, 2006).

A atividade nematotóxica observada nos ensaios com extratos de artemísia se aproxima daquela relatada por Dias *et al.* (2000) para a espécie *Artemisia. absinthium*, cujos extratos aquosos revelaram um efeito nematicida sobre juvenis de *M. incognita* de 91,75% quando obtidos por infusão e de 99,75 quando preparados por maceração. Informações semelhantes foram relatadas por Ferris e Zheng (1999) para outras duas espécies do gênero, *A. capillaris* e *A. argyi*, as quais apresentaram atividade

nematicida sobre juvenis de *M. javanica*. Com relação aos extratos de chambá, espécie de conhecidas propriedades medicinais, informações de atividade nociva sobre fitonematoides não foram ainda relatadas. No entanto para o confrei, em trabalho conduzido por Dias *et al.* (2000), os extratos da planta obtidos por maceração dos tecidos foram um dos mais eficientes na inativação de juvenis (J2) de *M. incognita*.

O extrato obtido de capim citronela por infusão e na diluição a 10% apresentou um significativo efeito nematostático causando paralisação em 88,8% dos juvenis (Tabela 1). Moreira, Santos e Innecco (2009) testando o óleo essencial dessa espécie *in vitro*, em diluições de até 3:10.000 verificaram uma ação nematostática e nematicida muito forte, não havendo sequer a eclosão de juvenis. Este efeito tóxico obtido com o óleo essencial de capim citronela deve-se à maior concentração de substâncias bioativas como o citronelol. Com os extratos aquosos do capim citronela, porém, tal atividade nematicida não pode ser constatada (Tabela 1). Estudos conduzidos por Moreira (2007), com capim citronela e *M. incognita* raça 2, revelaram que a planta medicinal não foi parasitada pelo patógeno, sendo considerada pelo autor, planta não hospedeira do nematoide. Esses dados pressupõem que plantas não hospedeiras não detém, obrigatoriamente, substâncias de efeito nematicida na parte aérea.

O extrato aquoso obtido por infusão das folhas da espécie medicinal menta teve um comportamento semelhante ao do capim citronela, apresentando elevado efeito nematostático na diluição a 10%, com 88% de inativação de juvenis, porém com grande recuperação dos mesmos, indicando fraca ação nematicida. No extrato de folhas maceradas a imotilidade e morte dos J2 foi inferior a 50%. Steffen *et al.* (2008) avaliaram o efeito, *in vitro*, do óleo essencial de menta sobre a eclosão de J2 de *M. graminicola*, e também observaram apenas o efeito nematostático sobre esta espécie.

O extrato de hortelã foi o menos eficiente quando comparado aos demais tratamentos, uma vez que apresentou um efeito nematostático máximo de 76% quando foi obtido por infusão e na diluição a 10%. Nos demais casos, a inatividade de J2 foi inferior a 46% e a sua ação nematicida atuou sobre apenas 39% dos juvenis (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Dias *et al.* (2000) para o extrato aquoso de hortelã, cuja imotilidade superou consideravelmente a mortalidade de juvenis de *M. incognita*. Coimbra *et al.* (2006), relataram que o extrato de hortelã obtido por infusão provocou 98,8% de imobilidade em juvenis e em adultos do nematoide *Scutellonema bradys*, porém causou reduzida mortalidade do referido patógeno (39,5%). Os dados indicam que, apesar da hortelã ser utilizada na

medicina popular como planta vermífuga, seus extratos não atuaram sobre o *M. incognita* raça 2 de forma eficaz.

Confirma-se, pelos dados obtidos neste ensaio, particularmente para capim citronela, hortelã e menta, a importância da passagem dos juvenis em água após permanência em extratos vegetais, uma vez que a imotilidade induzida pela presença de substâncias de efeito nematostático pode ser revertida, ou seja, a imotilidade não implica em ação nematicida, conforme observado também por outros autores (COIMBRA *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2000; FERRIS; ZHENG, 1999; NEVES *et al.*, 2008).

Neste estudo, os melhores resultados relativos à mortalidade (100%) dos juvenis de *M. incognita* raça 2 foram atribuídos à espécie medicinal mastruz, nas duas formas de obtenção e diluições do extrato. Mello, Machado e Inomoto (2006), avaliaram, *in vitro*, o potencial nematicida dessa espécie sobre o nematoide *Pratylenchus brachyurus* ressaltando que extratos aquosos diluídos a 20% e produzidos com incubação de folhas por 24 horas provocaram considerável mortalidade do patógeno. No presente estudo, extratos foliares diluídos a 5% causaram a total mortalidade de juvenis de *M. incognita* raça 2, indicando que o mastruz pode ser considerado uma planta promissora para o manejo de nematoides das galhas.

Infectividade dos juvenis (J2) em mudas de tomateiro

As diferentes mudas de tomateiro inoculadas com os juvenis ativos que permaneceram somente na água (controle) pelos três dias (98% dos J2) apresentaram de 10 a 24 galhas e de uma a quatro massas de ovos em suas raízes (dados não apresentados).

As plantas de tomateiro inoculadas com os J2 ativos expostos aos extratos de agrião-do-brejo induziram a formação de três a 12 galhas, enquanto que os poucos juvenis que sobreviveram no extrato de lombrigueira provocaram quatro a seis pequenas galhas nas raízes.

A infectividade do reduzido número de J2 vivos dos extratos macerados a 10% das plantas medicinais alfavaca, artemísia e confrei foi muito semelhante entre si, provocando em tomateiros a formação de menos de 10 galhas. Na diluição a 5%, os 200 a 300 juvenis ativos obtidos de cada um dos quatro extratos, causaram em 'Santa Clara' uma média de nove a 20 diminutas galhas com apenas duas a cinco massas de ovos. Um número um pouco maior de galhas (10-55) foi contado em raízes de tomateiro inoculado com J2 sobreviventes do tratamento com chambá superando a testemunha.

Os juvenis tratados com extratos de folhas maceradas de capim citronela, apesar de estarem todos ativos e aparentemente não afetados, produziram baixo número de galhas (duas a cinco) e ausência de massa

de ovos em tomateiro, sugerindo que, embora ativos, os juvenis tenham perdido a infectividade. Quando expostos ao extrato de capim citronela obtido por infusão, porém, os juvenis provocaram um pouco mais de galhas (11-30) e massa de ovos (5).

Nos extratos de hortelã e menta, nos quais foram baixos os percentuais de imotilidade e mortalidade, observou-se que os mais de 250 J2 ativos inoculados em mudas não formaram galhas nas raízes, indicando que tiveram provavelmente a sua infectividade afetada. Isto também se repetiu para os J2 das diluições a 5% desses extratos, onde a ação nematostática não foi observada. Em extratos da menta, os J2 inativos que se recuperam na água, também não foram infectivos no tomateiro. Finalmente, não se observaram J2 ativos nos extratos de mastruz.

O comportamento dos juvenis, ativos e não infectivos, nos diferentes extratos, atenta para o fato de que a recuperação da atividade na água, após permanência em extratos, não revela, isoladamente, que os juvenis estão ainda infectivos.

A redução da penetração de juvenis em raízes, de acordo com Freire *et al* (2007), pode estar associada a uma perda do teor lipídico corporal do J2, o qual é acumulado durante o desenvolvimento embrionário e deve suprir o J2 de energia para eclodir e cumprir, com êxito, as etapas requeridas no seu processo de parasitismo. A redução da infectividade dos juvenis pode, em parte, ser atribuída ao gasto das reservas lipídicas, resultante da sua contínua movimentação em água (CAMPOS; CAMPOS; POZZA, 2006), no entanto, a infectividade do J2 pode ser também alterada por ação de extratos de alguns vegetais. Testes de infectividade devem ser sempre realizados para complementar esse tipo de informação.

Verificou-se, neste trabalho, que extratos das espécies agrião-do-brejo, alfavaca, artemísia, chambá, lombrigueira e mastruz destacaram-se nos ensaios por possuírem ação nematicida bastante elevada. Contudo, estudos adicionais são requeridos para identificar as substâncias bioativas e comprovar a atividade nematicida promissora dos extratos em campo, uma vez que essas espécies demonstraram potencial para inclusão dentre as práticas de controle alternativo do nematoide das galhas.

CONCLUSÕES

1. Em extratos foliares obtidos por maceração a imobilidade e mortalidade de juvenis de *M. incognita* raça 2 foram mais expressivas que em extratos obtidos por infusão de folhas;

2. Os extratos das espécies agrião-do-brejo, alfavaca, artemísia, chambá, lombrigueira apresentaram efeito nematostático e nematicida elevados;
3. Os extratos de mastruz causaram total mortalidade dos juvenis;
4. Inatividade de juvenis em extratos pode ser recuperada após a incubação em água;
5. Testes de infectividade devem ser realizados nos estudos que investigam o efeito de extratos sobre juvenis *in vitro*.

AGRADECIMENTOS

Ao Horto de Plantas Medicinais do Projeto Farmácias Vivas da Universidade Federal do Ceará, pelas mudas de plantas medicinais cedidas para realização deste trabalho. Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- BEGUM, Z.; SHAUKAT, S. S.; SIDDIQUI, I.A. Suppression of *Meloidogyne javanica* by *Conyza canadensis*, *Blumea obliqua*, *Amaranthus viridis* and *Eclipta prostrata*. **Pakistan Journal of Plant Pathology**, v. 2, n. 3, p. 174-180, 2003.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito do tempo e da temperatura de incubação de juvenis de segundo estágio (J2) no teor de lipídio corporal e no parasitismo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 387-393, 2006.
- CARBONI, R. Z.; MAZZONETTO, F. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. **Revista Agrogeambiental**, v. 5, n. 2, p. 61-66, 2013.
- COIMBRA, J. L. *et al.* Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 7, p. 1209-1211, 2006.
- DIAS, C. R. *et al.* Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 203-210, 2000.
- FERRAZ, S. *et al.* **Manejo Sustentável de Fitonematóides**. Viçosa, MG: UFV, 2012. 304 p.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. (Ed.) **Nematology: advances and perspectives**. Wallingford UK: CABI Publishing, 2004. p. 931-977.
- 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.
- FRANZENER G. *et al.* Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 27-36, 2007.
- FREIRE, E. S. *et al.* Infectividade de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* em tomateiro após privação alimentar em solo e água em diferentes condições. **Summa Phytopathologic**, v. 33, n. 3, p. 270-274, 2007.
- GARDIANO, C. G. *et al.* Efeito de extratos aquosos de espécies vegetais sobre a multiplicação de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 553-556, 2011.
- LOPES, E. A. *et al.* Efeito dos extratos aquosos de Mucuna preta e manjerição sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-74, 2005.
- MANSO, E. C. *et al.* **Catálogo de nematóides fitoparasitas encontrados, associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1994. 488 p.
- MATEUS *et al.* Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 730-736, 2014.
- MAZUTTI, M. *et al.* Caracterização química de extratos de *Ocimum basilicum* L. obtidos através de extração com CO₂ a altas pressões. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1198-1202, 2006.
- MELLO, A. F. S.; MACHADO, A. C. Z.; INOMOTO, M. M. Potencial de controle de erva-de-Santa-Maria sobre *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 513-516, 2006.
- MORAIS, S. M. *et al.* Chemical investigation of *Spigelia anthelmia* Linn. used in Brazilian folk medicine as Anthelmintic. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 81-82, 2002. Suplemento.
- MOREIRA, F. J. C. **Hospedabilidade de plantas ornamentais e medicinais a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood (1949) e controle alternativo com óleos essenciais**. 2007. 145 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- MOREIRA, F. J. C.; SANTOS, C. D. G.; INNECCO, R. Ecloração e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raça 2 em óleos essenciais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 3, p. 441-448, 2009.
- NEVES *et al.* 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, p. 93-100, 2008.
- SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. A new version of the Assisat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., 2006, Orlando-FL USA. **Anais eletrônicos...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. Disponível em: <http://assisat.sites.uol.com.br>. Acesso em: 13 maio 2009.

SILVA, G. S. *et al.* Efeito da incorporação de resíduos foliares de *Piper aduncum* ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 219-222, 2006.

SILVA, G. S. Métodos alternativos de controle de fitonematóides. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 19, p. 81-152, 2012.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. *In*: LUZ, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 16, p. 265-304, 2008.

STEFFEN, R. B. *et al.* Avaliação de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 126-134, 2008.