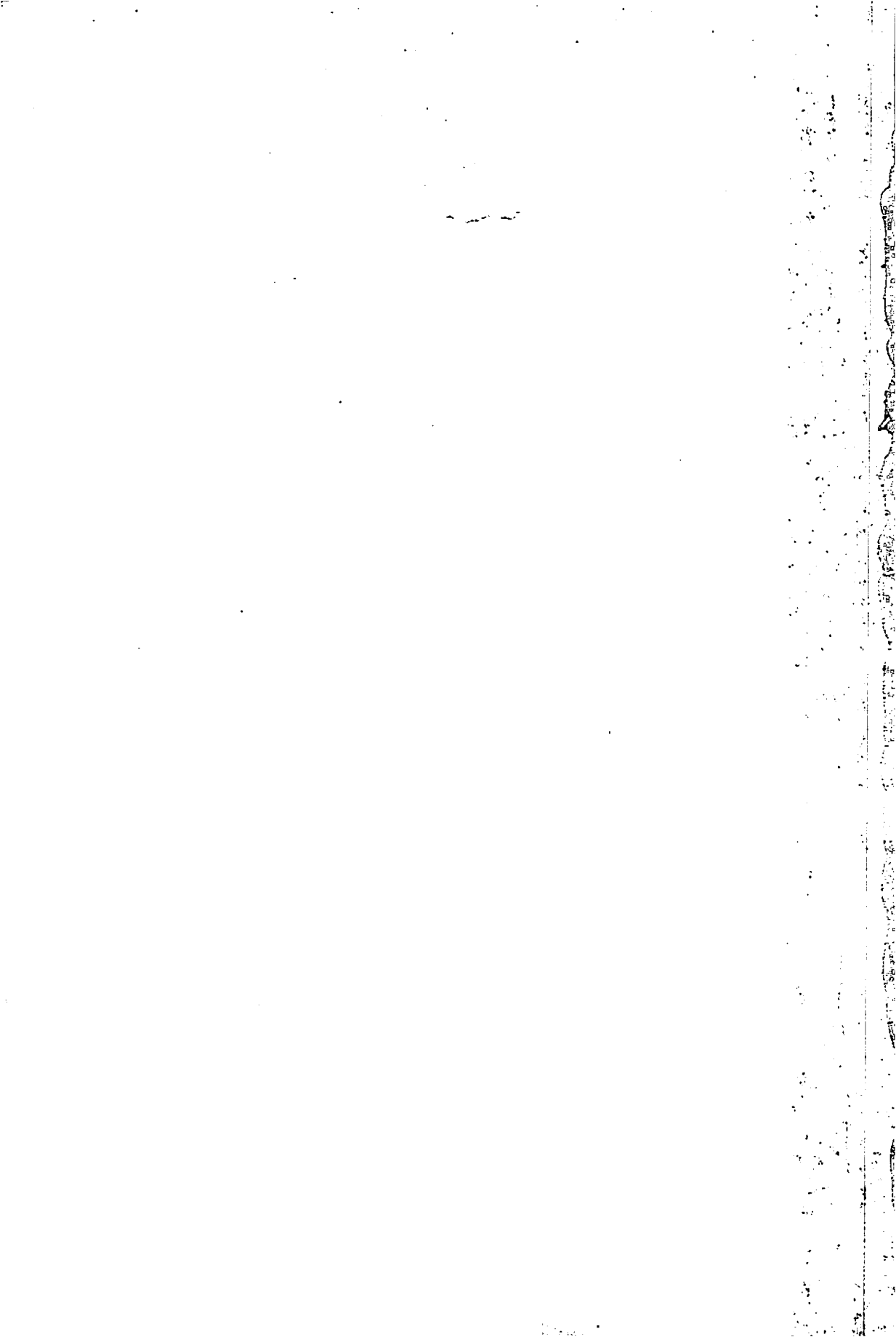


**PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE  
FITONEMATÓIDES**

**SÔNIA MARIA DE LIMA SALGADO**

**2001**



SÔNIA MARIA DE LIMA SALGADO

**PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE  
FITONEMATÓIDES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia, área de concentração  
Fitopatologia, para obtenção do título de Doutora.

Orientador

Prof. Dr. Vicente Paulo Campos

LAVRAS  
MINAS GERAIS

2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Salgado, Sônia Maria de Lima

Produtos naturais no controle de fitonematóides / Sônia Maria de Lima

Salgado. -- Lavras : UFLA, 2001.

120 p. : il.

Orientador: Vicente Paulo Campos.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Fitonematóide. 2. *Meloidogyne incognita*. 3. *Meloidogyne exigua*. 5. Produto natural. 6. Controle biológico. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-589.2

.595.182

632.96


**SÔNIA MARIA DE LIMA SALGADO**

**PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE FITONEMATÓIDES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para obtenção do grau de Doutora.

APROVADA em 26 de novembro de 2001.

Prof. Silamar Ferraz	UFV
Profa. Maria das Graças Cardoso	UFLA
Prof. Denilson Ferreira de Oliveira	UFLA
Prof. Mário Sobral de Abreu	UFLA

  
Prof. Vicente Paulo Campos  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL



**A Deus, pela vida e pela força na realização deste(trabalho,  
e ao meu marido, Paulo,**

**OFEREÇO**

**Aos meus filhos,  
André (11 anos) e Sílvia (5 anos), que na  
sua pouca idade compreenderam a importância  
desta conquista,**

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Do infinito ao microscópico, o Criador foi um só, por isso agradeço a DEUS, Criador de todas as coisas, pela força concedida para vencer os desafios e obter esta conquista.

Aos meus pais, que na sua simplicidade não mediram esforços para estudar todos os filhos e mostrar-lhes a satisfação da vitória. Aos meus irmãos, José Maria Lima e Luiz Antonio Lima, pelo grande incentivo e exemplo de dedicação aos estudos e ao trabalho. Às minhas irmãs, Maria José e Ana Maria, que sempre me apoiaram. Aos meus sogros, Ernesta e Paulo, e a todos os familiares e amigos, que não mediram esforços para zelar pelos meus filhos.

Agradeço à Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do curso. À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço ao Prof. Vicente Paulo Campos que, com muito conhecimento e experiência, conduziu a orientação deste trabalho.

Aos professores Maria das Graças Cardoso e Denilson Ferreira de Oliveira, pelo grande auxílio nos trabalhos realizados no Departamento de Química. Aos professores Mário Lúcio V. de Resende e Mário Sobral de Abreu pelo reconhecimento e incentivo. Aos professores Daniel Furtado Ferreira e Eduardo Bearzoti, pelas orientações estatísticas. Aos professores Antônio G. Bertechini, Valdemar Faquim e Nadiel Massahud, pela contribuição. A todos os professores do Departamento de Fitopatologia, pelo ensinamento.

Ao Centro de Pesquisa do Centro Universitário de Lavras, pelo apoio na realização dos trabalhos.

Meus agradecimentos ao Tarley Luiz de Paula, que não mediu esforços em ajudar nos trabalhos de laboratório e casa-de-vegetação. Aos colegas do Laboratório de Nematologia, Rose, Cacilda, Hércules, Marcos Roberto



**(Varginha), Cléber, Daniel, Tales, João, Anderson, Silvana e Fernando, pelas sugestões e agradável convívio.**

**Agradeço a todos os colegas de curso e funcionários do Departamento de Fitopatologia, pela alegre convivência.**

**A todos aqueles que contribuíram com palavras de estímulo, incentivando nos momentos difíceis, MUITO OBRIGADA.**

## SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1: Produtos naturais no controle de fitonematóides.....	i
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
1. Introdução Geral.....	1
2. Referencial Teórico.....	4
2.1. Nematóides: aspectos gerais.....	4
2.2. Estratégias para o controle de fitonematóides.....	7
2.2.1. Extratos vegetais empregados no controle de fitonematóides.....	9
2.2.2. Óleos essenciais.....	15
2.2.3. Controle de nematóides com óleos essenciais.....	16
3. Referências Bibliográficas.....	19
CAPÍTULO 2: Extratos orgânicos e produtos naturais na eclosão, mobilidade e mortalidade de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	32
Resumo.....	33
Abstract.....	34
1. Introdução.....	35
2. Material e Métodos.....	37
2.1. Experimento 1: Extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais na mobilidade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne exigua in vitro</i> .....	37
2.1.1. Obtenção de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	37
2.1.2. Preparo dos extratos.....	38
2.1.3. Efeito de extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais na mobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>M. exigua</i> .....	40
2.2. Experimento 2: Mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> em extratos de especiarias aromáticas, solução hidropônica, probiótico (Controlmix) e produtos naturais.....	41
2.2.1. Preparo dos extratos e demais produtos.....	41
2.2.2. Efeito de extratos de especiarias aromáticas, probiótico, solução hidropônica e produtos naturais na eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	42
2.2.3. Efeito de extratos de especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e produtos naturais na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	43

3. Resultados e Discussão.....	45
3.1. Extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais na mobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua in vitro</i> .....	45
3.2. Efeito dos extratos das especiarias aromáticas, probiótico, solução hidropônica e produtos naturais na mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	47
4. Conclusões.....	53
5. Referências Bibliográficas.....	54

<b>CAPÍTULO 3: Eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne exigua</i> do cafeeiro em óleos essenciais.....</b>	<b>59</b>
Resumo.....	60
Abstract.....	61
1. Introdução.....	62
2. Material e Métodos.....	65
2.1. Obtenção de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	65
2.2. Extração dos óleos essenciais.....	65
2.3. Preparo dos óleos essenciais para os testes de eclosão e mortalidade.....	68
2.4. Efeito de óleos essenciais na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua in vitro</i> .....	68
2.5. Efeito de óleos essenciais na eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua in vitro</i> .....	69
3. Resultados e Discussão.....	71
3.1. Efeito de óleos essenciais na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	71
3.2. Efeito de óleos essenciais na eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> .....	74
4. Conclusões.....	75
5. Referências Bibliográficas.....	76

<b>CAPÍTULO 4: Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de <i>Meloidogyne exigua</i> Goeldi, 1887, em cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.) e de <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid &amp; White, 1919) Chitwood, 1949, raça 3 em feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>	<b>82</b>
Resumo.....	83
Abstract.....	84
1. Introdução.....	85
2. Material e Métodos.....	87

2.1. Obtenção de ovos de <i>Meloidogyne exigua</i> e <i>M. incognita</i> .....	87
2.2. Obtenção de mudas de cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> ) e de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).....	87
2.3. Preparo dos extratos, do probiótico e montagem do experimento.....	88
2.4. Efeito de extratos vegetais e do probiótico (Controlmix) na patogenicidade e reprodução de <i>Meloidogyne exigua</i> em cafeeiro.....	89
2.5. Efeito de extratos vegetais e do probiótico (Controlmix) na patogenicidade e reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 3 em feijoeiro.....	90
3. Resultados e Discussão.....	92
3.1. Efeito de extratos vegetais e probiótico na reprodução e patogenicidade de <i>Meloidogyne exigua</i> do cafeeiro.....	92
3.2. Efeito de extratos vegetais e probiótico na reprodução e patogenicidade de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 3 em feijoeiro.....	96
4. Conclusões.....	100
5. Referências Bibliográficas.....	101
ANEXOS.....	108

## RESUMO

SALGADO, Sônia Maria de Lima. Produtos naturais no controle de fitonematóides. Lavras:UFLA, 2001. 120 p. (Tese - Doutorado em Fitopatologia).\*

A mobilidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* foi avaliada em extratos aquosos e metanólicos de *Solanum grandiflorum* Ruiz et Pav (lobeira), *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja-amarga), *Piper hispidinervium* C. DC. (pimenta-longa), *Melia azedarach* L. (Santa-Bárbara), *Momordica charantia* L. (melão-de-São-Caetano) e *Arnica montana* L. (arnica). A mortalidade e a eclosão de J2 de *M. exigua* foram avaliadas em extratos aquosos de *Bixa orellana* L. (urucum-colorau), *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (cravo-da-índia), *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela), *Piper nigrum* L. (pimenta-do-reino), *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), *Petroselinum crispum* (P. Mill) Nyman ex A. W. Hill (salsa), soro do leite, solução nutritiva hidropônica e solução aquosa de cloreto de sódio (NaCl) e de açúcar (sacarose), fermento biológico e probiótico (Controlmix). Após 24 horas de imersão dos J2 nos extratos, maior imobilização ocorreu no extrato aquoso do fruto de *M. azedarach*, comparado com aquela em água. Após 24 horas do contato de J2 com os extratos, maior mortalidade ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu no soro do leite e nos extratos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), fermento biológico e na solução de cloreto de sódio, comparados com todos os demais. Mortalidade acima de 50 % também ocorreu no extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e no probiótico (Controlmix), ao passo que no extrato de *Piper nigrum* (pimenta-do-reino), a mortalidade ficou em 11,8%, sendo todos maiores ( $P \leq 0,05$ ) do que aquela na água. A eclosão foi testada colocando os ovos de *M. exigua* em contato com os extratos durante 14 dias a 25°C. Maior inibição ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu em todos os extratos e produtos testados, comparados com aquela em água, com exceção da sacarose e da solução hidropônica. Entre todos os extratos e produtos testados, maior inibição ( $P \leq 0,05$ ) da eclosão ocorreu nos extratos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), *Zingiber officinale* (gengibre), soro de leite, solução de cloreto de sódio (NaCl) e no probiótico (Controlmix). Os óleos essenciais são constituídos de substâncias, algumas já testadas e com efeito nematocida no controle de fitonematóides. A mortalidade e a eclosão foram avaliadas em juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* nos óleos essenciais de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligma*, *E. urophylla*, *Bixa orellana* (urucum), *Cymbopogon*

---

\* Comitê de Orientação: Vicente Paulo Campos - UFLA (Orientador); Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA; Maria das Graças Cardoso - UFLA.

*nardus* (citronela), *Xylopiã brasiliensis* (pindaíba) e *Melia azedarach* (Santa-Bárbara). O óleo foi extraído pelo arraste a vapor d'água, utilizando o aparelho de Clevenger modificado, ou pela imersão das partes do fruto de *M. azedarach* em solventes orgânicos. Após a extração, todos os óleos foram solubilizados em dimetil sulfóxido. A mortalidade dos J2 foi avaliada 24 horas após a imersão nos óleos. Maior mortalidade ( $P \leq 0,05$ ) foi igualmente demonstrada pelos óleos de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligma*, *E. urophylla*, *Bixa orellana*, *X. brasiliensis* e óleos da polpa e casca dos frutos de *M. azedarach*, comparada com aquela na água. A eclosão dos J2 de *M. exigua* nos óleos essenciais foi avaliada 14 dias após a incubação dos ovos a 25°C no escuro. Os óleos não causaram inibição da eclosão dos J2, comparada com a água, fato que provavelmente ocorreu pela volatilização de substâncias constituintes dos óleos. Entretanto, a alta mortalidade dos J2 de *M. exigua* em alguns dos óleos essenciais testados demonstra o potencial nematicida de suas substâncias bioativas. Em casa-de-vegetação avaliou-se o efeito dos extratos de *Syzigium aromaticum* (cravo-da-índia), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Bixa orellana* (urucum), e do probiótico (Controlmix) na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 3 do feijoeiro, bem como de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro, acrescido de mais um extrato da espécie *Melia azedarach* (Santa-Bárbara). Os extratos foram preparados pela infusão de órgãos vegetais em água. Plântulas de feijoeiro receberam 30 mL de extrato e 5400 ovos de *M. incognita* raça 3. Mudanças de café receberam 30 mL de extrato e 3000 ovos de *M. exigua* por planta. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições. A avaliação foi realizada aos 35 dias após a inoculação do nematóide no feijoeiro e 100 dias após a inoculação de *M. exigua* no cafeeiro. A população de *M. incognita* raça 3 em feijoeiro foi reduzida ( $P \leq 0,05$ ) com a aplicação de todos os extratos, comparada com a testemunha, sem alterar a massa seca e altura das plantas. A população de *M. exigua* no cafeeiro foi reduzida ( $P \leq 0,05$ ) com a aplicação de extratos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Bixa orellana* (urucum) e do probiótico (Controlmix), comparada com a testemunha, sem aumentar a matéria seca e altura das plantas. Porém, os extratos do botão floral de *Syzigium aromaticum* (cravo-da-índia) e folhas de *Melia azedarach* (Santa-Bárbara) aumentaram ( $P \leq 0,05$ ) a população de *M. exigua* em café. Maior eficácia na redução populacional desse nematóide e de *M. incognita* raça 3 ocorreu com o extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), entre todos os extratos testados.

## ABSTRACT

SALGADO, Sônia Maria de Lima. Natural products for nematode control. Lavras:UFLA, 2001. 120p. (Tese – Doutorado em Fitopatologia).

Mobility of second stage juveniles (J2) of coffee *Meloidogyne exigua* was evaluated in aqueous and methanolic extracts of *Solanum grandiflorum* Ruiz et Pav, *Baccharis trimera* (Less.) DC, *Piper hispidinervium* C. DC., *Melia azedarach* L., *Momordica charantia* L. and *Arnica montana* L. Mortality and hatching of *M. exigua* J2 were evaluated in aqueous of: *Bixa orellana* L., *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, *Cinnamomum zeylanicum* Breyn, *Piper nigrum* L., *Zingiber officinale* Roscoe, *Petroselinum crispum* (P. Mill) Nyman ex A. W. Hill, whey of milk, hydroponic solution, aqueous solution of sodium chloride (NaCl) and sugar (saccharose), yeast and probiotic (Controlmix) solutions. After 24 hours J2 immersion in the extracts, greater J2 immobilization occurred in the water extract of *Melia azedarach* fruit compared to that in water. After 24 hours of J2 contacts with the extracts, greater mortality ( $P \leq 0,05$ ) occurred in the whey of milk, *Cinnamomum zeylanicum*, solutions of yeast and sodium chloride (NaCl), as compared to all tested extracts. Extracts of *Syzygium aromaticum* and Controlmix probiotic caused J2 mortality above 50% and extract of *Piper nigrum* caused 11,8%, all of them greater ( $P \leq 0,05$ ) than that in water. Hatching was tested placing *M. exigua* eggs in extracts for 14 days at 25°C. Greater hatching inhibition ( $P \leq 0,05$ ) occurred in all extracts and products tested compared with that in water, with exception of sugar and hydroponic solutions. Among all extracts and products tested, greater ( $P \leq 0,05$ ) hatching inhibition occurred in whey of milk, *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum*, *Zingiber officinale*, solution of sodium chloride (NaCl), and Controlmix probiotic. Plant oils contain substances which some of them have already been tested and showed nematicidal effects against plant parasitic nematodes. Mortality and hatching of second stage juveniles (J2) of *Meloidogyne exigua* of coffee were evaluated in essential oils of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligna*, *E. urophylla*, *Bixa orellana*, *Cymbopogon nardus*, *Xylopiã brasiliensis* and *Melia azedarach*. The plant oils were extracted by water steam dragging by utilizing of the modified apparatus of Clevenger, or by immersion in solvents of fruit parts of *Melia azedarach*. Residues were solubilized in dimethyl sulfoxide. J2 mortality was evaluated 24 hours after immersion in oil. Greater mortality ( $P \leq 0,05$ ) equally occurred in oils of

---

\* Guidance Committee: Vicente Paulo Campos – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio Vilela Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

*Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligna*, *E. urophylla*, *Bixa orellana*, *Xylopi*  
*brasiliensis* and fruit husk and flesh of *Melia azedarach* compared to water. Hatching of *M. exigua* J2 in essential oils was evaluated after 14 days of egg incubation at 25°C in dark. Oils did not inhibit J2 hatching compared to water, perhaps, due to volatilization of toxic substances to nematode embryo during the period of egg incubation. Reduction of egg incubation period may avoid this problem. The high J2 mortality in most essential oils tested indicated presence of potential nematicidal bioactive substances in tested plants. The extract effects of *Syzigium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Bixa orellana* and Controlmix probiotic were evaluated on pathogenicity and reproduction of bean *Meloidogyne incognita* race 3, as well as on coffee *Meloidogyne exigua* in addition to the extract of *Melia azedarach*, in greenhouse. Extracts were prepared by water infusion. Each bean plant received 30 mL extract and 5400 *Meloidogyne incognita* race 3 eggs. Each coffee plant received 30 mL extract and 3000 *Meloidogyne exigua* eggs. The experiment was in randomized design with 6 replications. The evaluation was done at 35 and 100 days after nematode inoculation in bean and coffee, respectively. Bean *Meloidogyne incognita* race 3 population was reduced ( $P \leq 0,05$ ) by the extract application compared to control, without any increasing on dry matter and plant height. Coffee *Meloidogyne exigua* population was reduced ( $P \leq 0,05$ ) by the extract application of *Cinnamomum zeylanicum*, *Bixa orellana* and Controlmix probiotic compared to control, without any increase in dry matter and plant height. However, extract from *Syzigium aromaticum* flower and leaves of *Melia azedarach* increased ( $P \leq 0,05$ ) coffee *Meloidogyne exigua* population. Great reduction on *M. exigua* and *M. incognita* race 3 populations by the *Cinnamomum zeylanicum* extract, among all tested, indicated high nematode toxic substances in this plant tissues.



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os nematóides formadores de galhas, *Meloidogyne* spp, são tidos como os mais importantes para a agricultura brasileira, pois têm ampla distribuição geográfica, apresentam enorme gama de hospedeiros e causam grandes danos as culturas. As plantas afetadas por *Meloidogyne* spp tornam-se mais suscetíveis a outros fitopatógenos, ficam menos resistentes a estresses, especialmente hídricos, e não respondem satisfatoriamente às práticas de adubação.

Diversos métodos são utilizados para controlar as populações de fitonematóides. Os mais comuns se baseiam no uso de cultivares resistentes, na rotação de culturas e no controle químico (Lordelo, 1984).

O controle químico, na maioria das vezes, é inviável, pois os nematicidas são de alto custo, sendo dispendioso e antieconômico a adoção dessa medida de controle para culturas de menor valor econômico. Além disso, esses produtos podem contaminar o solo, as águas subterrâneas e os produtos agrícolas com vários resíduos tóxicos. Diante disso, as pesquisas têm priorizado a busca por produtos naturais menos tóxicos ao ambiente, e que possam representar uma opção para a indústria de agroquímicos.

Nessa busca por produtos naturais com propriedades nematicidas, têm-se recorrido às plantas. Compostos presentes no extrato bruto ou no óleo essencial das plantas podem constituir uma forma potencial de controle alternativo de doenças de plantas cultivadas (Stangarlin *et al.*, 1999). A diversidade de espécies vegetais demonstra a magnitude de compostos, alguns comprovadamente nematicidas (Chaterjee *et al.*, 1982).

\* Na obtenção e caracterização biológica das substâncias bioativas, presentes em diversos órgãos e espécies vegetais, vários métodos de extração e tipos de solventes têm sido empregados; isso porque, segundo Giesbrecht (1980), as plantas produzem esses compostos através de diversas vias

metabólicas, cujas formação e armazenamento ocorrem em vários órgãos vegetais. Muitos desses compostos vegetais têm apresentado atividade nematicida, tais como: tienil, benzofurano, ácido carboxílico, alcalóides, sesquiterpenos, diterpenos, fenólicos e ditioacetilenos (Gommers, 1981; Birch *et al.*, 1993; Oka, 2000). Muitos desses compostos são empiricamente descobertos (Osman & Viglierghio, 1988). Tais compostos poderão se constituir em novas moléculas nematicidas biodegradáveis, mais eficientes do que as atualmente disponíveis no mercado e com menor toxicidade ao homem e ao meio ambiente.

Óleos essenciais extraídos de plantas têm demonstrado atividade antimicrobiana, antifúngica e inseticida (Isman, 2000; Müller-Riebau *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 2001; Bullerman *et al.*, 1977; Salgado, 2001). Porém, poucos trabalhos avaliaram a atividade nematicida dos óleos essenciais e seus componentes, entre eles, Leela *et al.* (1992); Sangwan *et al.*, (1985 e 1990) e Walker & Melin (1996).

Além da possibilidade de identificação de plantas produtoras de substâncias nematicidas, os óleos essenciais e extratos brutos de plantas se apresentam como produtos promissores no controle de fitonematóides, merecendo, por isso, estudos visando à futura utilização pelos produtores, especialmente os pequenos ou aqueles envolvidos em agricultura orgânica, para a qual formas alternativas de controle de doenças são necessárias. Porém, vários testes biológicos devem ser realizados para que a eficiência de extratos vegetais e demais produtos naturais seja comprovada.

Dessa forma, objetivou-se neste trabalho avaliar:

1. o efeito *in vitro* de extratos orgânicos e produtos naturais na eclosão, mobilidade e mortalidade de *Meloidogyne exigua*;
2. a mortalidade e eclosão de *Meloidogyne exigua* em óleos essenciais;

3. o potencial de extratos naturais para o controle de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro (*Coffea arabica*) e de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Nematóides: aspectos gerais

O parasitismo dos nematóides, especialmente *Meloidogyne* spp torna as plantas mais suscetíveis a outros fitopatógenos, menos resistentes a estresse, principalmente hídrico, e com menor resposta às práticas de adubação. Como conseqüência, a parte aérea das plantas infestadas apresenta diversos sintomas reflexos como: tamanho desigual das plantas, deficiências minerais de diversas intensidades, clorose foliar, murchamento, desfolhamento, alterações das características varietais, como redução dos internódios e dos perfilhos, redução na produção, podendo causar até a morte da planta (Campos, 1999).

As espécies de *Meloidogyne*, parasitas obrigatórios conhecidos como nematóides das galhas, induzem mudanças na anatomia das raízes da planta hospedeira com formação de células gigantes e galhas, além de outros efeitos (Dropkin, 1976). Segundo Taylor & Sasser (1978), as modificações ocorridas na parte aérea de plantas infectadas por *Meloidogyne* sp resultam da menor capacidade exploratória do sistema radicular em relação a plantas não infectadas e da obstrução dos elementos vasculares, o que reduz a translocação de nutrientes.

Além da sua ampla distribuição geográfica, esses fitopatógenos apresentam extensa gama de plantas hospedeiras, podendo interagir com outros patógenos, como fungos, bactérias e vírus, ou mesmo com outros nematóides, ocasionando complexo de doenças. Diante disso, as espécies de *Meloidogyne* constituem o principal grupo de nematóides fitopatogênicos de importância econômica, constituindo, assim, um dos obstáculos à produção de alimentos no mundo.

O primeiro relato importante de *Meloidogyne* como fitoparasita no Brasil foi feito no final do século XIX. Nessa época, uma doença dizimava os cafezais fluminenses. Goeldi, no ano de 1887, relatou tratar-se de um nematóide, descrevendo-o pela primeira vez como *Meloidogyne exigua*. A espécie *Meloidogyne exigua* Goeldi é comumente encontrada na América Central e do Sul, onde causa perdas severas na produção cafeeira (Campos *et al.*, 1990). Essa espécie permanece internamente nas raízes do cafeeiro, estabelecendo seu sítio permanente de alimentação, desenvolvendo-se e reproduzindo-se. Atualmente, *Meloidogyne exigua* é um importante patógeno da cafeicultura brasileira (Campos, 1997; Campos *et al.*, 1990), com ampla disseminação pelas regiões produtoras. A espécie chegou a ser encontrada em 31% das amostras analisadas por Campos & Melles (1987) no Estado de Minas Gerais. A disseminação desse nematóide continua ocorrendo, tendo em vista que Souza *et al.*, (1999) verificaram a presença de *M. exigua* em 45,4% das amostras de solo e raízes coletadas em diversos cafezais de Minas Gerais. Hoje, sabe-se que *M. exigua* ocorre principalmente nas lavouras cafeeiras do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Bahia.

*Meloidogyne exigua*, mesmo em baixo nível populacional, tem efeito depressivo no cafeeiro. De fato, esse fitonematóide pode infestar o cafeeiro durante todo o ano, e a população desse nematóide apresenta grande evolução no período chuvoso e quente. A infestação de *M. exigua* em cafeeiros novos reduziu a quantidade de matéria fresca e matéria seca da parte aérea e o número de folhas, além de provocar o amarelecimento das plantas (Souza, 1990). Isso ocorre porque, segundo Boneti *et al.* (1982), a composição mineral de cafeeiros parasitados por nematóides difere daquela das plantas não infectadas. O nematóide interfere nos mecanismos de absorção e translocação de água e nutrientes inorgânicos e/ou orgânicos da planta hospedeira, reduz a absorção de micronutrientes como Zn, Cu, Fe, Mn e B e o vigor das plantas de cafeeiro. Os

sintomas mais comuns do parasitismo de *Meloidogyne exigua* são alterações anatômicas nas raízes de cafeeiro, com formação de células gigantes, ruptura do sistema vascular e hiperplasia do parênquima vascular (Di Vito *et al.*, 2000).

A espécie *M. exigua* ocorre em outras culturas de importância econômica, como na seringueira. Fonseca *et al.*, (1999) citam a ocorrência de *M. exigua* Goeldi, 1887, em Rondonópolis, Mato Grosso, onde constataram altas populações desse nematóide em associação com o fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., causando a morte das plantas. Outros trabalhos enfatizam a importância de *M. exigua* em seringueira (Correa *et al.*, 2000a e 2000b; Fonseca *et al.*, 2000; Bernardo *et al.*, 2000).

*Meloidogyne incognita* é outra espécie de nematóide das galhas, sendo responsável por grandes prejuízos a muitas culturas economicamente importantes. Segundo Vieira (1983), *M. incognita* é um dos patógenos mais importantes para a cultura do feijoeiro. As plantas de feijoeiro infectadas por esse nematóide podem ter sua produção reduzida de 50 a 90% (Mullin *et al.*, 1991). Além de atuar diretamente sobre a planta, *M. incognita* pode reduzir a nodulação por *Rhizobium*, afetando o crescimento e a fisiologia do feijoeiro, e favorecer a infecção por outros fungos como *Rhizoctonia solani* (Crozzoli *et al.*, 1997), *Fusarium* spp. e *Macrophomina phaseolina*, ocasionando maiores prejuízos (Hutton *et al.*, 1972; Al-Hazmi, 1985). Apesar dos prejuízos, a presença de *M. incognita* pode passar despercebida pelos agricultores, mesmo quando o ambiente favorece a ocorrência de mais de um ciclo de vida do nematóide dentro do ciclo do feijoeiro, e quando o agricultor detecta anomalias e irregularidades na cultura, o nível de infestação do nematóide já está bastante alto (Baker *et al.*, 1994).

## 2.2. Estratégias para o controle de fitonematóides

O controle de fitonematóides é uma tarefa difícil, principalmente em plantas perenes. Diversos métodos são utilizados para controlar as populações dos fitonematóides, sendo os mais comuns baseados no uso de cultivares resistentes, na rotação de culturas e no controle químico (Lordello, 1984). A recomendação da produção de mudas em solo tratado ou livre de nematóides parasitas e o plantio das mesmas em solo livre de nematóides é uma medida inviável em plantios comerciais já estabelecidos.

De acordo com Frighetto (2000), o uso intensivo e indiscriminado de pesticidas elimina os inimigos naturais das pragas e doenças de plantas e animais, causando desequilíbrios biológicos que têm um impacto negativo, tanto dentro quanto fora do agroecossistema. Isso favorece a reincidência de altas populações dos patógenos. No caso de fitonematóides, a alta infestação no solo condiciona os produtores a utilizarem doses mais elevadas ou a misturarem pesticidas, ou ainda, aumentarem a frequência das pulverizações, ocasionando maior potencial de dano ao homem e ao meio ambiente. Somado a isso, o uso de pesticidas para o controle de doenças de plantas pode, a longo prazo, provocar o surgimento de isolados de fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas. Os resultados para a sociedade como um todo e para o meio ambiente podem se tornar negativos em virtude da poluição causada pelos resíduos. Com isso, nematicidas oriundos da indústria petroquímica vêm sofrendo grandes restrições de uso em muitos países. Desse modo, a busca de novas medidas de proteção das plantas contra fitopatógenos, como nematóides, é uma prioridade da agricultura sustentável.

O emprego de cultivares resistentes num programa de manejo de nematóides na cultura do feijoeiro apresenta limitações, pois são poucas as fontes de resistência a *Meloidogyne*. Além disso, alguns materiais resistentes de

determinada região comportam-se como suscetíveis quando submetidos a populações de outras áreas (Ngundo, 1977).

Outra estratégia de controle de fitonematóides é a rotação de culturas. No entanto, a recomendação dessa medida de controle depende da raça fisiológica do nematóide. Silva & Carneiro (1992) verificaram que a reação das plantas de uma mesma espécie vegetal à infestação de nematóides varia de acordo com a raça do nematóide. Isso dificulta o emprego da rotação de plantas no controle de nematóides, pois é comum ocorrer mistura de raças de nematóide num campo de cultivo.

O uso de microrganismos para o controle de fitonematóides, embora muito pesquisado, necessita de maiores estudos quanto ao modo de veiculação desses microrganismos para aumentar sua capacidade de manutenção e ação no solo.

✱ As plantas antagonicas a nematóides podem apresentar excreções radiculares com propriedades nematicidas e nematostáticas, ou atuarem após a penetração do nematóide nas raízes, reduzindo sua reprodução ou impedindo-o de completar seu ciclo de vida (Tenente *et al.*, 1982). No entanto, o emprego dessas plantas antagonicas no controle de nematóides apresenta resultados contraditórios: exemplo disso é o cravo-de-defunto, pertencente ao gênero *Tagetes*, que embora a atividade antagonica a nematóides tenha sido relatada em vários estudos, os dados sobre o nível de controle de nematóides são discordantes. Segundo Gommers & Baker (1988), citados por Ploeg (2000), o uso do cravo-de-defunto no controle de fitonematóides é mais eficiente como cultura antagonista do que a sua incorporação como adubo verde ou aplicação dos seus extratos: isso porque esta planta produz substâncias nematicidas resultantes de uma sequência de reações químicas nas raízes, proporcionadas pela penetração e movimentação dos nematóides, induzindo a produção de moléculas de ozônio (O<sub>3</sub>) que, por sua vez, são tóxicas aos nematóides. No



entanto, o uso do cravo-de-defunto e de outras plantas antagônicas como cultura nematicida apresenta algumas desvantagens, como o custo direto associado com o cultivo dessa planta, duração do período de cultivo e possibilidade de efeito fitotóxico sobre a cultura subsequente. Com a incorporação do cravo-de-defunto ao solo, ocorre redução na população do nematóide, mas Ploeg (2000) atribui essa redução a vários fatores e não somente ao cravo-de-defunto, o que torna o seu uso prático questionável.

### 2.2.1. Extratos vegetais empregados no controle de fitonematóides

Desde os tempos mais antigos, as plantas são utilizadas nas sociedades humanas com propósitos terapêuticos, sendo suas propriedades tóxicas ou curativas descobertas pelo homem principalmente quando esse procurava alimento. Mais tarde, descobriu-se que as plantas produzem diversas substâncias efetivas no controle de pragas e doenças, despertando o interesse da pesquisa visando à proteção das lavouras, já que o risco de poluição ambiental pode ser reduzido se comparado com aquele resultante do uso de substâncias sintéticas.

Atualmente vários extratos vegetais têm sido utilizados para o controle de insetos (Perrett & Whitfield, 1995; Abbott *et al.*, 1998), ameba (McGaw *et al.*, 2000), nematóides parasitas intestinais do homem (Bogh *et al.*, 1996) e de ovinos (Onyeyili *et al.*, 2001).<sup>\*</sup> Pelo fato de várias plantas produzirem substâncias nematicidas, a aplicação de extratos naturais para o controle de nematóides constitui uma possível medida alternativa, principalmente para pequenos agricultores que, por causa do alto custo, são impossibilitados de aplicarem produtos químicos para o controle de nematóides fitopatogênicos (Maciel, 1995).

Segundo Pletsch (1998), as substâncias ativas de origem vegetal podem ser distribuídas em cinco grandes grupos: carboidratos, lipídios, compostos nitrogenados (aminoácidos, peptídios, proteínas e glicosídeos cianogênicos e alcalóides), terpenóides e fenilpropanóides. No caso específico das substâncias com efeito nematocida, observa-se que podem estar presentes em todos esses grupos (Scramin *et al.*, 1987; Abid *et al.*, 1997; Khurma & Singh, 1997). Para exemplificar, pode-se citar os derivados do tienil em *Tagetes* spp., benzofuranos em *Helenium* spp, ácidos caboxílicos em *Asparagus*, alcalóides em *Solanum tuberosum* e *Lycopersicum esculentum*, diterpenos em *Daphne* spp., fenólicos em *Eragrostis* spp e ditioacetilenos em *Ambrosia* spp (Birch *et al.*,1993)

Egunjobi e Afolami (1976) controlaram *Rotilenchulus reniformis* usando extrato de sementes de nim (*Azadirachta indica* L.). Verificaram efeito tóxico do extrato de folhas de nim a *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey), reduzindo a população desse nematóide com correspondente aumento no crescimento e produção do milho (*Zea mays* L.). A atividade nematocida do extrato de folhas de nim foi observada também *in vitro*, com a exposição de *P. brachyurus* por 24 horas aos extratos preparados com 1,5, 1,0 e 0,5 kg de folhas de nim/3 L de água. Nesse caso, a maior concentração foi mais efetiva. A aplicação do extrato aumentou significativamente a produção de grãos, altura das plantas e peso das raízes, com correlação entre esses aumentos e a redução na população de *P. brachyurus*.

\* Após 120 a 160 minutos de exposição aos extratos obtidos pelo esmagamento das folhas de *Ocimum sanctum* e *O. basilicum*, todos os juvenis do segundo estágio (J2) de *M. incognita* foram mortos. Quando submetidos à fervura por 5 minutos, tais extratos tiveram suas atividades nematocidas reduzidas, o que provavelmente ocorreu em decorrência da natureza volátil ou da composição do princípio ativo. Neste estudo, ainda se observou que nos óleos essenciais de *Ocimum sanctum* e *O. basilicum* havia eugenol e linalool, que

foram identificados como prováveis substâncias nematocidas (Chatterjee *et al.*, 1982).

\* Extratos foliares de 30 espécies de plantas, de várias famílias, em diferentes diluições, foram obtidos por Nandal & Bathi (1983). Avaliando a mortalidade de J2 de *M. javanica*, após 48 horas de contato com os extratos, as diluições abaixo de 1:20 (extrato:água) de extratos de *Tagetes patula*, *Vernonia cineraria* e *Xanthium strumarium* reduziram a mortalidade dos J2, com maior índice de mortalidade causado pelo extrato de *Tagetes erecta*, 1:10 (extrato:água).

Extratos de sementes também têm sido utilizados para o controle de nematóides. Exemplo disto é o controle de *Meloidogyne javanica* com extratos de sementes de *Azadiracta indica*, *Hannoa undulata* e *Hannoa klaineana*, nas respectivas concentrações de 20.000, 10.000 e 2.000 ppm. Esses extratos inibiram totalmente a penetração de J2 nas raízes de tomateiro, após 24 horas da imersão dos juvenis nos extratos. Nesse estudo, Prot & Kornprobst (1983), verificaram maior inibição dos J2 de *M. javanica* na maior concentração dos extratos, sendo os extratos de *Hannoa undulata* e *H. klaineana* causaram maior redução na penetração dos J2 comparados com o extrato de *Azadirachta indica*.

Quatorze espécies vegetais, pertencentes às famílias Leguminosae e Compositae, foram selecionadas por Scramin *et al.* (1987) como portadoras de substâncias naturais com potencial atividade sobre nematóides. Pelos resultados desse trabalho, foram verificados dez extratos com atividade nematocida e/ou nematostática: extrato hexânico de folha de *Tagetes minuta*, extrato clorofórmico do caule de *Tagetes patula*, extrato etanólico do fruto de *Cassia occidentalis*, extrato clorofórmico da folha de *Ageratum conyzoides*, extratos hexânico e etanólico do caule de *Vernonia polyanthes*, extratos hexânico e clorofórmico do caule de *Vernonia condensata*, extrato hexânico da flor de *Alomia fastigiata* e extrato hexânico do caule de *Tagetes minuta*. Nesse trabalho,

alguns extratos vegetais apresentaram atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita* raça 1 semelhante ao nematicida Carbofuran, como os extratos hexânico e etanólico do caule de *Vernonia polyanthes*. Ficou evidente a diferença na atividade dos diversos extratos (hexânico, clorofórmico e etanólico) de uma determinada parte vegetal diante do mesmo nematóide.

Extratos aquosos de *Thuja orientalis*, *Commiphora wightii*, *Pinus insularis*, *Araucaria cookii*, *Cycas circinalis* e *Casuarina equisetifolia* reduziram eficientemente a eclosão de J2 de *Meloidogyne incognita* (Sharma & Trivedi, 1991).

Silva (1993), empregando extrato de sementes de *Azadirachta indica* no tratamento de sementes de feijoeiro IAPAR 14, obteve redução na produção de ovos de *Meloidogyne incognita* raça 3.

Extratos aquosos de folhas de *Ruta graveolens* apresentaram forte efeito nematicida sobre *Xiphinema index*, *in vitro*. A mortalidade do nematóide aumentou com a maior concentração do extrato e maior tempo de exposição. Foi considerado como padrão o extrato obtido por 24 horas de infusão de 50 g de folhas em 200 mL de água destilada. Maior mortalidade de *X. index* ocorreu com o aumento na concentração do extrato foliar e no período de exposição desse nematóide ao extrato (Sasanelli, 1992).

O efeito nematicida do extrato etanólico de *Chenopodium ambrosioides* reduziu em 85% o número de galhas de *M. incognita* em tomateiros, sendo superado pelo pó de *C. ambrosioides*, que causou 100% de redução do número de galhas. Esses dois tratamentos foram mais eficientes do que o nematicida Furadan 350 F 4% p.a. (Frighetto & Zavatti, 1994).

Espécies vegetais possuem potencial para o controle de nematóides em alho. A desinfecção de bulbos de alho infestados por *Ditylenchus dipsaci* pela imersão dos bulbos por 24 horas em diversos extratos vegetais foi realizada por Insunza & Valenzuela (1995). Os extratos utilizados foram obtidos pela infusão

de partes vegetais em água de torneira. Extratos de folhas frescas de *Ruta graveolens* controlaram completamente o nematóide *D. dipsaci*, o que não ocorreu quando foram utilizados extratos de folhas secas, indicando que o princípio nematicida pode ter sido afetado ou destruído durante a secagem das folhas. Além de *R. graveolens*, a utilização de *Chenopodium ambrosioides* e *Plantago major* resultou em baixa ou nenhuma infecção de *D. dipsaci* e fitotoxicidade dos extratos às plantas de alho.

Barcelos (1997) demonstrou a inibição da eclosão de ovos de *M. incognita* raça 3 por extratos a quente e a frio da raiz e das partes aéreas de mucuna preta (*Mucuna aterrina*) e por outros compostos isolados dessa planta.

Atividade nematicida variável foi observada por Abid *et al.* (1997) em extratos etanólicos de várias espécies vegetais, entre elas, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, Myrtaceae. Essa diferença na atividade nematicida dos extratos foi atribuída à presença de diversos compostos. Os extratos obtidos de *Annona squamosa* L., *Cocculus pendulus* (Forsk.) Diel, *Datura fastuosa* L., e *Solanum surattense* Burm. apresentaram alta atividade nematicida, causando 100% de mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. Entretanto, o extrato de folhas secas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, causou baixa mortalidade de J2 de *M. javanica* com 72 horas de exposição dos juvenis ao extrato.

Khurma & Singii (1997), avaliando o potencial nematicida de extratos de sementes sobre J2 de *M. incognita* e *M. javanica*, verificaram que os extratos de *Azadirachta indica* (Meliaceae), *Acacia eburnea* (Leguminosae), *Cassia sp.* (Leguminosae), *ParkinSônia aculeata* (Leguminosae), *Sesbania sesban* (Leguminosae) e *Poinciana regia* (Leguminosae) apresentaram maior potencial nematicida contra J2 de *Meloidogyne incognita*, ao passo que *A. eburnea*, *Cassia sp.*, *Melia azedarach* (Meliaceae), *S. sesban* e *Tribulus terrestris* (Zygophyllaceae) apresentaram maior potencial nematicida sobre J2 de *M.*

*javanica*. Comparando-se as espécies *Azadirachta indica* (nim) e *Melia azedarach* (Santa Bárbara), ambas da família Meliaceae, nota-se que houve efeito nematicida diferente para as espécies de nematóide. Para J2 de *M. incognita*, *A. indica* causou mortalidade superior a *M. azedarach* L., ao passo que para *M. javanica*, a maior mortalidade de J2 foi causada por *M. azedarach* L.. O efeito nematostático do extrato de *Malvastrum coromandelianum* (Malvaceae) foi desmonstrado pela recuperação dos J2 após poucas horas da transferência para água. Esses pesquisadores consideraram 48 horas de imersão das massas de ovos nos extratos, um tempo suficiente para avaliação do efeito inibitório dos extratos sobre a eclosão dos J2 de *M. incognita* e *M. javanica*.

Pó da folha, serragem e torta de nim (*Azadirachta indica*) reduziram a população de *M. incognita*, *Hoplolaimus indicus*, *Helicotylenchus indicus* e *Rotylenchulus reniformis*. Dos produtos de nim testados, maior eficiência de controle desses fitonematóides foi observada com a aplicação da torta de nim (Akhtar, 1998).

Dias *et al.* (1998) avaliaram a eficiência das plantas medicinais mil-folhas (*Achillea millefolium*), mentrasto (*Ageratum conyzoides*), bardana (*Arctium lappa*) e folha-da-fortuna (*Bryophyllum calycinum*) em sistema de rotação de cultura em uma área infestada com *M. incognita*. Dessas plantas, apenas o mentrasto não reduziu significativamente a população desse nematóide.

Extratos de *Carica papaya*, *Leucaena leucocephala*, *Ricinus communis* e *Ruta graveolens* aumentaram a mortalidade e reduziram a eclosão de juvenis J2 de *M. incognita*, ao passo que extratos de *Coffea arabica*, *Brachiaria decumbens* e *Leucaena leucocephala* reduziram a produção de ovos desse nematóide, mas com efeito fitotóxico nos tomateiros demonstrado pela redução no peso fresco da parte aérea após a aplicação das maiores dosagens. Nesse trabalho, Costa *et al.* (2001) consideraram o metanol e a água como os melhores solventes no preparo dos extratos.

Alguns extratos vegetais não têm apresentado efeito tóxico a fitonematóides. Exemplo disso é o extrato bruto de bardana (*Arctium lappa*), mil-folhas (*Achillea millefolium*), gengibre (*Zingiber officinale*) e bálsamo (*Cotyledon orbiculata*), que não apresentaram efeito tóxico sobre *Pratylenchus coffea* (Perre *et al.*, 2000).

A grande diversidade no efeito de extratos vegetais sobre fitonematóides deve-se, entre vários fatores, ao tempo de exposição do nematóide ao extrato, espécie de nematóide-alvo, espécie e órgão da planta, tipo de solvente e método de extração utilizado na obtenção do extrato, além da dosagem do extrato (Chatterjee *et al.*, 1982; Khan, 1990; Abid *et al.*, 1997; Khurma & Singii, 1997; Akhtar, 1998; Costa, 2000).

### 2.2.2. Óleos essenciais

Óleos essenciais são compostos que apresentam aroma, geralmente voláteis, dificilmente solúveis em água, retirados dos vegetais nos quais são encontrados na forma combinada. Por meio da hidrodestilação e extração por solventes, pode-se obter diversos óleos essenciais (Teske & Trentini, 1997).

Os óleos essenciais são assim denominados graças a composição lipofílica que apresentam, sendo quimicamente diferentes da composição glicerídica dos verdadeiros óleos e gorduras. Estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos e predadores. Na medicina popular, os óleos essenciais possuem uma larga tradição de uso. Quimicamente, em sua maioria, os óleos essenciais são constituídos de substâncias terpênicas e acrescidos de moléculas menores, como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta. Dependendo do método de extração e da composição da planta,

terpenos menos voláteis podem aparecer na composição do óleo essencial (Siani *et al.*, 2000).

Certos óleos essenciais, comumente usados como fragrâncias e aromatizantes na indústria de perfumes e alimentos, têm sido relatados como repelentes a insetos (Isman, 2000; Ansari *et al.*, 2000). Recentes investigações em vários países confirmam que alguns óleos essenciais de plantas não somente agem como repelentes a insetos, mas possuem ação inseticida fumigante (Lee *et al.*, 2001), ação fungicida contra alguns importantes patógenos de plantas (Müller-Riebau *et al.*, 1995) e contra ervas daninhas (Kohli *et al.*, 1998).

### 2.2.3. Controle de nematóides com óleos essenciais

Os óleos essenciais são formados por várias substâncias pertencentes a grupos químicos diversificados. O efeito combinado dos constituintes do óleo essencial de gramíneas do gênero *Cymbopogon* exerce um papel fundamental na atividade nematicida (Sangwan *et al.*, 1985). Dentre alguns óleos essenciais com propriedade antifúngica e antibacteriana, o óleo essencial de *Pelargonium graveolens* demonstrou atividade nematicida a *Meloidogyne incognita*, em consequência da mistura de substâncias químicas, entre elas o citronelol, geraniol e linalol (Leela *et al.*, 1992).

O furfural (2-furfuraldeído), composto encontrado em muitos óleos essenciais de plantas, apresentou atividade nematicida a *Meloidogyne arenaria*, *Pratylenchus brachyurus*, *M. incognita* e *Heterodera glycines* (Rodriguez-Kábana *et al.*, 1993).

Óleo essencial de *Prunus dulcis*, *Cymbopogon* spp., *Litsea cubeba* e *Pinus plaustris* controlaram efetivamente *M. incognita* em algodão, em casa-de-vegetação. Por quilograma de solo, a aplicação de 0,1 a 0,5 mL dos compostos



derivados dos óleos reduziu a infestação do nematóide, e o máximo de controle ocorreu com a aplicação de 0,25 mL (Bauske *et al.*, 1994).

Rao *et al.* (1996) confirmaram a ação nematicida do óleo essencial de *Pelargonium graveolens*, utilizado por Leela *et al.* (1992), com significativa redução na infestação de *M. incognita* após o tratamento de sementes de tomateiro. Além disso, houve aumento no crescimento das plantas quando se aplicou 0,2% do óleo. Quando se aumentou a concentração dos produtos de 0,2% para 0,5%, embora a infestação do nematóide tenha sido reduzida, o crescimento dos tomateiros permaneceu inalterado.

Cinco óleos essenciais obtidos de espécies de hortelã (*Mentha* sp.) foram misturados ao solo infestado com ovos de *M. incognita* raça 3 e *M. arenaria* raça 2. Após 5 semanas do transplântio das mudas de tomateiro, houve pequeno efeito dos óleos sobre o número de galhas de *M. incognita*. No entanto, os mesmos óleos reduziram o número de galhas causadas por *M. arenaria*, atingindo mais de 50% de redução das galhas quando foram utilizados 1.000 e 1.500 mg de óleo/kg de solo (Walker & Melin, 1996).

Óleos essenciais de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*) foram aplicados para o controle de *M. javanica* em tomateiros em casa-de-vegetação. Houve redução no número de galhas e ovos de *M. javanica* nas raízes. Dosagens superiores a 10% provocaram fitotoxicidade nas plantas, detectada pela menor altura e peso de raiz (Freitas *et al.*, 2000).

O mecanismo nematicida dos óleos essenciais ou de seus constituintes ainda não está bem claro. Como vários óleos essenciais têm demonstrado inibição da atividade da acetilcolinesterase em insetos (Ryan & Byrne, 1988), Oka (2001) sugere que os componentes do óleo essencial podem afetar o sistema nervoso, o que é demonstrado pela alteração no comportamento, desenvolvimento e outros processos controlados por enzimas nos nematóides.

Outra possibilidade é que os óleos essenciais rompem a membrana celular do nematóide e alteram a sua permeabilidade. Esse mecanismo também tem sido sugerido para explicar a atividade fungicida dos óleos essenciais.

Óleos essenciais e seus compostos podem ser úteis na obtenção de compostos tóxicos a nematóides, uma vez que potenciais atividades biológicas têm sido apresentadas por alguns dos constituintes dos óleos essenciais, o que é de grande interesse da indústria química (Lee *et al.*, 2001). Porém, poucos trabalhos têm utilizado óleos essenciais para o controle de fitonematóides (Oka *et al.*, 2000), embora esses produtos sejam seguros para uso no ambiente (Isman, 2000).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, T. P.; VAUGHN, S. F.; DOWD, P.F.; MOJTAHEDI, H.; WILSON, R.F. Potential uses of sicklepod (*Cassia obtusifolia*). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.8, p.77-82, 1998.

ABID, M.; CHOUDHARY, M. I.; MAQBOOL, M. A.; RAHMAN, A. U. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.25, p.155-157, 1997.

AKHTAR, M. Biological control of plant-parasitic nematodes by neem products in agricultural soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.7, p.219-223, 1998.

AKHTAR, M.; MALIK, A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, Oxford v.74, p.35-47, 2000.

AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Control of plant-parasitic nematodes with "nimin" and some plant oils by bare-root dip treatment. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.21, p.89-92, 1993.

AL-HAZMI, A. S. Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Macrophomina phaseolina* in root-rot disease complex of french beans. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v.113, p.311-16, 1985.

ANSARI, M. A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. K.  
Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil.  
**Bioresource Technology**, Oxford, v. 71, p.267-271, 2000.

BAKER, K.R., HUSSEY, R.S.; KRUSBERG, L.R. Plant and soil nematodes:  
social impacts and focus for the future. **Journal of Nematology**, Lawrence,  
v.26, n.2, p.127-137, 1994.

BARCELOS, F. F. Isolamento e avaliação da atividade nematocida de  
constituintes químicos de *Mucuna aterrina*. 1997. 93p Dissertação (Mestrado  
em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Lavras.

BAUSKE, E. M.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; ESTAÚN, V.; KLOEPPER, J.  
W.; ROBERTSON, D. G.; WEAVER, C. F.; KING, P. S. Management of  
*Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds.  
**Nematropica**, Flórida, v.24, p.143-150, 1994.

BERNARDO, E. A. R.; RODRIGUES, A. M.; CASSETARI NETO, D.  
Avaliação do potencial do fungo *Paecilomyces lilacinus* em programas de  
controle de *Meloidogyne exigua* na cultura da seringueira (*Hevea brasiliensis*).  
**Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.333, ago. 2000. (Suplemento).

BIRCH, A. N. E.; ROBERTSON, W. M.; FELLOWS, L. E. Plant products to  
control plant parasitic nematodes. **Pesticide Science**, Oxford, v.39, p.141-145,  
1993.

BOGH, H. O.; ANDREASSEN, J.; LEMMICH, J. Anthelmintic usage extracts of *Embelia schimperi* from Tanzania. **Journal of Ethnopharmacology**, Louzanne, v.50, n.1, p.35-42, 1996.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S.; BRAGA, J. M.; OLIVEIRA, L. M. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, p.197-207, 1982.

BULLERMAN, L. B.; LIEU, F. Y.; SEIER, S. A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.4, p.1107-1109, 1977.

CAMPOS, V.P. Café: doenças causadas por nematóides. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. (eds.) **Controle de doenças de plantas**. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, 1997. v.1, p.141-170.

CAMPOS, V.P. **Manejo de doenças causadas por fitonematóides**. Lavras:UFLA/FAEPE, 1999. 106p. (Curso de pós-graduação "Latu Sensu" especialização à distancia: manejo de doenças de plantas).

CAMPOS, V.P.; MELLES, C. C. A. Ocorrência e distribuição de espécies de *Meloidogyne* em cafezais dos campos das vertentes e do sul de Minas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.11, p.233-340, 1987.

CAMPOS, V.P.; SIVAPALAN, P.; GNANAPRAGASAM, N.C. Nematodes parasites of coffee, cocoa and tea. In: LUC, M.; BRIDGE, J.; SIKORA, R. (eds.). **Plant parasitic nematodes in tropical and subtropical**. London: CAB International, 1990. p.387-430.

CHATTERJEE, A.; SUKUL, N. C.; LASKAR, S.; GHOSHMAJUMDAR, S. Nematicidal principles from two species of lamiaceae. **Journal of Nematology**, Ames, v.14, n.1, p.118-120, 1982.

CORRÊA, C. F.; JAEHN, A.; INOMOTO, M. M. Alterações histopatológicas em raízes de seringueira (*Hevea brasiliensis*) infestadas por *Meloidogyne exigua*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. Anais... Uberlândia:SBN, 2000. p.132b.

CORRÊA, C. F.; JAEHN, A.; INOMOTO, M. M. Desenvolvimento de *Meloidogyne exigua* em diferentes temperaturas aplicadas em plantas de seringueira (*Hevea brasiliensis*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. Anais... Uberlândia:SBN, 2000. p.131a.

COSTA, M. J. N. da. **Filtrados de culturas fúngicas e suspensões orgânicas de plantas e de esterco animais antagonistas a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**. 2000. 111p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal Lavras, Lavras.

COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; OLIVEIRA, D. F.; PFENNING, L. H. Toxicidade de extratos vegetais e de esterco à *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.27, n.2, p.245-250, 2001.

CROZZOLI, R.; GRECO, N.; SUÁREZ, A. C.; RIVAS, D. Patogenicidad del neamtodo agallador, *Meloidogyne incognita*, en cultivares de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata*. *Nematropica*, Flórida, v.27, p.61-67. 1997.

DI VITO, M.; CROZZOLI, R.; VOVLAS, N. Pathogenicity of *Meloidogyne exigua* on coffee (*Coffea arabica* L.) in pots. *Nematropica*, Flórida, v.30, p.55-61. 2000.

DIAS, C. R.; MACIEL, S. L.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A. Efeito de quatro espécies de plantas medicinais sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 em cultivo protegido. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v. 22, n. 2, p.58-65. 1998.

DROPKIN, V. H. Plant response to root-knot nematodes at the cellular level. In: INTERNATIONAL MELOIDOGYNE PROJECT, **Proceedings of the research planning conference on root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp.** Raleigh, 1976. p.43-49.

EGUNJOBI, O. A.; AFOLAMI, S. O. Effects of neem (*Azadirachta indica*) leaf extracts on populations of *Pratylenchus brachyurus* and on the growth and yield of maize. *Nematologica*, Netherlands, v.22, p.125-132, 1976.

FONSECA, H. S.; JAEHN, A.; SILVA, M. F. A. Reações de porta-enxertos de seringueira (*Hevea brasiliensis*) a *Meloidogyne javanica* e *M. exigua*. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v. 23, n. 2, p.9-19, 1999.

FONSECA, H. S.; FERRAZ, L. C. B.; MACHADO, S. R. Análise histoquímica de raízes de seringueira cv. Rrim 600, sadias e parasitadas por *Meloidogyne* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. Anais... Uberlândia:SBN, 2000. p.132.

FREITAS, L. G.; MARRA, V.; NEVES, W. S.; DIAS, C. R. Controle de *Meloidogyne javanica* com aplicação de óleos essenciais de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p.336, ago.2000. Suplemento.

FRIGHETTO, R. T. S. Influencia do manejo de agrotóxicos no meio ambiente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.271-274. ago.2000. Suplemento

FRIGHETTO, R. T. S.; ZAVATTI, L. M. S. Avaliação de espécies vegetais no controle de *Meloidogyne incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 1994, Campinas. Resumos... Campinas:SBN, 1994. p.33.

GIESBRECHT, A. M. Atividade antibiótica de produtos naturais. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1980. 64p.(Tese – Livre Docência).

GOMMERS, F. J. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. **Helminthological Abstracts, Series B. Plant Nematology**, Wallingford, v.50, n.1, p.9-24, 1981.

HUTTON, D. G.; WILKINSON, R. E.; MAI, W. F. Effect of two plant-parasitic nematodes on *Fusarium* dry root rot beans. **Phytopathology**, St. Paul, v.63, p.749-751, 1972.



INSUNZA, V. B.; VALENZUELA, A. A. Controlo of *Ditylenchus dipsaci* on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile.

**Nematropica**, Flórida, v.25, n.1, p.35-41, 1995.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p.603-608, 2000.

JESPERS, A. B. K.; WAARD, M. A. de. Natural products in plant protection. **Netherlands Journal Plant Pathology**, Netherlands, v.99, p.109-117, 1993.

(Suplemento 3).

KHAN, F. A. Nematicidal potentials of some naturally-growing medicinal plants against *Pratylenchus zae*. **Revue Nematology**, Auburn, v.13, n.4, p.463-465, 1990.

KHURMA, R.; SINGH, A. Nematicidal potential of seed extracts: *in vitro* effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.25, p.49-54, 1997.

KOHLI, R.K., BATISH, D., SINGH, H.P. Allelopathy and its implications in agroecosystems. **Journal of Crop Production**, Oxford, v.1, n.1, p.169-202, 1998.

LEE, B. H.; CHOI, W. S.; LEE, S. E.; PARK, B. S. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) **Crop Protection**, Washington, v.20, n.4, p.317-320, May 2001.

LEELA, N. K.; KHAN, R. M.; REDDY, P. P.; NIDIRY, E. S. J. Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v. 20, p. 57-58, 1992.

LORDELLO, L. G. E. *Nematóides das plantas cultivadas*. 8.ed. Nobel: São Paulo, 1984. 314p.

MACIEL, S. L. Reações de algumas plantas medicinais a *Meloidogyne incognita* raça 2, *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachiurus* (Nemata; Tylenchoidea). 1995. 71p. Dissertação ( Mestrado em Fitopatologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

McGAW, L. J.; JÄGER, A. K.; STADEN, J. V. Antibacterial, anthelmintic and anti-amoebic activity in South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, Louzanne, v.72, p.247-263, 2000.

MÜLLER-RIEBAU, F.; BERGER, B.; YEGEN, O. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural of the Food Chemistry*, WASHINGTON, v.43, n.8, p.2262-2266, 1995.

MULLIN, B. A.; ABAWI, G. S.; PASTOR-CORRALES, M. A.; KORNEGAY, J. L. Root-knot nematodes associated with beans in Colombia and Peru and related yield loss. *Plant Disease*, Washington, v.75, p.1208-1211, 1991.

NANDAL, S. N.; BHATTI, D. S. Preliminary screening of some weed shrubs for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. **Indian Journal of Nematology**, New Dehli, v.13, p.123-127, 1983.

NGUNDO, B. W. Screening of bean cultivars for resistance to *Meloidogyne* spp, in Kenya. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.61, n.11, p.991-992, 1977.

OKA, Y. NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; YANIV, A.; SPIEGEL, Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, St. Paul, v.90, p.710-715, 2000.

OKA, Y. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, Leiden, v.3, n.2, p.159-164, 2001.

ONYEYILI, P. A.; NWOSU, C. O.; AMIN, J. D.; JIBIKE, J. I. Anthelmintic activity of crude aqueous extract of *Nauclea latifolia* stem bark against ovine nematodes. **Fitoterapia**, Milan, v.72, p.12-21, 2001.

OSMAN, A. A.; VIGLIERGHIO, D. R. Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. **Revue Nematologie**, Auburn, v.11, n.1, p.93-98, 1988.

PANDEY, R. Additive effect of three organic materials and nematicides on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and yield of *Mentha arvensis*. **Nematropica**, Flórida, v. 30, n.2, p.155-160, 2000.

PERRE, J.; NOZAKI, M. H.; MACIEL, S. L. Efeito do extrato bruto de quatro espécies de plantas medicinais sobre *Pratylenchus coffea*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. Anais... Uberlândia:SBN, 2000. p.124.

PERRET, S.; WHITFIELD, P. J. Anthelmintic and pesticidal activity of *Acorus gramineus* (Araceae) is associated with phenylpropanoid asrones. **Phytotherapy Research**, New York, v.9, n.6, p.405-409, 1995.

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.1, n.4, jan./fev. 1998.

PLOEG, A. T. Effects of amending soil with *Tagetes patula* cv. Single Gold on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. **Nematology**, Leiden, v.2, n.5, p.489-493, 2000.

PROT, J. C.; KORNPORST, J. M. Effects of *Azadiracta indica*, *Hannoa undulata* and *Hannoa klaineana* seed extracts on the ability of *Meloidogyne javanica* juveniles to penetrate tomato roots. **Revue Nematology**, Auburn, v.6, n.2, p.330-332, 1983.

RAO, M. S.; REDDY, P. P.; MITTAL, A.; CHANDRAVADANA, M. V.; NAGESI, M. Effect of some secondary plant metabolites as seed treatment agents against *Meloidogyne incognita* on tomato. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.24, p.49-51, 1996.

- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; KLOEPPER, J. W.; WEAVER, C. F.; ROBERTSON, D. G. Control of plant parasitic nematodes with furfural – a naturally occurring fumigant. *Nematropica*, Oxford, v.23, p.63-73. 1993.
- RYAN, M. F.; BYRNE, O. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v.14, p.1965-1975. 1988.
- SALGADO, A. P. S. Estudo dos constituintes químicos e da atividade fungitóxica do óleo essencial das folhas de *Eucalyptus*., 2001. 52p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SANGWAN, N. K.; VERMA, B. S.; VERMA, K. K.; DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of some essential plant oils. *Pesticide Science*, Oxford, v. 28, p.331-335. 1990.
- SANGWAN, N. K.; VERMA, B. S.; VERMA, K. K.; MALIK, M. S., DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of essential oils of *Cymbopogon* grasses. *Nematologica*, Leiden, v. 32, n.1, p.93-99, 1985.
- SASANELLI, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.20, n.1, p.53-55, 1992.
- SCRAMIN, S.; SILVA, H. P.; FERNANDES, L. M. S.; YHAN, C. A. Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v.11, p.89-102. 1987.

SHARMA, R.; TRIVEDI, P. C. Nematicidal properties of some leaf extracts against *Meloidogyne incognita*. *Journal Phytopathology Research, Berlin*, v.4, n.2., p.131-137. 1991.

SIANI, A. C., SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Uberlândia*, v.3, n.16, p.38-43, set./out. 2000.

SILVA, J. F. V. Efeito de *Azadirachta indica* sobre *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro. *Nematologia Brasileira, Piracicaba*, v.17, n.1, p.29, 1993.

SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, R. G. Reação de adubos verdes de verão e de inverno às raças 1, 2 e 4 de *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira, Piracicaba*, v.16, n.1/2, p.11-18. 1992.

SOUZA, J. T.; MAXIMINIANO, C.; CAMPOS, V. P. Nematóides parasitos encontrados em cafeeiros em campo e em viveiros de mudas do Estado de Minas Gerais. *Summa Phytopathologica, Jaboticabal*, v.25, p.180-183, 1999.

SOUZA, S.E. Dinâmica populacional de *Meloidogyne exigua* (Goeldi, 1887) em cafeeiros novos *Coffea arabica* L. 1990. 89p. Dissertação ( Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

STANGARLIN, J. R., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Uberlândia*, v.2, n.11, nov./dez. 1999.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology**, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina: International *Meloidogyne* Project, 1978. 111p.

TENENTE, R. C. V.; LORDELLO, L. G. E.; DIAS, J. F. S. Estudo com a excreção radicular de mucuna preta na eclosão de larvas, porcentagem de penetração e crescimento de *Meloidogyne incognita* raça 4. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.5, p.271-284. 1982.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de Fitoterapia**. 3. ed. Curitiba: Herbarium, 1997. 317p.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária. 1983. 231p.

WALKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. **Journal of Nematology**, Ames, v.28, n.4, p.629-635. 1996. (Suplement).

REPRODUÇÃO PROIBIDA

## **CAPÍTULO 2**

### **EXTRATOS ORGÂNICOS E PRODUTOS NATURAIS NA ECLOSÃO, MOBILIDADE E MORTALIDADE DE *Meloidogyne exigua*.**



## RESUMO

SALGADO, S. M. L. Extratos orgânicos e produtos naturais na eclosão, mobilidade e mortalidade de *Meloidogyne exigua*. In: \_\_\_\_\_. **Produtos naturais para o controle de fitonematóides**. Lavras: UFLA, 2001. Cap.2, p. 33- 59. (Tese de Doutorado em Fitopatologia) \*

A mobilidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* foi avaliada em extratos aquosos e metanólicos de *Solanum grandiflorum* Ruiz et Pav (lobeira), *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja amarga), *Piper hispidinervium* C. DC. (pimenta-longa), *Melia azedarach* L. (Santa Bárbara), *Momordica charantia* L. (melão de São Caetano) e *Arnica montana* L. (arnica). A mortalidade e a eclosão de J2 de *M. exigua* foram avaliadas em extratos aquosos de *Bixa orellana* L. (urucum-colorau), *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (cravo-da-índia), *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela), *Piper nigrum* L. (pimenta-do-reino), *Zingiber officinale* Roscoe (gingibre), *Petroselinum crispum* (P. Mill) Nyman ex A. W. Hill (salsa), soro do leite, solução nutritiva hidropônica e aquosa de cloreto de sódio (NaCl) e açúcar (sacarose), fermento biológico e probiótico (Controlmix). Após 24 horas de imersão dos J2 nos extratos, maior imobilização ocorreu no extrato aquoso do fruto de *M. azedarach*, comparado com aquela em água. O extrato aquoso nem sempre extraiu quantitativamente e qualitativamente substâncias que imobilizaram J2 de *M. exigua*. Após 24 horas do contato de J2 com os extratos, maior mortalidade ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu no soro do leite e nos extratos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), fermento biológico e na solução de cloreto de sódio, comparados com todos os demais. Mortalidade acima de 50 % também ocorreu nos extratos de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e no probiótico (Controlmix), e de 11,8% em extrato de *Piper nigrum* (pimenta-do-reino), todos maiores ( $P \leq 0,05$ ) do que aquela mortalidade ocorrida na água. A eclosão foi testada colocando-se os ovos de *M. exigua* em contato com os extratos durante 14 dias a 25°C. Maior inibição ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu em todos os extratos e produtos testados comparados com aquela em água, com exceção do açúcar e solução hidropônica. Entre todos os extratos e produtos testados, maior inibição ( $P \leq 0,05$ ) da eclosão ocorreu nos extratos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), *Zingiber officinale* (gingibre), soro de leite, solução de cloreto de sódio (NaCl), e no probiótico (Controlmix).

\* Comitê Orientador: Vicente Paulo Campos – UFLA (Orientador); Mário Lúcio V. Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## ABSTRACT

SALGADO, S. M. L Organic extracts and natural products on hatching, mobility and mortality of coffee *Meloidogyne exigua*. In: \_\_\_\_\_. *Produtos naturais para o controle de fitonematóides*. Lavras: UFLA, 2001. Cap.2, p. 33-59. (Tese de Doutorado – Fitopatologia).\*

Mobility of second stage juveniles (J2) of coffee *Meloidogyne exigua* was evaluated in aqueous and methanolic extracts of *Solanum grandiflorum* Ruiz et Pav, *Baccharis trimera* (Less.) DC, *Piper hispidinervium* C. DC., *Melia azedarach* L., *Momordica charantia* L. and *Arnica montana* L. Mortality and hatching of *M. exigua* J2 were evaluated in aqueous of *Bixa orellana* L., *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, *Cinnamomum zeylanicum* Breyn, *Piper nigrum* L., *Zingiber officinale* Roscoe, *Petroselinum crispum* (P. Mill) Nyman ex A. W. Hill, whey of milk, hidroponic solution, aqueous solution of sodium chloride (NaCl) and saccharose, yeast and probiotic (Controlmix) solutions. After 24 hours J2 immersion in the extracts, greater J2 immobilization occurred in the water extract of *Melia azedarach* fruit compared to that in water. Water was not, always, qualitative and quantitative efficient in the extraction of substances which immobilized *M. exigua* J2. After 24 hours of J2 contacts with the extracts, greater mortality ( $P \leq 0,05$ ) occurred in the whey of milk, *Cinnamomum zeylanicum*, solutions of yeast and sodium chloride (NaCl), as compared to all tested extracts. Extracts of *Syzygium aromaticum* and Controlmix probiotic caused J2 mortality above 50% and extract of *Piper nigrum* caused 11,8%, all of them greater ( $P \leq 0,05$ ) than that in water. Hatching as tested placing *M. exigua* eggs in extracts for 14 days at 25°C. Greater hatching inhibition ( $P \leq 0,05$ ) occurred in all extracts and products tested compared with that in water, with exception of the saccharose and hidroponic solutions. Among all extracts and products tested, greater ( $P \leq 0,05$ ) hatching inhibition occurred in whey of milk, *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum*, *Zingiber officinale*, solution of sodium chloride (NaCl), and Controlmix probiotic.

---

\* Guidance Committee: Vicente Paulo Campos – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio V. Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO

Os extratos vegetais e os produtos naturais têm sido fonte de compostos para o controle de pragas e doenças (Jespers & Waard, 1993; Isman, 2000). Vários produtos naturais, incluindo aqueles de plantas medicinais, têm propriedades nematicidas e nematostáticas (Gommers, 1981; Khan, 1990).

Substâncias com efeito nematicida têm sido encontradas em diversas espécies vegetais, entre elas *Melia azedarach* L., (Santa-Bárbara) (Khurma & Singii, 1997; Abid *et al.*, 1997); *Zingiber officinale* Roscoe, (gengibre) (Sukul *et al.*, 1974); *Momordica charantia*, (melão de São Caetano) (Dias *et al.*, 2000) e *Baccharis trimera* (Costa *et al.*, 2001).

Segundo Isman (2000), diversos métodos e tipos de solventes têm sido estudados na busca por substâncias bioativas tóxicas a fitonematóides. Akhtar & Mahmood (1994) e Sasanelli (1992) encontraram propriedades nematicidas em diversos extratos vegetais aquosos. Scramin *et al.* (1987) selecionaram 14 espécies de plantas, cujos extratos obtidos com solventes orgânicos apresentaram efeito nematicida a juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* raça 1. Entretanto, maior ênfase tem sido dada a partir de 1990 à pesquisa com diferentes plantas, bem como seus diversos órgãos (Khurma & Singii, 1997). Utilizando folhas e brotos de muitas espécies vegetais, Abid *et al.* (1997) obtiveram extratos etanólicos com efeito nematicida a *M. javanica*.

Produtos naturais, como os condimentos de origem vegetal, também conhecidos por especiarias, há muito são utilizados na alimentação humana com propósito de realçar o sabor e preservar os alimentos. Porém, só nas últimas décadas é que a propriedade antimicrobiana dos condimentos tem sido estudada mais criteriosamente (Schmidt, 1994). Segundo Bara (1992) propriedades antimicrobianas têm sido encontradas no *Syzygium aromaticum* (cravo-da-

índia), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e no *Zingiber officinale* (gengibre). O soro de leite, produzido e descartado na indústria queijeira, ainda não foi estudado quanto à presença de substâncias bioativas.

Novos produtos de menor impacto ao homem e ao meio ambiente precisam ser estudados para o controle dos fitonematóides. A possibilidade de utilização desses produtos naturais e extratos vegetais para o controle populacional dos fitonematóides poderá, no futuro, beneficiar principalmente a agricultura orgânica, na qual ocorre a proibição do uso de nematicidas oriundos da indústria petroquímica. As pesquisas que utilizam produtos naturais no controle de *M. exigua* do cafeeiro são escassas.

Dessa forma, objetivou-se neste trabalho estudar o efeito *in vitro* de diversos extratos vegetais e de produtos naturais na eclosão, mobilidade e mortalidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Experimento 1: Extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais na mobilidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua in vitro*

#### 2.1.1. Obtenção de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua*.

Raízes galhadas de cafeeiros infestados por *M. exigua* foram colhidas, lavadas e colocadas em papel-toalha para retirar o excesso de água. As galhas foram seccionadas e delas foram extraídos os ovos pela técnica de Hussey & Barker (1973). Para facilitar a visualização desses ovos nos testes subseqüentes, a suspensão obtida foi submetida ao método de Flotação e Centrifugação proposto por Jenkins (1964). Para tanto, a suspensão de ovos foi distribuída em tubos de 50 mL, adicionado caolim e centrifugada a 420 g (aproximadamente 1400 rpm) por 5 minutos. Após centrifugação eliminou-se o líquido sobrenadante e o precipitado foi ressuspenso em solução de sacarose 1 molar e centrifugado a 420 g por 60 segundos. O sobrenadante obtido foi cuidadosamente vertido em peneira de 0,025 mm. Os ovos retidos nessa peneira foram coletados em água, e na suspensão, os ovos foram quantificados em microscópio de objetiva invertida para utilização nos testes subseqüentes.

Câmaras de eclosão foram preparadas empregando-se placas de Petri de 4,5 cm de diâmetro, colocando-se nelas peneiras formadas por tecido poliéster com abertura de 0,025 a 0,030 mm fixado em anéis de PVC de 40 mm x 10mm. Em cada câmara adicionaram-se 5 mL da suspensão de ovos. Diariamente, levantava-se a peneira e retiravam-se os J2 eclodidos que migraram para a placa. A seguir, as peneiras com os ovos foram novamente colocadas em outra placa de

Petri com água recentemente colhida. Os J2, assim obtidos, foram empregados nos testes com os extratos e demais produtos.

### 2.1.2. Preparo dos extratos

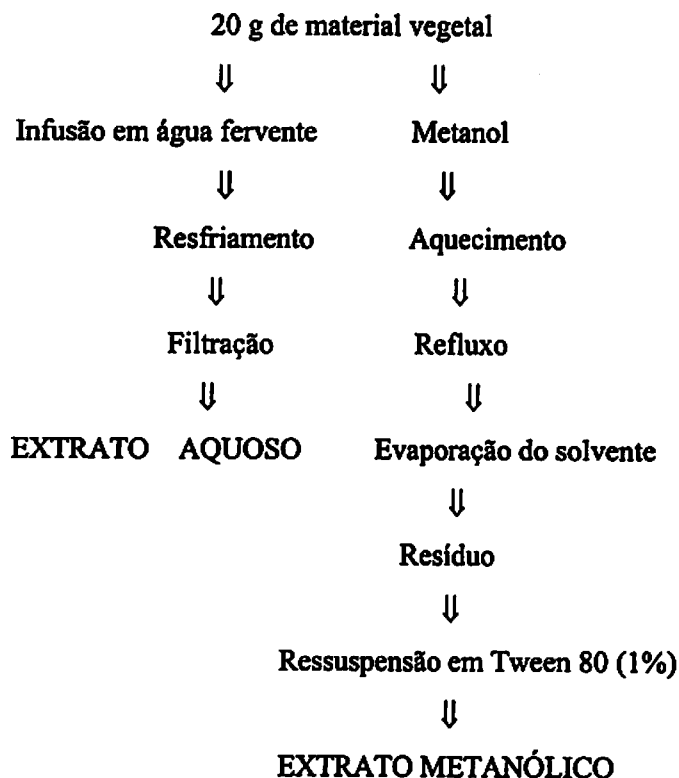
Plantas consideradas medicinais foram selecionadas entre espécies vegetais mais abundantes na região (Tabela 1). De cada espécie vegetal, prepararam-se extratos aquoso e metanólico.

TABELA 1. Espécies vegetais coletadas na região de Lavras, MG, e utilizadas na obtenção dos extratos.

<b>Espécie vegetal</b>	<b>Família</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Órgão</b>
<i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz et Pav	Solanaceae	Lobeira	Fruto
<i>Baccharis trimera</i> (Less) D.C.	Asteraceae	Carqueja-amarga	Folha
<i>Piper hispidinervium</i> C.DC.	Piperaceae	Pimenta-longa	Folha e Fruto
<i>Melia azedarach</i> L.	Meliaceae	Santa-Bárbara	Folha
<i>Melia azedarach</i> L.	Meliaceae	Santa-Bárbara	Fruto
<i>Melia azedarach</i> L.	Meliaceae	Santa-Bárbara	Raiz
<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae	Melão-de-São-Caetano	Flor e Folha
<i>Arnica montana</i> L.	Asteraceae	Arnica	Folha e Flor

Prepararam-se os extratos a partir do órgão da planta escolhido, isto é, raiz, folhas, frutos e/ou flores foram colhidos, lavados, secos ao ar e picados em pequenos fragmentos. Transferiram-se 20 g de cada material para um balão de fundo redondo, ao qual foram adicionados 100 mL de metanol. Esse balão foi colocado em manta aquecedora e conectado a um condensador de refluxo. O processo de extração ocorreu pelo aquecimento da mistura até a temperatura de ebulição do solvente. Com o início da condensação, aguardaram-se 15 minutos de refluxo do solvente. Logo após, filtrou-se a mistura e procedeu-se à evaporação do metanol em Rotavapor (Modelo Büchi R-114, Banho Modelo B-480) e bomba de vácuo (Marca Marconi Modelo MA 057), mantendo-se a pressão do sistema em -560 mmHg e a temperatura do banho-maria em 40 °C. Após a evaporação do metanol, ressuspendeu-se o resíduo vegetal contido no balão utilizando-se 500 mL de solução aquosa do surfactante não iônico Tween 80 a 1% (v/v), obtendo-se o extrato metanólico de cada espécie vegetal (Figura 1).

Para obtenção dos extratos aquosos, adicionaram-se 500 mL de água destilada fervente sobre 20 gramas de material vegetal, devidamente lavado, picado e colocado em frasco de 1000 mL, vedando-se o frasco com papel-alumínio. Após o resfriamento da mistura em temperatura ambiente, realizou-se a filtração a vácuo do material, obtendo-se o extrato aquoso (Figura 1).



**FIGURA 1.** Etapas empregadas na obtenção dos extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais.

Os extratos metanólicos e aquosos foram armazenados em frascos escuros devidamente tampados a 8°C, até o momento de utilização nos testes.

### **2.1.3. Efeito de extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais na mobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. exigua***

A mobilidade de J2 nos extratos foi avaliada de acordo com a técnica de Huang *et al.* (1983). Para tanto, em vidro de Penicilina, colocou-se 1 mL da suspensão de água com J2 eclodidos nas últimas 24 horas, e 5 mL de extrato,



obtidos como descrito em 2.1.1. e 2.1.2. A seguir, tamparam-se os vidros com malha de nylon com 0,025 a 0,030 mm de abertura, colocando-os em posição invertida, isto é, com o fundo para cima, dentro da placa de Petri de 4,5 cm de diâmetro, contendo 10 mL do mesmo extrato.

Cada conjunto formado pela placa de Petri e o vidro em posição invertida contendo extrato e J2 constituiu-se numa unidade experimental. Empregaram-se 16 extratos, sendo 8 aquosos e 8 metanólicos, e como testemunhas, a água destilada e Tween 80 (1%). O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com 18 tratamentos e 4 repetições.

Vinte e quatro horas após, transferiram-se os J2 retidos no interior do vidro de Penicilina para a água, onde permaneceram por 24 horas. A seguir, quantificaram-se como J2 imóveis aqueles que permaneceram com o corpo completamente distendido, em proporção ao total de J2 observados.

Realizou-se a análise estatística empregando-se a análise de proporções do programa SISVAR.

## **2.2. Experimento 2. Mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* em extratos de especiarias, solução hidropônica, probiótico (Controlmix) e produtos naturais.**

### **2.2. 1. Preparo dos extratos e demais produtos**

Diversas especiarias foram selecionadas de acordo com a disponibilidade e utilização empírica na conservação de alimentos. Com base nisso, foram adquiridos no comércio local botão floral seco de *Syzygium aromaticum* (cravoda-índia), casca de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Piper nigrum* (pimentado-reino moída), *Bixa orellana* (urucum) na forma de colorau, todos

comercializados com a marca Santa Bárbara®, além de rizoma de *Zingiber officinale* (gingibre), folhas frescas de *Petroselinum crispum* (salsa). Além desses, empregaram-se também o fermento biológico (Fleischmann®), cloreto de sódio (sal refinado idodado marca Cisne®), açúcar (sacarose), solução nutritiva para cultivo hidropônico de folhosas (Furlani, 1998), probiótico (Controlmix) e soro de leite, descartado na fabricação de queijo. Mediante a infusão em água, prepararam-se os extratos das especiarias e as soluções de cloreto de sódio e sacarose, todos na proporção de 5% (p/v). O fermento biológico e o probiótico (Controlmix) foram colocados em água à temperatura ambiente.

Após aproximadamente 15 horas em água, realizou-se a filtração de todos os materiais empregando-se papel Whatman nº 1 colocado em funil Buchner (funil de porcelana). O soro de leite 'in natura' e a solução hidropônica foram empregados sem nenhuma alteração na sua constituição original. Todos os extratos e demais produtos foram armazenados em freezer até o momento da utilização, com descongelamento prévio de 4 horas à temperatura ambiente.

### 2.2.2. . Efeito de extratos de especiarias aromáticas, probiótico, solução hidropônica e produtos naturais na eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua*.

Em câmaras de eclosão, preparadas como descrito em 2.1.1, colocaram-se 5 mL do extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Piper nigrum* (pimenta-do-reino), *Bixa orellana* (urucum, na forma de colorau que representa o pó das sementes), *Zingiber officinale* (gingibre), *Petroselinum crispum* (salsa), além da hidropônica, solução de cloreto de sódio (sal refinado Cisne®), açúcar (sacarose) e os produtos fermento biológico, probiótico (Controlmix) ou soro

preparados em água. Sobre a peneira da câmara de eclosão, colocaram-se 700 ovos de *M. exigua* contidos em 1 mL de água. As câmaras de eclosão foram mantidas em temperatura ambiente.

O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, empregando-se água como testemunha, totalizando 13 tratamentos e 4 repetições.

O experimento foi avaliado de 48 em 48 horas, por meio da quantificação da porcentagem de J2 eclodidos, empregando-se microscópio de objetiva invertida. Conforme o material-teste foi retirado da câmara de eclosão para avaliação dos J2 eclodidos, novo volume (5 mL) do mesmo material era novamente colocado na câmara de eclosão para a próxima avaliação.

Calculou-se a porcentagem do total de J2 eclodidos durante 16 dias de incubação dos ovos nos materiais, e o resultado foi submetido ao programa AVACPD para cálculo da área abaixo da curva de progresso da eclosão. Os valores da área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE), transformados para  $\log(x)$ , foram avaliados estatisticamente empregando-se o programa SISVAR.

### **2.2.3. Efeito de extratos de especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e produtos naturais na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua***

A suspensão de J2, coletada com até 24 horas após a saída do ovo, foi quantificada em microscópio de objetiva invertida, e calibrada para aproximadamente 25 espécimes/30  $\mu\text{L}$ . Na montagem desse ensaio, foram utilizadas lâminas escavadas com capacidade 150  $\mu\text{L}$ , colocadas separadamente em câmara úmida preparada em placa de Petri de 90 mm, forrada com papel de

filtro umedecido. Cada lâmina recebeu 120 µL do extrato ou produto-teste e 30 µL da suspensão de J2.

O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, empregando-se os extratos do botão floral de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), casca de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Piper nigrum* (pimenta-do-reino moída), *Bixa orellana* (urucum) na forma de colorau, rizoma de *Zingiber officinale* (gengibre), folhas frescas de *Petroselinum crispum* (salsa), além do fermento biológico, cloreto de sódio (sal refinado), sacarose, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e soro de leite. Empregou-se a água como testemunha, totalizando-se 13 tratamentos em 4 repetições.

A avaliação da mortalidade foi realizada 24 horas após a exposição dos J2 aos tratamentos, utilizando-se metodologia proposta por Chen & Dickson (2000).

A análise estatística da porcentagem da mortalidade de J2 foi feita pelo programa SAS.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Extratos aquosos e metanólicos de órgãos vegetais na mobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua in vitro*

Maior redução na mobilidade de J2 de *M. exigua* ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu no extrato aquoso do fruto de *Melia azedarach*, comparado com todos os outros extratos, e as testemunhas água destilada e Tween 80 (Tabela 2), demonstrando que no fruto de *M. azedarach* são encontradas substâncias com efeito tóxico a *M. exigua*. Khurma & Singii, (1997), trabalhando com extrato aquoso de sementes de *Melia azedarach*, obtiveram mais de 50% mortalidade de *M. incognita* e *M. javanica*.

Na maioria das espécies vegetais, a água e o metanol extraíram igualmente as substâncias tóxicas a J2 de *M. exigua*, com exceção do extrato aquoso de *Arnica montana*, o qual causou maior imobilização de J2 do que o metanólico. Por outro lado, a maior imobilização de J2 verificada nos extratos obtidos pelo uso do metanol como solvente-extrator de folhas de *M. azedarach*, demonstrou que metanol foi mais eficiente do que a água (Tabela 2). Abid *et al.* (1997), trabalhando com extrato de folhas de *Melia azedarach* obtido em etanol, verificaram 40% de mortalidade de J2 de *M. javanica*. A mobilidade dos J2 de *M. exigua*, variável de acordo com o solvente utilizado na obtenção do extrato da folha de *M. azedarach* e *Arnica montana*, demonstra que as substâncias ativas dessas duas espécies vegetais devem possuir solubilidade diferente em água e metanol. O tipo de solvente também influenciou a mortalidade de J2 de *M. incognita* nos extratos obtidos de diversas espécies vegetais (Scramin *et al.*, 1987). Costa *et al.* (2001) também verificaram diferença significativa na

mobilidade de J2 de *M. incognita* trabalhando com extratos aquosos e metanólicos de diversas espécies vegetais.

TABELA 2. Porcentagem de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* imobilizados em extratos de diversas espécies vegetais.

Tipo de extrato	Solvente	J2 Imóveis (%)
Fruto de <i>Solanum grandiflorum</i>	Água	16,67 b
	Metanol	17,65 b
Folha de <i>Baccharis trimera</i>	Água	19,05 b
	Metanol	0,00 b c d
Folha e fruto de <i>Piper hispidinervium</i>	Água	6,90 b c d
	Metanol	0,00 c d
Folha de <i>Melia azedarach</i>	Água	0,00 c d
	Metanol	14,58 b
Fruto de <i>Melia azedarach</i>	Água	50,00 a
	Metanol	6,90 b c d
Raiz de <i>Melia azedarach</i>	Água	0,00 c d
	Metanol	0,00 b c d
Flor e folha de <i>Momordica charantia</i>	Água	0,00 c d
	Metanol	8,70 b c
Folha e flor de <i>Arnica montana</i>	Água	16,67 b
	Metanol	0,00 d
Água destilada	----	0,00 b c d
Tween 80	----	0,00 c d

Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade, pela análise da estimação de proporções do SISVAR.

✕ No extrato aquoso de *Baccharis trimera*, observaram-se 19,05% de J2 de *M. exigua* imóveis (Tabela 2). Resultado semelhante foi obtido por Costa *et al.* (2001), ao observarem 21% de J2 de *M. incognita* imóveis no extrato aquoso desta planta.

Os extratos de *Momordica charantia* não causaram efeito tóxico à J2 de *M. exigua*, demonstrado por apenas 8,7% dos J2 imóveis (Tabela 2). Entretanto, mais de 80% de J2 de *M. incognita* foram imobilizados no extrato aquoso obtido pela infusão da parte aérea de *M. charantia* (Dias *et al.*, 2000). Isso mostra que, além de vários fatores como concentração do extrato e idade da planta empregada na obtenção do extrato, a eficiência nematicida de *Momordica charantia* pode ter sido provocada, entre outras questões, pela espécie de *Meloidogyne* avaliada. De fato, diferença no efeito nematicida ocorreu em *M. arenaria* e *M. incognita* quando submetidos a produtos obtidos da mesma espécie vegetal (Walker & Melin, 1996).

### 3.2. Efeito dos extratos das especiarias aromáticas, probiótico, solução hidropônica e produtos naturais na mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua*.

Foram considerados como mortos os J2 de *M. exigua* que permaneceram na mesma posição, ou seja, com o corpo completamente distendido após a adição de NaOH 1N na quantidade de 10 a 20% do volume da lâmina escavada. Pela avaliação da porcentagem de J2 mortos, observou-se que no soro de leite, extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), fermento biológico e na solução de cloreto de sódio, ocorreu maior mortalidade de J2 de *M. exigua* ( $P \leq 0,05$ ), comparados com todos os demais tratamentos (Tabela 3). No cloreto de sódio, esse grande efeito pode ter sido causado pela concentração de íons  $Na^+$  e  $Cl^-$ , que provavelmente provocaram alteração na regulação osmótica desse

nematóide. De fato, *Panagrellus redivivus* incubados em solução de NaCl a 14 atm perderam água, o que segundo Myers (1996), citado por Krusberg (1971), tanto o conteúdo de água como de íons presentes no corpo do nematóide depende da concentração de solutos no meio e, com isso, o corpo do nematóide pode contrair ou expandir. Acredita-se que, essa possível alteração da pressão osmótica, possa provocar um estresse na membrana celular e vazamento dos aminoácidos intracelulares.

A variação na taxa de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, decorrente da ação de microrganismos pode ter sido responsável pela alta mortalidade de *M. exigua* no soro de leite, fermento biológico e probiótico (Controlmix) (Tabela 3). No caso específico do soro de leite, bactérias, fungos e leveduras, presentes no soro de leite (Viotto, 1993), podem aumentar a concentração de dióxido de carbono, reduzindo o O<sub>2</sub> que é essencial para as atividades metabólicas normais dos nematóides (Rohde, 1971). No fermento biológico, produto constituído de *Saccharomyces cerevisiae*, (Muchovej & Muchovej, 1989), e no probiótico (Controlmix), composto de diversas bactérias, a ativação do metabolismo desses microrganismos em água possivelmente provocou um aumento no teor de CO<sub>2</sub> e redução no oxigênio disponível para os juvenis J2 de *M. exigua*. Além disso, pode ter ocorrido um acúmulo de substâncias bioativas resultantes desse metabolismo. De fato, *S. cerevisiae* produz substâncias com ação fungicida comprovada (Stangarlin & Pascholati, 1994). No entanto, a presença de substâncias bioativas tóxicas a fitonematóides em culturas de *S. cerevisiae* ainda não tem sido pesquisada. No caso das bactérias, vários trabalhos demonstraram efeito tóxico a nematóides, entre eles, Naves (2000), que verificou alta mortalidade de J2 de *M. javanica* causada por diversos isolados bacterianos.

No *Cinnamomum zeylanicum* (canela), ainda não se conhece o princípio ativo capaz de matar J2 de *M. exigua*, necessitando, portanto, de pesquisas para determinação da causa da alta toxicidade de extrato de canela sobre *M. exigua*.



TABELA 3- Mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* afetados por especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução nutritiva de cultivo hidropônico de folhosas e demais produtos naturais.

Tratamentos	Mortalidade (%)	Eclosão(%)
Soro de leite	100,0 a	1,7 a
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Canela)	100,0 a	4,6 b
Fermento biológico	100,0 a	27,3 d
Cloreto de sódio (NaCl)	100,0 a	8,7 c
<i>Syzygium aromaticum</i> (Cravo-da-índia)	68,8 b	5,9 b
Probiótico (Controlmix)	50,7 b	3,7 b
<i>Pipper nigrum</i> (Pimenta-do-reino)	11,8 c	35,4 d
Açúcar (Sacarose)	4,6 c d	95,0 e
<i>Petroselinum crispum</i> (Salsa)	3,1 c d	30,0 d
<i>Zingiber officinale</i> (Gengibre)	1,0 d	13,9 c
<i>Bixa orellana</i> (Colorau)	0,0 d	56,3 d
Solução hidropônica	0,0 d	82,1 e
Água	0,0 d	100,0 e

Valores da mortalidade e eclosão seguidos da mesma letra são iguais, respectivamente, pelo teste do Qui-Quadrado do programa SAS ( $P \leq 0,05$ ) e Scott-Knott do SISVAR ( $P \leq 0,01$ ).

*Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e o probiótico (Controlmix) causaram maior mortalidade de J2 do que aquela em água ( $P \leq 0,05$ ) com valores superiores a 50% (Tabela 3), demonstrando que os princípios ativos afetaram os sistemas vitais dos J2. De fato, o eugenol, substância que ocorre no *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) (Bullerman *et al.*, 1977) causou alta mortalidade de J2 de *Meloidogyne incognita* (Chatterjee *et al.*, 1982), *Anguina tritici* Steinbuch, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, *Meloidogyne javanica* Treub e *Heterodera cajani* Koshy. (Sangwan *et al.*, 1990).

Apesar de diferir ( $P \leq 0,05$ ) da testemunha (água), o extrato de pimenta-do-reino causou menos de 12% de mortalidade de J2 (Tabela 3), demonstrando conter substâncias talvez menos tóxicas a J2 de *M. exigua* ou em menor concentração.

Todos os tratamentos que causaram 50 a 100% de mortalidade de J2 de *M. exigua* causaram também redução ( $P \leq 0,05$ ) na eclosão, variando de 98,3 a 72,7%, comparada com aquela na água (Tabela 3). Isso sugere tratar-se da mesma substância ou grupo delas. Khurma & Singii, 1997, encontraram efeito tanto na mortalidade quanto na eclosão de J2 de *M. incognita* e *M. javanica*, quando aplicaram extrato de sementes de *Sesbania sesban* (L.) Merr.

Os extratos de *Pipper nigrum* (pimenta-do-reino), *Petroselinum crispum* (salsa) e *Zingiber officinale* (gingibre), que causaram pequeno efeito na mortalidade de J2, inibiram a eclosão, com valores variando de 64,6 a 86,1% e diferentes ( $P \leq 0,05$ ) daquela na água. Também o extrato de *Bixa orellana* (urucum), que não causou mortalidade em J2 de *M. exigua*, inibiu em 43,7% a eclosão, diferente ( $P \leq 0,05$ ) daquela em água (Tabela 3). Desse modo, na maioria dos extratos e demais produtos testados, o efeito tóxico foi mais expressivo na inibição da eclosão de J2 de *M. exigua* em comparação com a mortalidade (Tabela 3). Isso sugere que substâncias diferentes devem estar

envolvidas na mortalidade e na inibição da eclosão nesses extratos, ou ainda que, as diferentes fases envolvidas no processo de eclosão, como a multiplicação celular, o desenvolvimento embrionário, troca de cutícula e saída do ovo (Campos *et al.*, 2001) podem estar sendo diferentemente afetados pelas substâncias e suas concentrações nos extratos.

A evolução da eclosão na água, comparada com aquela no soro de leite, *Cinnamomum zeylanicum* (canela), fermento biológico e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), nos 16 dias de incubação dos ovos de *M. exigua*, foi diferente (Figura 2 A, B, C e D). Observou-se na água um aumento da eclosão entre o 4º e o 6º dia de incubação dos ovos, seguido de novo aumento e queda progressiva a partir do 10º dia. Isso pode ter ocorrido devido ao fato de que numa suspensão de ovos, são encontrados ovos com células e embriões em diversos estádios de desenvolvimento, os quais evoluíram nesse período. O efeito tóxico do soro de leite e dos extratos de canela e cravo-da-índia paralisou grandemente esse desenvolvimento nos primeiros 6 dias e totalmente a partir de então (Figura 2 A, B e D); afetando, portanto, a multiplicação celular e as fases do desenvolvimento embrionário na mesma intensidade.

No fermento biológico, observou-se eclosão dos juvenis de *Meloidogyne exigua* nos primeiros 4 dias de incubação dos ovos que, possivelmente, já continham o juvenil desenvolvido. A partir desse período, ocorreu uma redução na eclosão que foi praticamente inibida a partir do 6º dia de incubação, demonstrando que o efeito tóxico do fermento foi mais prejudicial ao desenvolvimento embrionário do que a saída do juvenil do ovo (Figura 2 C).

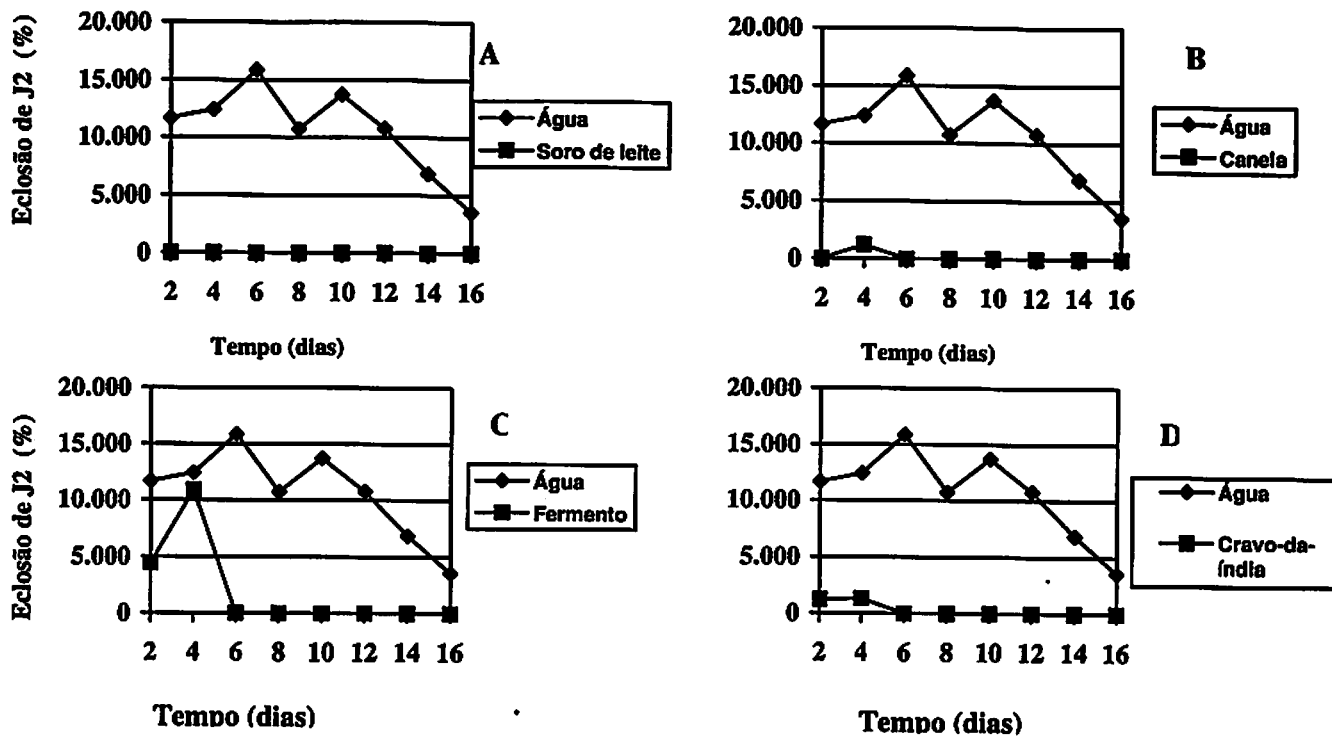


FIGURA 2. Progresso da eclosão de J2 de *Meloidogyne exigua* nos produtos que causaram maior mortalidade dos J2: Soro de leite (A - 100% J2 mortos); *Cinnamomum zeylanicum*, canela (B - 100% J2 mortos); Fermento (C - 100% J2 mortos); e *Syzygium aromaticum*, cravo-da-índia (D - 68,83% de mortalidade de J2).

## 4 CONCLUSÕES

1. O extrato aquoso do fruto de *Melia azedarach* contém substâncias capazes de imobilizar os juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua*.
2. O soro de leite, fermento biológico, extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e cloreto de sódio são tóxicos a juvenis de *M. exigua*.
3. Solução nutritiva para o cultivo hidropônico de folhosas permite a eclosão e sobrevivência de juvenis de segundo estágio de *M. exigua*.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABID, M.; CHOUDHARY, M. I.; MAQBOOL, M. A.; RAHMAN, A. U. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.25, p.155-157. 1997.
- AKTAR, M.; MAHMOOD, I. Potential of phytochemicals in nematode control: A review. *Bioresource Technology*, Oxford, v.48, p.189-201. 1994.
- BARA, M. T. F. Avaliação do efeito inibidor de condimentos no crescimento de *Yersinia enterocolitica*., 1992. 73p. Dissertação ( Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BULLERMAN, L. B.; LIEU, F. Y.; SEIER, S. A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*, Chicago, v.42, n.4, p.1107-1109. 1977.
- CAMPOS, V. P.; CAMPOS, J. R.; SILVA, L. H. C. P.; DUTRA, M. R. Manejo de nematóides em hortaliças. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças. Lavras: UFLA, 2001. cap. 5, p. 125-158.
- CHATTERJEE, A.; SUKUL, N. C.; LASKAR, S.; GHOSHMAJUMDAR, S. Nematicidal principles from two species of lamiaceae. *Journal of Nematology*, Ames, v.14, n.1, p.118-120. 1982.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Ames, v.32, n.1, p.117-121. 2000.

COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; OLIVEIRA, D. F.; PFENNING, L. H. Toxicidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.27, p.245-250. 2001.

DIAS, C. R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.24, n.2, p.203-210. 2000.

FURLANI, P. R. **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia - NFT**. Campinas: Instituto Agronômico, 1998. 30p. (Boletim Técnico, 168).

GOMMERS, F. J. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. **Helminthological Abstracts, Series B. Plant Nematology**, Wallingford, v.50, n.1, p.9-24, 1981.

HUANG, S. P.; RESENDE, I.C.; SOUZA, P.E.; CAMPOS, V. P. Effect of aldicarb, ethoprop and carbofuran on control of coffee root-knot nematode *Meloidogyne exigua*. **Journal of Nematology**, Ames, v.15, n.4, p.510-514, oct. 1983.

HUSSEY, R. S.; BARKER, R. K. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 57, p.1025-1028, 1973.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p.603-608, 2000.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p.692, 1964.

JESPERS, A. B. K.; WAARD, M. A. de. Natural products in plant protection. **Netherlands Journal Plant Pathology**, Netherlands, v.99, p.109-117. 1993. (Supplement, 3).

KHAN, F. A. Nematicidal potentials of some naturally-growing medicinal plants against *Pratylenchus zaei*. **Revue Nématologie**, Auburn, v.13, n.4, p.463-465. 1990.

KHURMA, U. R.; SINGIL, A. Nematicidal potential of seed extracts: *in vitro* effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 25, p.49-54, 1997.

KRUSBERG, L. R. Chemical composition of nematodes. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. (eds.). **Plant parasitic nematodes. II. Cytogenetics, host parasite interactions and physiology.** , New York : Academic Press, 1971. p. 213-234.



MUCHOVEJ, J. J.; MUCHOVEJ, R. M. C. **Noções básicas de Micologia.** Viçosa: UFV, 1989. 155p.

NAVES, R. L. **Bactérias endofíticas do sistema radicular: isolamento e potencial para o controle biológico de fitonematóides.** 2000. 113 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia da [Madeira]). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ROHDE, R. A. Respiration. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. (eds). **Plant parasitic nematodes. II. Cytogenetics, host parasite interactions and physiology.** New York: Academic Press, 1971. p. 235-246.

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

SASSANELLI, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. **Nematologia Mediterranea, Bari**, v.20, n.1, p.53-55, 1992.

SCHMIDT, L. F. **Efeito de extratos naturais de origem vegetal sobre esporos de *Desulfotomaculum nigrificans*.** 1994. 123p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade de Campinas, Campinas.

SCRAMIN, S.; SILVA, H. P.; FERNANDES, L. M. S.; YHAN, C. A. **Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1.** **Nematologia Brasileira, Piracicaba**, v.11, p.89-102, 1987.

**STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccaromyces cerevisiae*. Summa Phytopathologica, Jaboticabal, v.20, p.16-21, 1994.**

**SUKUL, N. C.; DAS, P. K.; DE, G. C. Nematicidal action of some edible crops. Nematologica, Leiden, v.20, p.187-191, 1974.**

**VIOTTO, W. H. Ultrafiltração de soro doce de queijo minas frescal. Efeito de pré-tratamentos do soro no desempenho da membrana e na composição e solubilidade do concentrado protéico de soro., 1993. 212p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos ).Universidade de Campinas, Campinas.**

**WALKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. Journal of Nematology, Lakeland, v.28, n.4, p.629-635. 1996. Supplement.**

### **CAPÍTULO 3**

#### **ECLOSÃO E MORTALIDADE DE JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO DE *MELOIDOGYNE EXIGUA* DO CAFEIEIRO EM ÓLEOS ESSENCIAIS**

## RESUMO

SALGADO, S. M. L. Eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro em óleos essenciais. In: \_\_\_\_\_. **Produtos naturais para o controle de fitonematóides**. Lavras: UFLA, 2001. Cap.3, p. 60- 81. (Tese de Doutorado em Fitopatologia).\*

Os óleos essenciais são constituídos de substâncias, algumas já testadas e com efeito nematicida no controle de fitonematóides. A mortalidade e a eclosão foram avaliadas em juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* nos óleos essenciais de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligma*, *E. urophylla*, *Bixa orellana* (urucum), *Cymbopogon nardus* (citronela), *Xylopiã brasiliensis* (pindaíba) e *Melia azedarach* (Santa Bárbara). O óleo foi extraído pela técnica de arraste a vapor d'água, utilizando o aparelho de Clevenger modificado, ou pela imersão em solventes de partes do fruto de *M. azedarach*. Após a extração, todos os óleos foram solubilizados em dimetil sulfoxido. A mortalidade dos J2 foi avaliada 24 horas após a imersão nos óleos. Maior mortalidade ( $P \leq 0,05$ ) foi igualmente demonstrada pelos óleos de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligma*, *E. urophylla*, *Bixa orellana*, *X. brasiliensis* e de *M. azedarach*, comparada com aquela na água. A eclosão dos J2 de *M. exigua* nos óleos essenciais foi avaliada 14 dias após a incubação dos ovos a 25°C no escuro. Os óleos não causaram inibição da eclosão dos J2 comparada com a água, que provavelmente ocorreu por causa da volatilização de substâncias que participam da constituição dos óleos, indicando que menor período de incubação dos ovos nos óleos essenciais deve ser empregado na avaliação da eclosão. Entretanto, a alta mortalidade dos J2 de *M. exigua* em alguns dos óleos essenciais testados demonstra o potencial nematicida de suas substâncias bioativas.

---

\* Comitê de orientação: Vicente Paulo Campos – UFLA (Orientador); Mário Lúcio V. Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## ABSTRACT

SALGADO, S. M. L. Hatching and mortality of second juveniles of coffee *Meloidogyne exigua* in essential plant oils. In: \_\_\_\_\_. **Produtos naturais para o controle de fitonematóides**. Lavras: UFLA, 2001. Cap.3, p.60-81. (Tese de Doutorado – Fitopatologia).\*

Plant oils contain substances wich some of them have already been tested and showed nematicidal effects against plant parasitic nematodes. Mortality and hatching of second stage juveniles (J2) of *Meloidogyne exigua* of coffee were avaliated in essential oils of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligma*, *E. urophylla*, *Bixa orellana*, *Cymbopogon nardus*, *Xylopiã brasiliensis* and *Melia azedarach*. The plant oils were extracted by water steam dragging by utilizing of the modified apparatus of Clevenger, or by immersion in solvents of fruit parts of *Melia azedarach*. Residues were solubilized in dimethyl sulfoxide. J2 mortality was avaliated 24 hours after immersion in oil. Greater mortality ( $P \leq 0,05$ ) equally occurred in oils of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. saligma*, *E. urophylla*, *Bixa orellana*, *Xylopiã brasiliensis* and fruit husk and flesh of *Melia azedarach* compared to water. Hatching of *M. exigua* J2 in essential oils was avaliated after 14 days of egg incubation at 25°C in dark. Oils did not inhibited J2 hatching compared to water, perhaps, due to volatilization of toxic substances to nematode embryo during the period of egg incubation. Reduction of egg incubation period may avoid this problem. The high J2 mortality in most essential oils tested indicated presence of potential nematicidal bioactive substances in tested plants.

---

\* Guidance Commitee: Vicente Paulo Campos – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio V. Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO

O longo período de permanência de cafeeiros no campo leva à relutância no uso de substâncias altamente tóxicas, como os nematicidas encontrados no mercado (Campos, 1997), criando novo mercado para produtos naturais, principalmente para o café orgânico. De fato, os fitopatógenos podem ter suas populações reduzidas pelo uso de químicos de ocorrência natural e aleloquímicos, sem risco ambiental e sem efeito na população de organismos benéficos (Akhtar & Malik, 2000).

Os óleos essenciais, importantes na defesa da planta contra microrganismos e predadores, têm sido extraídos de diversos órgãos vegetais. Na sua maioria, são quimicamente constituídos de substâncias terpênicas, eventualmente, de fenilpropanóides, acrescidos de grupos menores, como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas (Siani *et al.*, 2000). Além da composição química, a localização do óleo essencial na planta, a metodologia empregada no processo de extração e o preparo do óleo para o bioensaio também podem interferir no efeito sobre fitopatógenos. Os óleos essenciais podem ser extraídos por vários métodos, incluindo o arraste por vapor d'água, também conhecido como hidrodestilação, o qual se baseia no fato de que os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que a da água (Simões & Spitzer, 1999). O óleo assim obtido, após separar-se da água, deve ser seco empregando-se um dessecante apropriado. Um outro método é aquele que emprega solventes orgânicos apolares, nos quais o material vegetal é colocado em imersão por um determinado período de tempo, após o qual o solvente é evaporado, obtendo-se o óleo essencial.

Os óleos essenciais têm sido pesquisados para o controle de planta daninha (Kohli *et al.*, 1998), fungos fitopatogênicos como *Fusarium*

*subglutinans* f. sp. *ananas* (Santos *et al.*, 2001), *Fusarium oxysporum* e *Botrytis cinerea* (Salgado, 2001), *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Phytophthora capsici* (Müller-Riebau *et al.*, 1995), *Lasiodiplodia theobromae* (Mota *et al.*, 2001), *Colletotrichum musae* (Bastos & Albuquerque, 2001), *Crinipellis perniciosa* e *Phytophthora palmivora* (Bastos, 2001), *Aspergillus parasiticus* (Bullerman *et al.*, 1977), bactérias como *Ralstonia solanacearum* (Véras & Yuyama, 2001) e leveduras (Conner & Beuchat, 1984 a, 1984b). Também têm sido testados contra vários insetos e pragas de importância econômica (Isman, 2000; Ansari *et al.*, 2000).

Os estudos sobre o efeito de óleos essenciais aos fitonematóides se intensificaram na última década, porém, ainda são raros. Poucos trabalhos têm avaliado o efeito nematicida dos óleos essenciais e seus componentes (Nath *et al.*, 1982; Sangwan *et al.*, 1985 e 1990; Gupta & Sharma, 1991; Leela *et al.*, 1992; Walker & Melin, 1996; Oka, 2001 e Oka *et al.*, 2000; Gonçalves *et al.*, 2001). Entretanto, muitos nematicidas naturais têm sido encontrados em plantas, como moléculas dos grupos tienil, alcalóides, fenóis, sesquiterpenos, diterpenos e poliacetilenos (Oka, 2001). Provavelmente, a existência de atividade nematicida nos óleos essenciais esteja relacionada com mistura de diferentes compostos que, por sua vez, dependem da composição química da espécie vegetal da qual foram extraídos.

Nos testes biológicos com óleos para o controle de nematóides, faz-se necessário solubilizar os óleos para avaliação do efeito sobre nematóides. Várias substâncias têm sido utilizadas na solubilização dos óleos, dentre elas, Trinton X-100 (Nath *et al.*, 1982; Gupta & Sharma, 1991), dimetil sulfoxido – DMSO (Lorimer *et al.*, 1996; Nascimento, 1999; Gonçalves *et al.*, 2001) e metanol em Tween 20 (Leela *et al.*, 1992, Oka *et al.*, 2000 e Oka, 2001).

Óleos essenciais de *Cymbopogon*, *Ocimum basilicum*, *O. sanctum*, *Mentha piperata*, *Callistemon lanceolatus* e *Eugenia caryophyllata*, e seus

constituintes linalol, eugenol, menthol, cineol e geraniol demonstraram efeito tóxico a juvenis do segundo estágio de *Anguina tritici*, *Meloidogyne javanica*, *Heterodera spp* e *Tylenchulus semipenetrans* (Sangwan *et al.*, 1985 e 1990).

Leela *et al.*, 1992, observaram 100% de mortalidade de *Meloidogyne incognita* em óleo essencial de *Pelargonium graveolens*. Alta toxicidade de óleos essenciais sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* foi verificada também por Gonçalves *et al.* (2001), trabalhando com óleos de *Pilocarpus microphyllus*, *Psidium guajava*, *Psidium sp.* *Vanillosmopsis arborea*, *Egletis viscosa*, *Pectis oligocephalla*, *Siparuna guianensis*, *Zanthoxylum sp.* e *Philodendron astatum*.

Em tomateiro houve redução da população de *Meloidogyne incognita* após a imersão das raízes em óleo de *Ricinus communis*, *Eruca sativa* e *Brassica juncea* (Akhtar & Mahmood, 1993).

Os óleos essenciais tem composição química bem complexa. Os óleos de eucalipto são constituídos por uma mistura de substâncias orgânicas voláteis, frequentemente envolvendo 50 a 100 ou até mais compostos de diversos grupos químicos como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres. O óleo essencial de eucalipto representa um produto natural de alto valor agregado e bom rendimento quando extraído de folhas verdes (Böckel *et al.*, 1998). O óleo essencial de espécies de *Eucalyptus* tem apresentado ação fungitóxica sobre vários fungos (Müller-Riebau *et al.*, 1995) incluindo *Fusarium oxysporum* e *Botrytis cinerea* (Salgado, 2001). Entretanto, estudos sobre óleos essenciais tóxicos à *M. exigua* do cafeeiro ainda não foram feitos.

Dessa forma, objetivou-se neste trabalho obter e testar a toxicidade de óleos essenciais de diversas plantas, incluindo espécies de *Eucalyptus* na mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS


### 2.1. Obtenção de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua*

Raízes galhadas de cafeeiros foram lavadas em bandeja e distribuídas sobre papel-toalha para retirar o excesso de água. Em seguida, foram cortadas em fragmentos de 0,5 cm e extraídos ovos pela técnica de Hussey & Barker, 1973. A suspensão de ovos foi submetida ao método de Flotação e Centrifugação (Jenkins, 1964), utilizando-se caolim para eliminar resíduos de raízes. Os ovos na suspensão foram quantificados em microscópio estereoscópico.

Para obtenção de J2 de *M. exigua*, a suspensão de ovos em água foi distribuída em câmaras de eclosão preparadas em placa de Petri de 4,5 cm, utilizando-se peneira montada com malha poliéster de 0,025 a 0,030 mm de abertura, presa entre dois anéis de PVC de 10mm x 40 mm. Os J2 eclodidos foram coletados diariamente.

### 2.2. Extração dos óleos essenciais

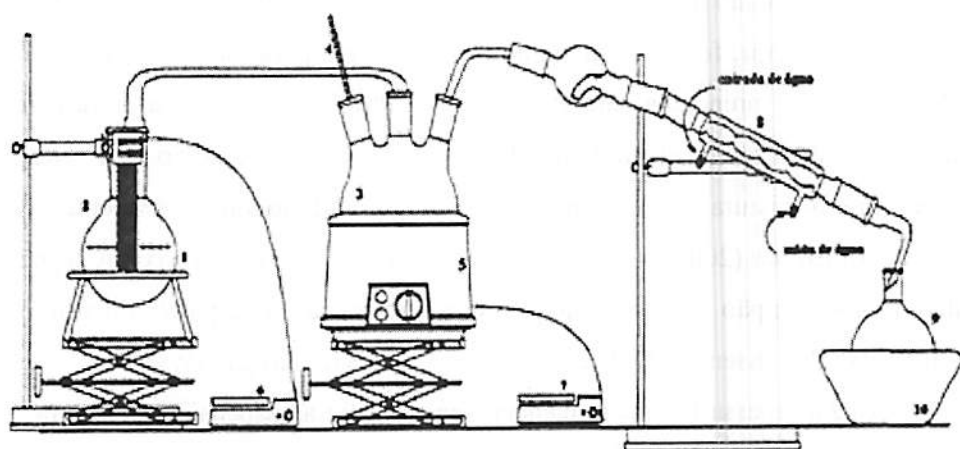
Na extração dos óleos essenciais, empregaram-se as técnicas do “arraste por vapor d’água” e o método de imersão em solvente orgânico, (Simões & Spitzer, 1999). Das folhas frescas de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, *Eucalyptus saligma* Sm., *Bixa orellana* L (urucum), *Xylopiã brasiliensis* Spreng (pindaíba) e *Cymbopogon nardus* Rendle (citronela), extraíram-se os óleos essenciais pela técnica do arraste por vapor d’água. As folhas foram picadas, pesadas e divididas em lotes de 80 g cada um e, a seguir, colocadas em balão de fundo redondo. No aparelho de Clevenger



modificado (Figura 1) realizou-se a extração dos óleos das folhas, por meio do vapor d'água, que passava através de um tubo que ligava o balão com água em ebulição por aquecedor interno ao balão com as folhas que, por sua vez, tinha um termômetro para monitoramento e manutenção da temperatura interna do balão com as folhas em aproximadamente 100 °C. Os componentes vegetais extraídos pelo arraste em vapor d'água, após a passagem por um condensador tipo Liebig, foram coletados na forma de hidrolato em um frasco mantido em banho de gelo. O processo de extração ocorreu em aproximadamente 3 horas, quando, então, as folhas apresentaram coloração amarelada. O hidrolato obtido foi acondicionado em frasco escuro, por 24 horas, antes de iniciar a retirada da água. Para isso, o hidrolato foi transferido para funil de separação sendo adicionados 50 mL de diclorometano ocorrendo, em seguida, a decantação, sendo essa operação repetida quatro vezes. Reuniram-se as frações orgânicas para secagem com sulfato de magnésio anidro ( $MgSO_4$ ) seguida da evaporação do diclorometano em Rotavapor (Modelo Büchi R-114, Banho Modelo B-480) acoplado a uma bomba de vácuo (Marca Marconi Modelo MA 057). O óleo essencial obtido foi armazenado em estufa ventilada com temperatura aproximada de 35°C, para evaporação do solvente remanescente até o momento de sua utilização.

A extração do óleo do fruto de *Melia azedarach* (Santa Bárbara) foi feita pelo método de imersão das partes do fruto em solventes orgânicos. Para isso, dos frutos de *Melia azedarach* recém-colhidos, separou-se o caroço da polpa e casca, procedendo-se, separadamente, à extração do óleo. Parte da polpa e casca foi colocada em imersão em clorofórmio. Embora o metanol e o acetato de etila, não sejam recomendados para a extração de óleo essencial, estes solventes foram empregados para extração do óleo da polpa e casca e do caroço. Para isso, a outra parte da polpa e casca foi colocada em metanol. Após 8 dias de imersão, realizou-se a filtração a vácuo utilizando funil de Buchner,

seguida da evaporação dos solventes em evaporador rotatório, obtendo-se, assim, os óleos da polpa e casca, extraídos em clorofórmio e metanol. Do caroço, extraiu-se óleo pela imersão no solvente acetato de etila, também por 8 dias, seguida da filtração e evaporação do solvente em evaporador rotatório. Os óleos foram armazenados em estufa a 35°C, onde permaneceram até sua utilização.



**FIGURA 1** - Representação esquemática do equipamento para extração de óleo essencial por arraste a vapor d'água: 1 e 2-balão de boca larga com fonte de aquecimento para ferver água e gerar vapor; 3- balão de fundo redondo com três bocas; 4-termômetro; 5- manta aquecedora; 6 e 7- termostatos; 8- condensador; 9- recipiente para receber o hidrolato; 10- cuba com gelo.

### 2.3. Preparo dos óleos essenciais para os testes de eclosão e mortalidade.

Os óleos essenciais obtidos apresentaram diferentes viscosidades, sendo necessário solubilizá-los antes de sua utilização nos testes subseqüentes. A solubilização dos óleos foi feita pela metodologia proposta por Lorimer *et al.* (1996).

Inicialmente os óleos foram misturados a dimetil sulfóxido (DMSO), na proporção de 1:1(v/v). Ao óleo com DMSO, adicionou-se água destilada, na respectiva proporção de 1: 9 (v/v), obtendo-se a mistura óleo essencial-DMSO-água, que, a seguir, foi dividida em duas partes. Uma parte dessa mistura óleo-DMSO-água foi preparada para utilização no teste de eclosão e a outra parte para o teste de mortalidade de J2 de *M. exigua*. No preparo do óleo para o teste de eclosão, à mistura óleo essencial-DMSO-água adicionou-se suspensão de ovos de *M. exigua* (2000 ovos/mL de água), na proporção de 1:1(v/v). A seguir, adicionou-se tampão fosfato salino (PBS), na proporção de 2 partes do volume da mistura óleo essencial-DMSO-água para 3 partes do tampão (v/v).

Utilizando essa mesma seqüência, substituiu-se a suspensão de ovos pela suspensão de J2 recém-eclodidos de *M. exigua* no preparo do óleo essencial para o teste de mortalidade de J2 de *M. exigua*, obtendo-se o óleo com aproximadamente 250 J2/mL.

### 2.4. Efeito de óleos essenciais na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua in vitro*

Em lâmina escavada, colocaram-se 150 µL do óleo essencial preparado como descrito em 2.3. Empregaram-se os óleos de *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus saligma*, *Bixa orellana*, *Xylopiã brasiliensis*, *Cymbopogon nardus*, ou os óleos de *Melia azedarach*, (polpa com

casca em metanol, clorofórmio e caroço em acetato de etila). Desse modo, cada lâmina recebeu aproximadamente 38 J2 de *M. exigua*. A seguir, a lâmina foi colocada em câmara úmida em placa de Petri de 90 mm de diâmetro, forrada com papel de filtro umedecido.

O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, empregando-se 9 tipos de óleo, as testemunhas DMSO (2% v/v em PBS) e água destilada, e 4 repetições.

Após 24 horas de incubação, avaliou-se em microscópio de objetiva invertida a porcentagem de J2 mortos, segundo a metodologia proposta por Chen & Dickson (2000). Para tal, cada lâmina foi adicionada de 10 a 20% de NaOH 1N. Foram caracterizados como mortos aqueles J2 que permaneceram com o corpo completamente distendidos aos 2 a 3 minutos após a adição do NaOH.

Os dados referentes à porcentagem de J2 mortos foram analisados no programa estatístico SISVAR

## **2.5. Efeito de óleos essenciais na eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* in vitro**

Em placa ELISA, distribuíram-se os óleos essenciais de *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus saligma*, *Bixa orellana*, *Xylopiã brasiliensis*, *Cymbopogon nardus*, ou um dos três tipos de óleo de *Melia azedarach*, (polpa com casca em metanol, em clorofórmio e caroço em acetato de etila), preparados como descrito em 2.3 e contendo ovos de *M. exigua*. Em cada orifício da placa, foram colocados 100 µL do óleo solubilizado, com aproximadamente 10 a 20 ovos. Em seguida, as placas foram empilhadas e acondicionadas em recipientes devidamente tampados e colocadas em câmara de crescimento (BOD) a 25°C no escuro.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, empregando-se 9 tipos de óleo, DMSO (2% v/v em PBS) e a água destilada como testemunhas. Cada unidade amostral foi representada por um orifício da placa Elisa com 100 µL do óleo contendo ovos de *M. exigua*. Empregaram-se 5 repetições e cada uma representada pela média de quatro unidades amostrais.

Em microscópio estereoscópico, avaliou-se a eclosão de J2 de *M. exigua*, a cada 48 horas, durante 14 dias. Calculou-se a área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE) relativa à porcentagem de J2 de *M. exigua* eclodidos durante o experimento, empregando-se o programa AVACPD.

Os dados da AACPE foram transformados para  $\sqrt{x+1}$  e submetidos à análise de variância do programa estatístico SISVAR.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Efeito de óleos essenciais na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua*

Maior mortalidade de J2 ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu nos óleos de *Eucalyptus saligma*, *E. camaldulensis*, *E. urophylla*, *Xylopiã brasiliensis*, *Melia azedarach* (polpa e casca), *Bixa orellana* e *Cymbopogon nardus*, comparados com aquela em água destilada e DMSO (Tabela 1), demonstrando que frutos de *Melia azedarach* e folhas das demais plantas contêm substâncias tóxicas a esse nematóide.

A mortalidade de J2 foi maior ( $P \leq 0,05$ ) em óleo obtido da polpa com casca do que no óleo do caroço dos frutos de *M. azedarach* (Tabela 1). Entretanto, o óleo extraído pelo clorofórmio ou metanol, causaram mortalidade semelhante em J2 (Tabela 1), demonstrando eficácia semelhante do metanol e do clorofórmio na extração da/s substância/s bioativa/s do fruto de *M. azedarach*. Já o acetato de etila deve extrair tais substâncias em menor quantidade ou mesmo extrair outras substâncias diferentes daquelas obtidas pelo metanol ou clorofórmio. Entretanto, Khurma & Singii (1997), trabalhando com extrato aquoso de sementes moídas de *M. azedarach*, observaram efeito tóxico sobre J2 de *M. incognita* e *M. javanica*, demonstrando que no fruto de *M. azedarach* existem substâncias com efeito nematicida. Acredita-se, então, que a menor mortalidade de J2 causada pelo óleo do caroço de *M. azedarach* foi decorrente do método de extração ou solvente utilizados, provavelmente inadequados para retirada de substâncias internas do caroço. /

TABELA 1 - Mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* em óleos essenciais extraídos de folhas e frutos de diferentes espécies vegetais.

Espécie vegetal	Órgão da planta	Tipo de extração	Mortalidade de J 2 (%)
<i>Eucalyptus saligma</i>	Folha	Arraste por vapor d'água	100,0 a
<i>Melia azedarach</i>	Fruto (Polpa e casca)	Imersão em metanol	94,3 a
<i>Bixa orellana</i>	Folha	Arraste por vapor d'água	91,9 a
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Folha	Arraste por vapor d'água	91,7 a
<i>Eucalyptus urophylla</i>	Folha	Arraste por vapor d'água	89,4 a
<i>Xylopia brasiliensis</i>	Folha	Arraste por vapor d'água	88,8 a
<i>Melia azedarach</i>	Fruto (Polpa e casca)	Imersão em clorofórmio	82,5 a
<i>Cymbopogon nardus</i>	Folha	Arraste por vapor d'água	66,1 b
<i>Melia azedarach</i>	Fruto (Caroço)	Imersão em acetato de etila	48,7 c
DMSO			30,5 d
Água destilada			14,5 e

Médias seguidas de mesma letra são iguais pelo teste Skott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).  
DMSO = dimetil sulfóxido



Óleos essenciais obtidos de folhas de *Eucalyptus saligma*, *E. camaldulensis*, *E. urophylla*, *Bixa orellana* e *Xylopiã brasiliensis* causaram maior mortalidade de J2 do que aquela verificada no óleo de *Cymbopogon nardus*; porém, todos maiores ( $P \leq 0,05$ ) do que aquela nas testemunhas (água destilada e DMSO) (Tabela 1), demonstrando eficácia do arraste por vapor d'água como técnica extratora dessas substâncias tóxicas a J2 na maioria das plantas, com exceção do *Cymbopogon nardus*. Talvez, nessa planta, a substância tóxica a J2 seja diferente daquelas nas demais plantas ou menos tóxica a J2 de *M. exigua*. Sangwan *et al.* (1985) observaram que o óleo essencial de *Cymbopogon nardus*, obtido de folhas frescas pela técnica de arraste a vapor d'água, tem alto potencial nematicida, chegando inclusive a caracterizar o monoterpeno eugenol, presente no óleo dessa planta, como composto de maior toxicidade aos J2 de *Meloidogyne javanica*, *Anguina tritici*, *Tylenchulus semipenetrans* e *Heterodera cajani*.

Abid *et al.* (1997), utilizando extrato de folha de *E. camaldulensis*, encontraram apenas 38% de mortalidade de J2 de *M. javanica*. Talvez no óleo obtido da folha, empregado nesse ensaio (Tabela 1), tenha maior concentração ou mistura de substâncias bioativas, ou mesmo maior sensibilidade do J2 de *M. exigua*.

As folhas de *Bixa orellana* (urucum) possuem substâncias tóxicas a *M. exigua*, demonstradas pela alta mortalidade de J2 (Tabela 1). Porém, não existem relatos da utilização dessa planta para o controle de nematóides. Sabe-se que nas folhas de *Bixa orellana* (urucum), os compostos monoterpenos e sesquiterpenos são majoritários (Teske & Trentini, 1997). Provavelmente esses compostos foram responsáveis pela toxicidade a *M. exigua*, pois, de acordo com Oka *et al.* (2000), a atividade nematicida demonstrada por óleos essenciais pode ser atribuída aos seus principais componentes.

O mecanismo de ação nematicida dos óleos essenciais ou de seus

componentes é desconhecido (Oka, 2001), porém existem evidências da ação desses óleos na inibição da acetilcolinesterase, principalmente em insetos (Ryan & Byrne, 1988). Atribui-se que ocorra ruptura da membrana celular e conseqüente alteração da permeabilidade da membrana, que segundo Oka (2001), ocorre com fungos expostos a diversos óleos essenciais.

Embora o ingrediente ativo envolvido na toxicidade dos óleos essenciais sobre *M. exigua* não tenha sido identificado, os resultados obtidos concordam com Oka *et al.* (2000), os quais consideram como nematicidas promissores os óleos essenciais e seus principais componentes. Ressalta-se aqui o óleo de *Bixa orellana* (urucum), planta originária da América do Sul, mais especificamente da região amazônica, que apresentou alta toxicidade sobre *M. exigua*. Os óleos representam, na realidade, alternativa na proteção das lavouras (Isman, 2000), e potencialmente úteis no manejo de doenças de plantas cultivadas especialmente na agricultura orgânica.

### **3.2. Efeito de óleos essenciais na eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua***

Os óleos essenciais não inibiram, ( $P \leq 0,05$ ) a eclosão de J2 de *M. exigua* comparados à água destilada. Isto demonstra que substâncias ativas encontradas nos óleos essenciais e que causaram alta mortalidade de J2 (Tabela 1), durante as 24 horas de incubação dos J2 nos óleos, provavelmente volatilizaram durante a incubação dos ovos nos óleos, pois, o menor prazo estabelecido para avaliação da eclosão, foi de 48 horas de incubação dos ovos. De fato, os óleos essenciais constituem misturas de substâncias voláteis (Stangarlin *et al.*, 1999).

#### 4. CONCLUSÕES

1. Óleos essenciais de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *Xylopiã brasiliensis*, *Bixa orellana* e óleo da polpa e casca de *Melia azedarach* possuem substâncias com efeito nematocida.
2. Os óleos essenciais não inibiram a eclosão dos juvenis de segundo estágio de *M. exigua* durante o período de incubação dos ovos.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABID, M.; CHOUDHARY, M. I.; MAQBOOL, M. A.; RAHMAN, A. U. Preliminary screening of some plants for their nematocidal activity against *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.25, p.155-157, 1997.

AKHTAR, M.; MALIK, A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresource Technology*, Oxford, v. 74, p.35-47, 2000.

AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Control of plant-parasitic nematodes with 'nimin' and some plant oils by bare-root dip treatment. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.21, p.89-92, 1993.

ANSARI, M. A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. K. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology*, Oxford, v. 71, p.267-271, 2000.

BASTOS, C. N. Efeito fungitóxico do óleo de *Piper enckea* sobre *Crinipellis pernicioso* e *Phytophthora plamivora* *in vitro*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.26, p.417, aug. 2001. (Suplemento).

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Fungitoxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* contra *Colletotrichum musae* 'in vitro' e 'in vivo'. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.26, p.416. aug. 2001. (Suplemento).

BÖCKEL, W. J.; KIST, L. T.; DORNELLES, L.; SCHNEIDER, R. C. S.  
Extração do óleo essencial do eucalipto das variedades *Eucalyptus grandis* e  
*Eucalyptus saligma* cultivados na região do Vale do Rio Pardo. **Tecno-lóg**,  
Santa Cruz do Sul, v.2, n.2, p.37-53, jul./dez. 1998.

BULLERMAN, L. B.; LIEU, F. Y.; SEIER, S. A. Inhibition of growth and  
aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and  
eugenol. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.4, p.1107-1109, 1977.

CAMPOS, V. P. Café: doenças causadas por nematóides. In: VALE, F. X. R.;  
ZAMBOLIM, L. (eds.) **Controle de doenças de plantas**. Visconde do Rio  
Branco: Suprema Gráfica e Editora, 1997. v.1, p.141-170.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage  
juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Ames, v. 32, n.1,  
p.117-121, 2000.

CONNER, D. E.; BEUCHAT, L. R. Sensitivity of heat-stressed yeasts to  
essential oils of plants. **Applied and Environmental Microbiology**,  
Washington, v.47, n.2, p.229-233, Feb. 1984a.

CONNER, D. E.; BEUCHAT, L. R. Effects of essential oils from plants on  
growth of food spoilage yeasts. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, p.429-  
434. 1984b.

GONÇALVES, F. J. T.; FREIRE, F. C. O.; ANDRADE NETO, M. Atividade  
antogonística de óleos essenciais a juvenis de *Meloidogyne incognita*.  
**Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.494, aug. 2001. (Suplemento).

GUPTA, R.; SHARMA, N. K. Nematicidal properties of garlic, *Allium sativum* L. **Indian Journal Nematology**, New Delhi, v.21, n.1, p.14-18, 1991.

HUSSEY, R. S.; BARKER, R. K. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 57, p.1025-1028, 1973.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p.603-608, 2000.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p.692, 1964.

KOHLI, R. K.; BATISH, D. R.; SINGH, H. P. Eucalpt oils for the control of parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.). **Crop Protection**, Oxford v.17, n.2, p.119-122, 1998.

KHURMA, U. R.; SINGH, A. Nematicidal potential of seed extracts: *in vitro* effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 25, p.49-54, 1997.

LEELA, N. K.; KHAN, R. M.; REDDY, P. P.; NIDIRY, E. S. J. Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 20, p. 57-58. 1992.

LORIMER, S. D.; PERRY, N. B., FOSTER, L. M.; BURGESS, E. J. A nematode larval motility inhibition assay for screening plant extracts and natural products. **Journal of Agricultural of the Food Chemistry**, Washington, v. 44, p.2842-2845,1996.

MOTA, J. C. O.; PESSOA, M. N. G.; VIANA, F. M. P. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *Lasiodiplodia theobromae* 'in vitro'. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.400, aug. 2001. (Suplemento).

MÜLLER-RIEBAU, F.; BERGER, B.; YEGEN, O. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. **Journal of Agricultural of the Food Chemistry**, Washington, v.43, n.8, p.2262-2266, 1995.

NASCIMENTO, J. C. Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna cinerea* e quantificação de L-Dopa em três espécies de *Mucuna*., 1999. 124 p. (Dissertação de Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de viçosa, Viçosa.

NATH, A.; SHARMA, N. K.; BHARDWAJ, S.; THAPA, C. D. Nematicidal properties of garlic. **Nematologica**, Netherlands, v.28, p.253-255, 1982.

OKA, Y. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, Leiden, v.3, n.2, p.159-164, 2001.

OKA, Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; YANIV, Z.; SPIEGEL, Y.

Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology*, St. Paul, v.90, p.710-715, 2000.

RYAN, M. F.; BYRNE, O. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v.14, p.1965-1975, 1988.

SALGADO, A. P. S. **Estudo dos constituintes químicos e da atividade fungitóxica do óleo essencial das folhas de *Eucalyptus***. 2001. 52p. Dissertação (Mestrado Agroquímica e Agrobioquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

SANGWAN, N. K.; VERMA, B. S.; VERMA, K. K.; MALIK, M. S., DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of essential oils of *Cymbopogon* grasses. *Nematologica*, Leiden, v. 32, n.1, p.93-99, 1985.

SANTOS, M. P.; ALVES, E. S. S.; SANTOS, R. B.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, P. M. B. Eficiência 'in vitro' de óleos essenciais no controle de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* agente etiológico do abacaxizeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.26, aug. 2001. p.335. (Suplemento).



SIANI, A. C., SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, v.3, n.16, 38-43, set./out. 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al., **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p.387-415.

STANGARLIN, J.R.; FREITAS, K.R.; CRUZ, M.E.da SILVA; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v.2, n.11, p.16-21, nov/dez. 1999.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de Fitoterapia**. 3. ed. Curitiba: Herbarium, 1997. 317p.

VÉRAS, S. M.; YUYAMA, K. Atividade antagônica 'in vitro' do óleo essencial e extrato de pimenta longa (*Piper aduncum*) no crescimento de *Ralstonia solanacearum* raças 1 e 2. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.274, aug. 2001. (Suplemento).

WALKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. **Journal of Nematology**, Ames, v.28, n.4, p.629-635. 1996. (Suplement).

## **CAPÍTULO 4**

**EXTRATOS NATURAIS NA PATOGENICIDADE E REPRODUÇÃO DE  
*MELOIDOGYNE EXIGUA* GOELDI, 1887, EM CAFEIEIRO  
(*COFFEA ARABICA L.*) E DE *MELOIDOGYNE INCOGNITA*  
(KOFOID & WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949, RAÇA 3 EM  
FELJOEIRO (*PHASEOLUS VULGARIS L.*)**

## RESUMO

SALGADO, S. M. L. Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, raça 3 em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: \_\_\_\_\_. **Produtos naturais para o controle de fitonematóides**. Lavras: UFLA, 2000. Cap. 4, p. 83-107. (Tese – Doutorado em Fitopatologia).

O efeito dos extratos de *Syzigium aromaticum* (cravo-da-índia), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Bixa orellana* (urucum), e do probiótico (Controlmix) foi avaliado na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 3 do feijoeiro, bem como de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro acrescido de mais um extrato da espécie *Melia azedarach* (Santa Bárbara), em casa-de-vegetação. Os extratos foram preparados pela infusão de órgãos vegetais em água. Plântulas de feijoeiro receberam 30 mL de extrato e 5400 ovos de *M. incognita* raça 3. Mudanças de café receberam 30 mL de extrato e 3000 ovos de *M. exigua* por planta. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado em 6 repetições. A avaliação foi realizada aos 35 e 100 dias após a inoculação do nematóide para o feijoeiro e cafeeiro, respectivamente. A população de *M. incognita* raça 3 em feijoeiro foi reduzida ( $P \leq 0,05$ ) com a aplicação de todos os extratos, comparada com a testemunha, sem resultar em aumento da massa seca e altura das plantas. A população de *M. exigua* no cafeeiro foi reduzida ( $P \leq 0,05$ ) com a aplicação de extratos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Bixa orellana* (urucum) e do probiótico (Controlmix) comparada com a testemunha, sem resultar em aumento da matéria seca e altura das plantas. Porém, os extratos do botão floral de *Syzigium aromaticum* (cravo-da-índia) e folhas de *Melia azedarach* (Santa Bárbara) aumentaram ( $P \leq 0,05$ ) a população de *M. exigua* em café. Maior eficácia na redução populacional desse nematóide e de *M. incognita* raça 3 ocorreu com o extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), dentre todos os extratos testados.

---

\* Comitê de orientação: Vicente Paulo Campos – UFLA (Orientador); Mário Lúcio V. Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## ABSTRACT

SALGADO, S. M. L. Natural extracts on pathogenicity and reproduction of coffee *Meloidogyne exigua* and *Meloidogyne incognita* race 3 of common bean. In: \_\_\_\_\_ **Produtos naturais para o controle de fitonematóides.** Lavras: UFLA, 2000. Cap. 4, p.83-107. (Tese de Doutorado em Fitopatologia).

The extract effects of *Syzigium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Bixa orellana* and Controlmix probiotic were evaluated on pathogenicity and reproduction of bean *Meloidogyne incognita* race 3, as well as on coffee *Meloidogyne exigua* in addition to the extract of *Melia azedarach*, in greenhouse. Extracts were prepared by water infusion. Each bean plant received 30 mL extract and 5400 *Meloidogyne incognita* race 3 eggs. Each coffee plant received 30 mL extract and 3000 *Meloidogyne exigua* eggs. The experiment was in randomized design with 6 replications. The evaluation was done at 35 and 100 days after nematode inoculation in bean and coffee, respectively. Bean *Meloidogyne incognita* race 3 population was reduced ( $P \leq 0,05$ ) by the extract application compared to control, without any increasing on dry matter and plant height. Coffee *Meloidogyne exigua* population was reduced ( $P \leq 0,05$ ) by the extract application of *Cinnamomum zeylanicum*, *Bixa orellana* and Controlmix probiotic compared to control, without any increase in dry matter and plant height. However, extract from *Syzigium aromaticum* flower and leaves of *Melia azedarach* increased ( $P \leq 0,05$ ) coffee *Meloidogyne exigua* population. Great reduction on *M. exigua* and *M. incognita* race 3 populations by the *Cinnamomum zeylanicum* extract, among all tested, indicated high level of nematode toxic substances in this plant tissues.

---

\* Guidance Committee: Vicente Paulo Campos – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio V. Resende – UFLA; Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO

*Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, tem sido importante patógeno para a cafeicultura brasileira. Nas produções iniciais, o efeito do parasitismo desse nematóide no cafeeiro arábico pode causar redução de 50 a 68,2% na produção (Arruda & Reis, 1962; Guerra Neto *et al.*, 1985). Além disso, *M. exigua* está bastante disseminado nos cafezais brasileiros (Campos *et al.*, 1985). Campos & Melles (1987) detectaram a presença de *M. exigua* em 31% das amostras oriundas de lavouras cafeeiras do Estado de Minas Gerais, mas, no entanto, esse fitonematóide tem se disseminado, como demonstrado pela presença em 45,4% das amostras de solo e raízes coletadas em diversos cafezais de Minas Gerais (Souza *et al.*, 1999). No Estado do Paraná, Portz *et al.* (2000) verificaram a presença de *M. exigua* em 26% das amostras, igualando-se à *M. incognita*. Além do parasitismo em cafeeiros, alta população de *M. exigua* tem sido encontrada em seringueira (Santos *et al.*, 1992).

*Meloidogyne incognita* é um importante patógeno de várias culturas de interesse econômico (Lordello, 1984). Em feijoeiro, *M. incognita* pode causar redução na produtividade (Vieira, 1983).

Nos últimos anos, a sociedade tem priorizado aspectos ambientais, direcionando muitas pesquisas para a descoberta de novas substâncias bioativas que possam ser empregadas no manejo integrado de pragas, com menor efeito negativo ao meio ambiente por serem produtos naturais (Castro, 1989). O conceito de produto natural é estendido a todos os compostos de origem biológica, que podem ser específicos de um único organismo, ou comum a um grupo deles. A utilização desses produtos pelo ser humano já era comum na Idade Média e ocorre até nos dias atuais, com direcionamento para diferentes fins (Mann, 1987).

Em alguns órgãos de plantas já têm sido encontradas evidências de substâncias tóxicas a nematóides (Costa *et al.*, 2000; Dias *et al.*, 2000; Abid *et al.*, 1997; Rao & Reddy, 1992; Scramin *et al.*, 1987; Sangwan *et al.*, 1985 e 1990; Sasanelli, 1992, Prot & Kornprobst, 1983), e algumas delas já foram purificadas e caracterizadas. Do *Tagetes* spp., identificou-se o composto nematicida  $\alpha$ -tertienyl, derivado do tienil, de *Helenium* spp., o benzofurano 2,3-dihidro-2-hidroxy-6-metilbenzofurano. Das raízes de *Asparagus officinalis*, identificou-se o ácido carboxílico asparagístico; de *Solanum tuberosum*, o alcalóide  $\alpha$ -chaconina; de *Lycopersicum esculentum*, a  $\alpha$ -tomatina; de *Daphne* spp., um diterpeno derivado do diacetato; de *Eragrostis* spp., o composto fenólico catecol, e de *Ambrosia* spp., um di-tioacetileno ainda não identificado (Gommers, 1981). De *Azadirachta indica* (nim), já isolaram diversas substâncias em mistura, como os triterpenóides azadirachtin, salanin e meliantol (Ahmed & Graince, 1986, citados por Ferraz & Valle, 1997). Além desses, compostos monoterpênicos, principalmente o eugenol de *Cymbopogon* spp. (Sangwan *et al.*, 1985) e *Eugenia caryophyllata* (Sangwan *et al.*, 1990) têm demonstrado ação tóxica a *Meloidogyne javanica*, *Anguina tritici*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Heterodera cajani* e *H. avenae*; e de *Ocimum basilicum* e *O. sanctum* a *Meloidogyne incognita* (Chatterjee *et al.*, 1982). Mais recentemente detectaram-se efeito nematicida do L-Dopa em *Mucuna aterrina* (Barcelos, 1997), além de prunetina e o aminoácido L-fenilalanina em *Mucuna cinerea* (Nascimento, 1999) e do isotiocianato de benzila em sementes de *Carica papaya* (Kermanshai *et al.*, 2001).

Entretanto, muitas plantas ainda não foram estudadas quanto à presença de substância tóxica a fitonematóides, principalmente aqueles que parasitam o feijoeiro e o cafeeiro. Dessa forma, objetivou-se neste trabalho estudar alguns extratos de plantas e o probiótico Controlmix no antagonismo a *Meloidogyne exigua* do cafeeiro e a *M. incognita* raça 3 em feijoeiro.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção de ovos de *Meloidogyne exigua* e *M. incognita*

Raízes de cafeeiros infestadas por *Meloidogyne exigua* e de tomateiros 'Santa Clara' infectadas por *M. incognita*, em plantas mantidas em casa-de-vegetação, foram, separadamente, colocadas em balde, lavadas e cortadas em pedaços de 0,5 cm de comprimento e extraídos ovos de *M. exigua* ou *M. incognita*, através da técnica proposta por Hussey & Barker (1973). A suspensão de ovos foi vertida em um conjunto de peneiras de 0,075 mm sobre 0,038 mm de abertura. O material retido na peneira de 0,038 mm foi transferido para um becker com auxílio de piseta com água, completando-se todo o processo em 2 minutos.

Para facilitar a visualização nos testes subseqüentes, as suspensões de ovos foram, separadamente, submetidas ao método de Flotação e Centrifugação de Jenkins (1964). A seguir, verteu-se o sobrenadante em peneira de 0,025 mm. Os ovos retidos nessa peneira foram coletados em água, e as suspensões foram quantificadas em microscópio de objetiva invertida.

### 2.2. Obtenção de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) e de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*)

Mudas de cafeeiro, *Coffea arabica* cv. Catuai, foram obtidas do viveiro comercial local, certificado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária. As mudas foram produzidas em mistura 5:2 de solo e esterco, suplementado com cloreto de potássio e superfosfato. As sementes foram tratadas com Mucerem, e aos 30 dias após o plantio, foi feita a cobertura com Plantacol. Quando as mudas atingiram o

estágio de “orelha de onça”, aproximadamente seis meses após o plantio, foram selecionadas as mais vigorosas e uniformes para utilização no experimento.

As plantas de feijoeiro cv. Jalo foram obtidas pela germinação das sementes em areia, por aproximadamente 10 dias. Após esse período, selecionaram-se as mudas mais vigorosas, que foram transplantadas para vasos de 3 litros contendo solo:areia, 2:1 mais 1% de NPK 4-14-8.

### **2.3. Preparo dos extratos, do probiótico e montagem do experimento**

Extratos do botão floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (cravo-da-índia), casca de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela), folhas frescas de *Bixa orellana* L. (urucum) e de *Melia azedarach* L. (Santa Bárbara) foram preparados pelo método de infusão (Teske & Trentini, 1997), através do qual, 30, 60 e 120 gramas dos materiais foram pesados e colocados separadamente em erlenmeyers. Em seguida, adicionaram-se 600 mL de água destilada fervente, onde os materiais permaneceram em infusão por 15 horas. Empregou-se também o probiótico (Controlmix), composto 100% natural, constituído por um pool de bactérias. O probiótico, na quantidade de 30, 60 e 120 g, foi colocado em erlenmeyers e adicionado de 600 mL de água destilada a temperatura ambiente, onde permaneceu por 15 horas. Após esse tempo, todos os materiais foram submetidos à filtração em papel Watmam nº1 em funil de Buchner. Dessa forma, obtiveram-se os materiais para teste nas dosagens 5, 10 e 20% (p/v).



#### 2.4. Efeito de extratos vegetais e do probiótico (Controlmix) na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro.

Em mudas de cafeeiros foram testados 5 extratos obtidos *Bixa orellana* (urucum), *Melia azedarach* (Santa Bárbara), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e o probiótico (Controlmix), nas três dosagens 5, 10 e 20%. Mudas inoculadas com *M. exigua*, sem aplicação de extratos, foram empregadas como testemunha 1, e aquelas sem aplicação de extratos e sem inoculação do nematóide, como testemunha 2.

Cada planta foi inoculada com 3000 ovos de *M. exigua* em 1,5 mL de água e 30 mL do material-teste, simultaneamente, em 4 orifícios equidistantes feitos no substrato, ao redor do colo da planta. Após a inoculação, os orifícios foram cobertos com o mesmo substrato para evitar ressecamento.

As mudas foram colocadas em casa-de-vegetação seguindo o delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema fatorial (5 extratos e 3 doses) com 6 repetições. Cada parcela experimental foi representada pela média de 3 plantas. O manejo das mudas de cafeeiro foi o mesmo recomendado para os viveiristas.

Cem dias após, mediu-se a altura das plantas e cortou-se a parte aérea ao nível do solo, a qual foi colocada em sacos de papel e submetida à secagem em estufa ventilada a 70°C por  $\pm 7$  dias, obtendo-se, a seguir, o peso da matéria seca da parte aérea. As raízes foram separadas do solo e lavadas em água dentro de balde e, a seguir, colocadas sobre papel-toalha para perda do excesso da água, e obtenção do peso da matéria fresca da raiz. Logo após, as raízes foram cortadas em pedaços de 0,5 cm e colocadas em liquidificador com hipoclorito de sódio a 0,5% e extraídos os ovos de acordo com a técnica de Hussey & Barker (1973). Em microscópio de objetiva invertida, foram quantificados os ovos e juvenis do

segundo estágio (J2) de *M. exigua* por grama de raiz e referidos como população de *M. exigua* por grama de raiz.

Os dados foram analisados pelo programa SAS. Aqueles referentes à população de *M. exigua* e ao peso da matéria fresca da raiz foram, previamente, transformados para  $\log(x + 1)$  e  $\log(x)$ , respectivamente.

## **2.5. Efeito de extratos vegetais e do probiótico (Controlmix) na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro.**

Plântulas de feijoeiro receberam extratos obtidos do botão floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (cravo-da-índia), casca de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela), folhas frescas de *Bixa orellana* L. (urucum) e o probiótico (Controlmix), em 2 dosagens (5 e 20%) e em 6 repetições. Empregaram-se plântulas inoculadas com *M. incognita* como testemunha 1, e plântulas sem aplicação de extratos e sem inoculação do nematóide como testemunha 2. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4 tipos de material em 2 dosagens e 6 repetições.

Cada plântula foi inoculada com 30 mL de extrato misturado com 5400 ovos de *M. incognita*, aplicados em sulcos feitos ao seu redor e mantidas em casa-de-vegetação.

Trinta e cinco dias após, os feijoeiros foram cortados ao nível do solo. A parte aérea foi colocada em sacos de papel e submetida à secagem em estufa ventilada a 70°C por  $\pm 7$  dias, obtendo-se, a seguir, o peso da matéria seca da parte aérea. As raízes foram separadas do solo e lavadas em água dentro de balde. Posteriormente, foram colocadas sobre papel-toalha para perda do excesso da água, e obtido o peso da matéria fresca da raiz. Logo após, as raízes foram cortadas em pedaços de 0,5 cm e colocadas em liquidificador com

hipoclorito de sódio a 0,5% e extraídos os ovos de acordo com a técnica de Hussey & Barker (1973). Em microscópio de objetiva invertida, foi quantificada a população de ovos e de J2 de *M. incognita* por sistema radicular. A população total foi obtida somando-se o número de ovos e J2.

Os dados foram analisados pelo programa Sisvar. Aqueles referentes à população de *M. incognita* nas raízes foram, previamente, transformados para  $\log(x)$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Efeito de extratos vegetais e probiótico na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro.

Menor população de *Meloidogyne exigua* ( $P \leq 0,05$ ) ocorreu com a aplicação dos extratos de *Bixa orellana* (urucum), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e do probiótico (Controlmix), comparados com a testemunha (Tabela 1), demonstrando que esses extratos possuem substâncias tóxicas a esse fitonematóide, e de grande eficiência, pois segundo Osman & Viglierghio (1988), a redução na população de um fitonematóide em aproximadamente 80% ou mais caracteriza tal extrato como eficiente no controle desse patógeno. Segundo Teske & Trentini (1997), a folha de *Bixa orellana* (urucum) possui vários compostos mono e sesquiterpenos. Acredita-se, portanto, que esses compostos possam causar toxicidade a *M. exigua*, como já demonstrado pelo sesquiterpeno  $\alpha$ -terthienil de *Tagetes* sp. a *Meloidogyne* sp (Gommers, 1981). Monoterpenóides têm sido tóxicos a vários nematóides (Babu & Sukul, 1990; Sangwan *et al.*, 1985). Entretanto, extrato de *Bixa orellana* não tem sido investigado quanto à utilização no controle de fitonematóides.

Vários compostos têm sido encontrados em *Cinnamomum zeylanicum* (canela), mas acredita-se que o efeito tóxico a *M. exigua* pode ter sido causado pelo aldeído cinâmico, seu principal componente (Bullerman *et al.*, 1977), já que Oka (2001) sugere que compostos aldeídos possuem alta atividade nematicida comparados com outros grupos químicos, como fenóis, alcoóis, entre outros.

TABELA 1 – População total de *Meloidogyne exigua*, altura, peso da matéria fresca das raízes (PMFR) e da matéria seca da parte aérea (PMSPA) de cafeeiros tratados com extratos vegetais ou probiótico e inoculados ou não com esse patógeno.

TRATAMENTOS	POPULAÇÃO			
	DE <i>M.exigua</i> POR GRAMA DE RAIZ	ALTURA (cm)	PMFR (g)	PMSPA (g)
Probiótico (Controlmix®)	75,36 a	19,29 b	4,02 a	1,71 a
<i>Bixa ollerana</i> (Urucum)	30,06 a	19,35 b	4,42 a	1,61 a
<i>Melia azedarach</i> (Santa Bárbara)	382,76 c	20,59 b	5,07a	1,63 a
<i>Syzigium aromaticum</i> (Cravo-da-índia)	517,345 c	19,21 b	3,09b	1,38 b
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Canela em casca)	47,151 a	18,0 b	4,01a	1,56 a
Testemunha 1	272,426 b	21,48 b	4,82 a	1,75 a
Testemunha 2	-----	22,68 a	3,80 a	1,80 a

Médias seguidas de mesma letra, em coluna, não diferem entre si pelo teste de contraste de médias de Scheffé a 5% de probabilidade. Testemunha 1 – inoculada com *M. exigua* e sem aplicação do extrato ou probiótico; Testemunha 2 – sem inoculação do nematóide e sem aplicação do extrato ou probiótico.

No probiótico (Controlmix), existem bactérias liofilizadas como parte da sua constituição. Portanto, a toxicidade a *M. exigua* pode ter sido causada por substâncias resultantes do metabolismo secundário dessas bactérias. De fato,

diversas bactérias têm demonstrado antagonismo a fitonematóides (Coimbra, 1998; Sharma & Gomes, 1999), incluindo as bactérias endofíticas (Naves, 2000).

Aumento na população de *Meloidogyne exigua* ocorreu com a aplicação dos extratos do botão floral de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e folhas de *Melia azedarach* (Santa Bárbara) (Tabela 1). A parte aérea das plantas pode produzir substâncias que estimulam a eclosão de nematóides (Shepherd & Clarke, 1971), provavelmente pela liberação de elementos minerais após a aplicação dos seus extratos ao solo (Khan, 1990). Além de favorecer a eclosão, maior atração de J2 e/ou maior formação de locais de penetração nas raízes pode ter ocorrido na presença dos elementos minerais liberados dos extratos. Osman & Vigliergio (1988) observaram aumento na população de *Meloidogyne javanica* em tomateiros com a imersão das raízes na solução de ácido tereftálico. O eugenol, constituinte principal do *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), (Bullerman *et al.*, 1977; Conner & Beuchat, 1984), pode ser transformado em ácidos orgânicos comuns por microrganismos do solo (Rabenhorst, 1996). Ruess *et al.* (1998) atribuíram ao aumento populacional de *Aphelenchoides* spp. à alta concentração de fenóis totais e carboidratos após a aplicação do extrato de *Betula pubescens* ao solo. O aumento populacional de *M. exigua* com a aplicação do extrato de *Melia azedarach* (Santa-Bárbara) pode ter sido conseqüência da decomposição dos compostos orgânicos presentes no extrato pela ação de bactérias nitrificadoras, as quais podem reduzir ou inibir o efeito nematicida de certos componentes do extrato (Ruess *et al.*, 1998). Como as mudas ficaram no solo por longo tempo (100 dias), provavelmente tenham propiciado o crescimento das bactérias no substrato, o que talvez não tenha ocorrido no ensaio com o feijoeiro que ficou no solo por apenas 35 dias.

A aplicação dos extratos e do probiótico não afetaram ( $P \leq 0,05$ ) o peso da matéria fresca das raízes e da matéria seca da parte aérea em relação à

testemunha, com exceção do extrato obtido do *Syzygium aromaticum* (Tabela 1). Rao *et al.* (1996), trabalhando com os metabólitos secundários, também não observaram efeito negativo desses compostos no crescimento dos tomateiros. A redução no peso da raiz e da parte aérea com a aplicação do extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) (Tabela 1) provavelmente tenha ocorrido por causa da alta população de *M. exigua* nas plantas tratadas com esse extrato. De fato, *M. exigua* provoca um efeito destrutivo no cafeeiro (Vito *et al.*, 2000) onde o limite de tolerância é muito baixo (Rodrigues & Crozzoli, 1995).

A altura das plantas foi reduzida ( $P \leq 0,05$ ) com a aplicação dos extratos e do probiótico, comparadas com a testemunha, na qual não ocorreu a inoculação do nematóide, testemunha 2 (Tabela 1), devido provavelmente ao somatório dos estresses resultantes da inoculação de nematóides e da aplicação dos extratos com substâncias supostamente de efeito alelopático. Redução de até 45% na altura das plantas foi observada por Costa *et al.* (2000) após a aplicação do extrato de *Chenopodium ambrosioides*.

As doses 5, 10 e 20% dos extratos e do probiótico não influenciaram ( $P \leq 0,05$ ) as variáveis analisadas, quais sejam, população de *Meloidogyne exigua*, altura de plantas, peso da matéria fresca da raiz e da matéria seca da parte aérea dos cafeeiros. Também não houve efeito dependente ( $P \leq 0,05$ ) entre o extrato e a dose (Anexo C), demonstrando que o extrato não foi influenciado pela dose utilizada. Khan (1990) verificou que diferentes dosagens de compostos vegetais aplicados na forma de extratos podem apresentar a mesma eficiência no controle de nematóides. Uma das vantagens de se obter eficiência na redução populacional de fitonematóides com aplicação do extrato em doses menores, como ocorreu neste ensaio, é evitar a ocorrência de efeito fitotóxico. De fato, Costa (2000) observou que as maiores dosagens dos extratos de *Brachiaria*

*decumbens*, *Coffea arabica* e *Leucaena leucocephala* causaram fitotoxicidez a tomateiros.

### **3.2. Efeito de extratos vegetais e do probiótico (Controlmix) na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro**

Todos os extratos e o probiótico reduziram ( $P \leq 0,05$ ) a população total de *M. incognita* raça 3, comparados com a testemunha inoculada somente com esse nematóide, (Figura 1). Entretanto, maior efeito tóxico ao nematóide foi observado com o extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), comparado com todos os demais tratamentos (Figura 1), devendo possuir substâncias tóxicas em maior quantidade do que qualquer outro extrato testado ou conter substância com maior capacidade nematicida tanto a *M. incognita* raça 3 como a *M. exigua* (Figura 1 e Tabela 1). Esse efeito pode ter sido causado pelo eugenol e aldeído cinâmico presentes no óleo de *C. zeylanicum* (Bullerman *et al.*, 1977), pois o eugenol tem demonstrado efeito nematicida (Chatterjee *et al.*, 1982), assim como o aldeído cinâmico (Oka, 2001). Entretanto, o efeito nematicida destas moléculas, encontrados em *C. zeylanicum*, tem sido demonstrado após o isolamento e identificação desses compostos; porém, não tem sido relatado o efeito nematicida a partir do extrato bruto obtido dessa planta na reprodução e patogenicidade de fitonematóides.

A toxicidez demonstrada pelo *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) sobre *M. incognita* (Figura 1) não ocorreu com *M. exigua* do cafeeiro, (Tabela 1), demonstrando que existe uma variação na eficácia dos extratos de acordo com a espécie do fitonematóide. Walker & Melin (1996) também observaram diferença no efeito nematicida de diferentes compostos derivados de óleo de *Mentha* sp (hortelã) sobre *M. arenaria* e *M. incognita*.



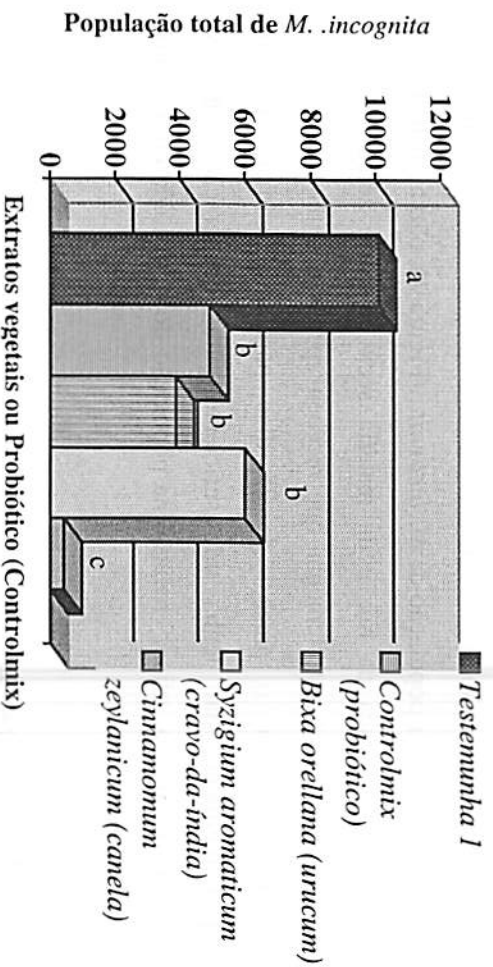


FIGURA 1 – População total de *Meloidogyne incognita* raça 3 nas raízes de feijoeiro após a aplicação do probiótico (Controlmix) e dos extratos de *Bixa orellana* (urucum), *Syzigium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Cinnamomum zeylanicum* (canela). Testemunha inoculada com esse patógeno e sem aplicação de extratos. Barras contendo mesma letra não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

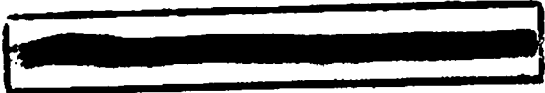
Embora *Bixa orellana* (urucum) não tenha sido ainda investigada quanto ao efeito tóxico a *M. incognita*, acredita-se que compostos terpenóides, mono e sesquiterpenos, presente nas folhas dessa planta (Teske & Trentini, 1997), sejam responsáveis pela redução na população desse nematóide. De fato, compostos terpenóides têm demonstrado efeito nematocida, conforme observado por Akhtar & Mahmood (1996), quando trabalharam com *Azadirachta indica*, óleos de *Ricinus communis* e *Brassica juncea*, para o controle de *M. incognita* em *Capsicum annuum*.

A aplicação dos diferentes materiais testados, apesar de reduzirem eficientemente a população de *M. incognita* (Figura 1), não aumentaram o peso da matéria fresca da raiz e da matéria seca da parte aérea ( $P \leq 0,05$ ) comparados com a testemunha que recebeu apenas o nematóide (Tabela 2). Acredita-se que o prazo de 35 dias para avaliação do experimento provavelmente não tenha sido suficiente para recuperação vegetativa do feijoeiro, após a eficaz redução na população do nematóide com a aplicação dos extratos.

TABELA 2. Peso da matéria fresca da raiz e seca da parte aérea de feijoeiro inoculado com *Meloidogyne incognita* raça 3 e submetido ao tratamento com probiótico (Controlmix) e extratos naturais.

Tratamento	Matéria fresca da raiz (g)	Matéria seca da parte aérea (g)
Probiótico (Controlmix)	36,73 a	28,59 a
<i>Bixa orellana</i> (Urucum)	32,82 a	29,68 a
<i>Syzygium aromaticum</i> (Cravo-da-índia)	34,11 a	27,41 a
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Canela)	39,54 a	34,74 a
Testemunha 1	26,51 a	24,57 a
Testemunha 2	57,50 b	45,92 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. Testemunha 1 – Planta inoculada com *M. incognita* e Testemunha 2 – planta não inoculada com nematóide ou extrato.



As doses dos extratos e do probiótico (5 e 20% ) não influenciaram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) a população total de *M. incognita* raça 3, peso da matéria fresca da raiz e da matéria seca da parte aérea dos feijoeiros. Também não houve efeito significativo da interação entre extratos e doses (Anexo C), demonstrando que o efeito do extrato foi independente da dose utilizada.

Esses resultados indicam a necessidade de maiores estudos desses extratos vegetais e suas plantas originárias, com ênfase no urucum (*Bixa orellana* L.) que, talvez não tenha sido avaliado para utilização no controle de nematóides por ser natural da América do Sul, especificamente da região amazônica. Deve-se também considerar como objetivo das pesquisas o modo de ação e estabilidade desses produtos naturais no solo, dentro de um contexto interdisciplinar.

#### 4 CONCLUSÕES

1. O probiótico (Controlmix) e os extratos de *Bixa orellana* (urucum), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) reduziram a população de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro e de *M. incognita* raça 3 em feijoeiro.
2. *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), aplicado na forma de extrato, apresentou toxicidade a *Meloidogyne incognita*.
3. O extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) apresentou alta toxicidade tanto a *Meloidogyne exigua* em cafeeiro como *M. incognita* em feijoeiro.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABID, M.; CHOUDHARY, M. I.; MAQBOOL, M. A.; RAHMAN, A. U. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.25, p.155-157. 1997.
- AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Effect of a plant based product 'nimin' and some plant oils on nematodes. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.24, p.3-5, 1996.
- ARRUDA, H. V.; REIS, A. J. Redução nas duas primeiras colheitas de café, devido ao parasitismo de nematóide. *O Biológico*, Campinas, v.28, n.12, p.349, 1962.
- BABU, S. P. S.; SUKUL, N. C. Essential oils as nematicidal principles. *Environment and Ecology*, Calcutta, v.8, n.4, p.1118-20, 1990.
- BARCELOS, F. F. Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna aterrina*., 1997. 93p. Dissertação ( Mestrado em Agroquímica ). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BULLERMAN, L. B.; LIEU, F. Y.; SEIER, S. A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*, Chicago, v.42, n.4, p.1107-1109, 1977.

- CAMPOS, V.P.; MELLES, C. C. A. Ocorrência e distribuição de espécies de *Meloidogyne* em cafezais dos campos das vertentes e do sul de Minas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.11, p.233-340, 1987.
- CAMPOS, V. P.; LIMA, R. D.; ALMEIDA, V. F. Nematóides parasitas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.26, p.50-58, 1985.
- CASTRO, A.G. **Defensivos agrícolas como um fator ecológico**. Jaguariúma: EMBRAPA – CNPDA, 1989. 20p. (EMBRAPA CNPDA -Documento, 6).
- CHATTERJEE, A.; SUKUL, N. C.; LASKAR, S.; GHOSHMAJUMDAR, S. Nematicidal principles from two species of lamiaceae. **Journal of Nematology**, Ames, v.14, n.1, p.118-120. 1982.
- COIMBRA, J. L. **Rizobactérias antagonistas a *Meloidogyne javanica*, isolamento e parasitismo de fungos de fêmeas de *Meloidogyne* sp.** 1998. 75p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CONNER, D. E.; BEUCHAT, L. R. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. **Journal of Food Science**, Chicago v.49, p.429-434. 1984.
- COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; PFENNING, L. H.; OLIVEIRA, D. F. **Patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) com aplicação de filtrados fúngicos ou extratos de plantas e de esterco animais.** **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.24, n.2, p.219-226. 2000.

COSTA, M. J. N. Filtrados de culturas fúngicas e extratos de plantas e de esterco animais, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 2000. 115p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DIAS, C. R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v.24, n.2, p.203-210, 2000.

FERRAZ, S.; VALLE, L. A. Controle de fitonematóides por plantas antagônicas. Viçosa-MG: UFV, 1997. 73p. (Cadernos didáticos).

GOMMERS, F. J. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthological Abstracts, Series B. Plant Nematology*, Wallingford, v.50, n.1, p.9-24, 1981.

GUERRA NETO, E. G.; D'ANTONIO, A. M.; FREIRE, A. C. F. Influência do *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, no desenvolvimento de lavoura de *Coffea arabica* L., variedade Mundo Novo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 12., 1985, Caxambu. Resumos... Caxambu, 1985. p.36-37.

HUSSEY, R. S.; BARKER, R. K. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, Washington, v.57, p.1025-1028. 1973.

- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.48, p.692, 1964.
- KHAN, F. A. Nematicidal potentials of some naturally-growing medicinal plants against *Pratylenchus zaeae*. **Revue Nématologie**. Auburn, v.13, n.4, p.463-465. 1990.
- KERMANSZAI, R.; McCARRY, B. E.; ROSENFELD, J.; SUMMERS, P.S.; WERETILNYK, E. A.; SORGER, G. J. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. **Phytochemistry**, Oxford, v.57, p.427-435, 2001.
- LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo: Nobel, 1984. 314p.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1987. 574p.
- NASCIMENTO, J.C. **Isolamento e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna cinerea* e quantificação de L-dopa em três espécies de mucuna**, 1999. 124p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- NAVES, R. L. **Bactérias endofíticas do sistema radicular: isolamento e potencial para o controle biológico de fitonematóides**. 2000. 113p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.



OKA, Y. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology*, Leiden, v.3, n.2, p.159-164. 2001.

OSMAN, A. A.; VIGLIERGHIO, D. R. Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. *Revue Nematologie*, Auburn, v.11, n.1, p.93-98, 1988.

PORTZ, R. L.; FURLANETTO, C.; STANGARLIN, J. R. Levantamento de espécies de nematóides do gênero *Meloidogyne* na cultura do café em municípios do oeste do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília v.25, p.339, ago.2000. (Suplemento)

PROT, J. C.; KORNPROBST, J. M. Effects of *Azadiracta indica*, *Hannoa undulata* and *Hannoa klaineana* seed extracts on the ability of *Meloidogyne javanica* juveniles to penetrate tomato roots. *Revue Nematology*, Auburn, v.6, n.2, p.330-332. 1983.

RAO, M.S.; REDDY, P. P. Studies on the comparative efficacy of certain plant leaves and carbofuran in the management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Current Nematology*, Allahabad, v. 3, n.1, p.5-6. 1992.

RABENHORST, J. Production of methoxyphenol-type natural aroma chemicals by biotransformation of eugenol with a new *Pseudomonas* sp. *Applied Microbiology Biotechnology*, Baltimore, v.46, p.470-474. 1996.

RODRIGUES, I. F. D.; CROZZOLI, R. Efectos del nematodo agallador *Meloidogyne exigua* sobre el crecimiento de plantas de café en vivero. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.23, p.325-328. 1995.

RUESS, L.; MICHELSEN, A.; SCHMIDT, I. K.; JONASSON, S.; DIGHTON, J. Soil nematode fauna of a subarctic heath: potential nematicidal action of plant leaf extracts. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v.7, p.111-124. 1998.

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

SANGWAN, N. K.; VERMA, B. S.; VERMA, K. K.; MALIK, M. S., DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of essential oils of *Cymbopogon* grasses. *Nematologica*, Leiden, v. 32, n.1, p.93-99, 1985.

SANTOS, J. M.; MATTOS, C.; BARRÉ, L.; FERRAZ, S. *Meloidogyne exigua*, sério patógeno da seringueira nas plantações Michelin, em Rondonópolis, MT. In: CONGRESSO BRASILEIROS DE NEMATOLOGIA, 16, 1992, Lavras. Resumos... Lavras: UFLA, 1992. p.75

SASANELLI, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematologia mediterranea*, Bari, v.20, n.1, p.53-55. 1992.

SCRAMIN, S.; SILVA, H. P.; FERNANDES, L. M. S.; YHAN, C. A. Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v.11, p.89-102. 1987.

SHARMA, R.D.; GOMES, A. C. Controle biológico de *Meloidogyne arenaria* com *Pasteuria penetrans*. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v.23, n.1, p.47-52. 1999.

SHEPHERD, A. M.; CLARKE, A. J. Molting and hatching stimuli. In.: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. (eds). **Plant parasitic nematodes. II. Cytogenetics, host parasite interactions and physiology**. New York: Academic Press, 1971. v. 2, p.267-287.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de Fitoterapia**. 3.ed.rev. Curitiba: Herbarium, 1997. 317p.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 1983. 231p.

VITO, M. D.; CROZZOLI, R.; VOVLAS, N. Pathogenicity of *Meloidogyne exigua* on coffee (*Coffea arabica* L) in pots. *Nematropica*, Florida, v.30, p.55-61. 2000.

WALKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. *Journal of Nematology*, Ames, v.28, n.4, p.629-635. 1996. (Suplement).

## ANEXOS

### ANEXO A

Tabelas	Página
1 A - Análise de estimação de proporções dos juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> immobilizados em diversos extratos vegetais, empregando-se o programa estatístico SISVAR, com intervalo de confiança de 95 % .....	109-110
2 A -Resumo da análise de deviance pelo programa estatístico Genmod – SAS da mortalidade (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> em especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e demais produtos naturais.....	111
3 A -Resumo da análise de variância dos valores da área abaixo da curva de progresso da eclosão (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> em especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e demais produtos naturais.....	112

TABELA 1 A - Análise de estimação de proporções dos juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* imobilizados em diversos extratos vegetais, empregando-se o programa estatístico SISVAR com intervalo de confiança de 95 % .

Extrato	Solvente	Intervalo de Confiança	Estimativa do Ponto
Fruto de <i>Solanum grandiflorum</i>	Água	0,104879; 0,245600	0,1667
	Metanol	0,094650; 0,287973	0,1765
Folha de <i>Baccharis trimera</i>	Água	0,086006; 0,341184	0,1905
	Metanol	0,000000; 0,112189	0,0000
Folha e fruto de <i>Piper hispidinervium</i>	Água	0,019109; 0,167268	0,0690
	Metanol	0,000000; 0,037697	0,0000
Folha de <i>Melia azedarach</i>	Água	0,000000; 0,072519	0,0000
	Metanol	0,082085; 0,232564	0,1458
Fruto de <i>Melia azedarach</i>	Água	0,363355; 0,636645	0,5000
	Metanol	0,019109; 0,167268	0,0690
Raiz de <i>Melia azedarach</i>	Água	0,000000; 0,066032	0,0000
	Metanol	0,000000; 0,123436	0,0000

“...continua...”

“TABELA 1 A, Cont.”

Flor e folha de <i>Momordica charantia</i>	Água	0,000000; 0,068482	0,0000
	Metanol	0,032583; 0,179721	0,0870
Folha e flor de <i>Arnica montana</i>	Água	0,082929; 0,285219	0,1667
	Metanol	0,000000; 0,032118	0,0000
Água destilada	-----	0,000000; 0,142474	0,0000
Tween 80	-----	0,000000; 0,077062	0,0000

TABELA 2 A -Resumo da análise de deviance da mortalidade (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* em especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e demais produtos naturais, empregando o programa estatístico Genmod – SAS UFLA, Lavras- MG. 2001.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Deviance
Tratamento	12	1508,4432 **
Erro	47	87,3094

Tratamento	Intervalo confiança	Estimativa do ponto	
Soro de Leite	0,862815; 1,000000	1,0000	a
<i>Cinnamomum zeylenicum</i> (Canela)	0,862815; 1,000000	1,0000	a
Fermento biológico	0,862815; 1,000000	1,0000	a
Cloreto de sódio	0,862815; 1,000000	1,0000	a
<i>Syzygium aromaticum</i> (Cravo-da-índia)	0,464999; 0,850505	0,6832	b
Controlmix	0,313057; 0,722032	0,5072	b
<i>Piper nigrum</i> (Pimenta-do-reino)	0,063569; 0,200236	0,1185	c
Sacarose	0,016432; 0,112835	0,0458	c d
<i>Petroselinum crispum</i> (Salsa)	0,006230; 0,085176	0,0313	c d
<i>Zingiber officinale</i> (Gengibre)	0,000253; 0,054459	0,0104	d
Solução nutritiva	0,000000; 0,137185	0,0000	d
<i>Bixa orellana</i> (Colorau)	0,000000; 0,137185	0,0000	d
Água	0,000000; 0,137185	0,0000	d

Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste Qui-Quadrado (Genmod-SAS) a 5% de probabilidade.

**TABELA 3 A -Resumo da análise de variância dos valores da área abaixo da curva de progresso da eclosão (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* em especiarias aromáticas, probiótico (Controlmix), solução hidropônica e demais produtos naturais.**

<b>Causa da Variação</b>	<b>G. L.</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>
Tratamentos	12	16,7042	1,2849 **
Resíduo	39	1,1994	0,0285
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>17,9037</b>	

**Média geral = 2,15; Coeficiente de variação = 7,84%**

**Dados transformados para log (x);**

**\* significativo a 1% de probabilidade**



## ANEXO B

### Tabelas

### Página

1 B - Resumo da análise de variância dos valores da área abaixo da curva de progresso da eclosão (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> em óleos essenciais.....	114
2 B - Resumo da análise de variância da mortalidade (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne exigua</i> em óleos essenciais...	114

**TABELA 1 B - Resumo da análise de variância dos valores da área abaixo da curva de progresso da eclosão (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* em óleos essenciais.**

<b>Causa da Variação</b>	<b>G. L.</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>
Tratamentos	10	119,1091	11,910
Resíduo	44	310,9747	7,067
<b>Total</b>	<b>54</b>	<b>430,0838</b>	

Média geral = 3,66; Coeficiente de variação = 72,57 %

Dados transformados para  $\sqrt{x + 1}$

**TABELA 2 B - Resumo da análise de variância da mortalidade (%) de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* em óleos essenciais.**

<b>Causa da Variação</b>	<b>G. L.</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>
Tratamentos	10	33446,372	3344,6372 *
Resíduo	33	3908,317	118,4338
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>37354,689</b>	

Média geral = 72,59; Coeficiente de variação = 14,99 %

\* significativo a 5% de probabilidade

## ANEXO C

Tabelas	Página
1 C - Resumo da análise de variância da população de <i>Meloidogyne exigua</i> por grama de raiz de cafeeiro tratados com diversos extratos vegetais.....	116
2 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico na altura de plantas de cafeeiro.....	116
3 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria fresca da raiz de cafeeiro.....	117
4 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria seca da parte aérea de cafeeiro.....	117
5 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico na população total de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 3 em feijoeiro. ....	118
6 C. Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria fresca da raiz de feijoeiro.....	118
7 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria seca da parte aérea de feijoeiro.....	119

**TABELA 1 C.** Resumo da análise de variância da população de *Meloidogyne exigua* por grama de raiz de cafeeiro tratados com diversos extratos vegetais.

Fonte de variação	G. L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc
Bloco	5	4,9138	0,9828	1,8700
Extratos	4	32,6854	8,1713	15,5408 *
Doses	2	0,2305	0,1153	0,2192
Extratos x Doses	8	6,7211	0,8401	1,5978
Adicional x Extratos	1	2,9412	2,9412	5,5937 *
Erro	81	42,0602	0,5258	
<b>Total</b>	<b>101</b>	<b>90,1218</b>		

Média geral = 1,64; Coeficiente de Variação (%) = 44,21;  
 Dados transformados para log (x)  
 • significativo a 5% de probabilidade.

•

**TABELA 2 C** - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico na altura de plantas de cafeeiro.

Fonte de variação	G. L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc
Bloco	5	387,18	77,43	12,95 *
Extratos	4	60,60	15,15	2,53 *
Doses	2	7,44	3,72	0,62
Extratos x Doses	8	35,42	4,43	0,74
Adicionais	1	4,32	4,32	0,436
Adicional x Extratos	1	64,77	64,77	6,53 *
Erro	80	479,5	5,98	
<b>Total</b>	<b>101</b>	<b>1039,23</b>		

Média geral = 19,68; Coeficiente de Variação (%) = 12,06;

\*significativo a 5% de probabilidade

**TABELA 3 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria fresca da raiz de cafeeiro.**

Fonte de variação	G. L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc
Bloco	5	0,1819	0,0364	1,72
Extratos	4	0,3067	0,0767	3,63 *
Doses	2	0,0226	0,0113	0,53
Extratos x Doses	8	0,3541	0,0443	2,09 *
Adicionais	1	0,0379	0,0189	0,89
Fatorial x Adic.	1	0,5921	0,5921	0,16
Erro	80	1,7961	0,0211	
<b>Total</b>	<b>101</b>	<b>2,7522</b>		

Média geral = 3,91; Coeficiente de Variação (%) = 24,62;

Dados transformados para log (x);

\*significativo a 5%de probabilidade

**TABELA 4 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria seca da parte aérea de cafeeiro.**

Fonte de variação	G. L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc
Bloco	5	2,2256	0,4451	5,70 *
Extratos	4	1,0629	0,2657	3,40 *
Doses	2	0,2588	0,1294	1,66
Extratos x Doses	8	0,8600	0,1075	1,38
Adicionais	1	0,0100	0,0100	0,13
Fatorial x Adic.	1	0,2667	0,2667	2,756 *
Erro	80	6,2693	0,078	
<b>Total</b>	<b>101</b>	<b>11,1760</b>		

Média geral = 1,61; Coeficiente de Variação (%) = 16,86

\* significativo a 5% de probabilidade

**TABELA 5 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico em diferentes doses na população total de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro.**

Fonte de variação	G.L.	SQ	QM	Fc
Tratamentos	(8)	15,5389	1,9423	3,87 *
Extratos	3	8,3308	2,7769	5,53 *
Doses	1	1,0531	1,0531	2,09
Extrato x Dose	3	1,1904	0,3968	0,79
adicional Nema x Extratos	1	4,9643	4,9643	9,89 *
Resíduo	45	22,5829	0,5018	
Total	53	38,1218		

Média geral = 3,107 Coeficiente de Variação= 22,80 %

Teste F : \* significativo a 5% ;

Dados transformados para log (x).

**TABELA 6 C. Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico em diferentes no peso da matéria fresca da raiz de feijoeiro.**

Fonte de variação	G.L.	SQ	QM	Fc
Tratamentos	(9)	4609,0877	512,1208	1,85
Extratos	3	319,5458	106,5152	0,38
Doses	1	200,0833	200,0833	0,72
Extrato x Dose	3	838,8973	279,6324	1,01
Absoluta x Extratos	1	2511,0275	2511,0275	9,08 *
Absoluta x Nematóide	1	2881,1403	2881,1403	10,41 *
Resíduo	50	13493,8511	276,5676	
Total	59	18102,9388		

Média geral = 37,04; Coeficiente de Variação= 44,35 %

Teste F : \* significativo a 5% de probabilidade.

**TABELA 7 C - Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e probiótico no peso da matéria seca da parte aérea de feijoeiro.**

<b>Fonte de variação</b>	<b>G.L.</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>
Tratamentos	(9)	2831,7774	314,6419	2,38 *
Extratos	3	374,6709	124,8903	0,94
Doses	1	0,0001	0,0001	0,00
Extrato x Dose	3	836,2447	278,7482	2,11
Adicional Absoluta x Extratos	1	1333,7668	1333,7668	10,09 *
Absoluta x Nematóide	1	1367,2540	1367,2540	10,34 *
<b>Resíduo</b>	<b>50</b>	<b>6608,8757</b>	<b>132,1775</b>	
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>9440,6531</b>		

Média geral = 31,13; Coeficiente de Variação= 36,92 %;

Teste F : \* significativo a 5% de probabilidade

**ANEXO D****TABELA 1 D - Composição química da solução nutritiva utilizada no cultivo hidropônico de alface. Fonte: Furlani, 1998.**

<b>Solução de micronutrientes</b>	
<b>Fontes</b>	<b>g/L Estoque</b>
Sulfato de manganês	30
Ácido bórico	30
Sulfato de zinco	10
Sulfato de cobre	3
Molibdato de sódio	3

<b>Solução básica</b>	
<b>Adubo</b>	<b>g/1000 L</b>
Nitrato de cálcio hydro especial	750
Nitrato de potássio	500
MAP - Purificado	150
Sulfato de magnésio	400
Solução de micronutrientes	50 mL
Ferilene ou Tenso - Fe	30