

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



JÚLIA OLIVEIRA BARREIRO DE JESUS

**EFEITO *IN VITRO* DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS NATIVAS DO
BIOMA CERRADO A *Meloidogyne incognita***

BRASÍLIA

2019

JÚLIA OLIVEIRA BARREIRO DE JESUS

**EFEITO *IN VITRO* DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS NATIVAS DO
BIOMA CERRADO A *Meloidogyne incognita***

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária da Universidade de Brasília
como parte das exigências do curso de Graduação em
Agronomia para a obtenção do título de Engenheira
Agrônoma.

Orientador: **Prof. Dr. Cleber Furlanetto**

Co-orientador: **Dr. Reinaldo Rodrigues Pimentel**

BRASÍLIA-DF

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

de Jesus, Júlia Oliveira Barreiro
EFEITO IN VITRO DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS NATIVAS
DO BIOMA CERRADO A MELOIDOGYNE INCOGNITA / Júlia Oliveira
Barreiro de Jesus; orientador Cleber Furlanetto; co
orientador Reinaldo Rodrigues Pimentel. -- Brasília, 2019.
29 p.

Monografia (Graduação - Agronomia) -- Universidade de
Brasília, 2019.

1. Nematoides de galha. 2. Bioma Cerrado. 3. Extratos
vegetais. I. Furlanetto, Cleber, orient. II. Rodrigues
Pimentel, Reinaldo, co-orient. III. Título.

JÚLIA OLIVEIRA BARREIRO DE JESUS

**EFEITO *IN VITRO* DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS NATIVAS DO
BIOMA CERRADO A *Meloidogyne incognita***

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária da Universidade de Brasília
como parte das exigências do curso de Graduação em
Agronomia para a obtenção do título de Engenheira
Agrônoma.

BANCA EXAMINADORA:

Cleber Furlanetto

Universidade de Brasília

Orientador / e-mail: cfurla@hotmail.com

Michelle Souza Vilela

Universidade de Brasília

Examinadora / e-mail: michellevilelaunb@gmail.com

Ramon Lira dos Anjos

Universidade de Brasília

Examinador / e-mail: ramon.unb@gmail.com

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a todos que me incentivaram durante o período da graduação, em especial meus pais e irmãos por me apoiarem em minhas decisões, amigos por permanecerem ao meu lado e à Universidade de Brasília, juntamente com os professores, por todos os ensinamentos durante esses anos.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. BIOMA CERRADO	13
2.2. NEMATOIDES	14
2.3. <i>MELOIDOGYNE INCOGNITA</i>	15
2.4. EXTRATOS VEGETAIS E SUA UTILIZAÇÃO NO CONTROLE DE NEMATOIDES...	15
2.5. PLANTAS NATIVAS DE CERRADO	16
3. OBJETIVO.....	17
3.1. OBJETIVO GERAL	17
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1. COLETA DE MATERIAL VEGETAL.....	18
4.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	18
4.3. EXTRAÇÃO DE OVOS E OBTENÇÃO DE FORMAS J2.....	19
4.4. TESTES <i>IN VITRO</i>	19
5. RESULTADOS	20
5.1. EFEITO EM J2	20
5.2. EFEITO EM OVOS	21
6. DISCUSSÃO	22
7. CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

LISTA DE ABREVIATURAS

p. – Página

v. – Volume

M. – *Meloidogyne*

MMA – Ministério do Meio Ambiente

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	PERCENTUAL NEMATICIDA DOS EXTRATOS20
GRÁFICO 2	PERCENTUAL DE ECLOSÃO EM 72 HORAS21

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	ESPÉCIES VEGETAIS UTILIZADAS NO CONTROLE DE OVOS E J2 DE <i>M. incognita</i>17
----------	--	---------

RESUMO

Meloidogyne incognita é espécie polífaga de grande importância econômica à agricultura mundial. O uso de nematicidas no controle desse nematoide é prática comum em áreas infestadas. A contaminação ambiental e alimentar causada pelo uso indiscriminado dessas moléculas químicas têm levado à prospecção de novas moléculas menos danosas ao meio ambiente. Com base no exposto, estudou-se o efeito *in vitro* de extratos aquosos de espécies arbóreas nativas do cerrado como *Machaerium opacum*, *Stryphnodendrom adstringens*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Xylopiya aromatica*, *Erythroxyllum suberosum* e *Sapindus saponaria* e da espécie ornamental *Schinus molle*, no controle de *M. incognita*. Folhas de cada espécie vegetal foram coletadas em Brasília, secas em estufa a 37°C/48 hs e trituradas. O triturado foi submetido a infusão em água destilada a 70°C até atingir 50°C e posteriormente liofilizado. Os extratos obtidos foram testados a 1.500 ppm de concentração em ensaios realizados em placa de Elisa com 10 repetições e 15 J2/repetição e 60 ovos/repetição. A avaliação ocorreu 24, 48 e 72 horas após a montagem do ensaio, tendo sido computados os nematoides vivos e mortos e percentual de eclosão. Os extratos de *Machaerium opacum*, *Erythroxyllum suberosum*, *Pouteria torta*, *Sapindus saponaria* e *Schinus molle* causaram mortalidade superior a 90% dos J2 e serão utilizados em futuros testes no controle de *M. incognita* em tomateiro cultivado em vaso.

Palavras-chave: nematoide de galha, extratos vegetais, ação nematicida.

ABSTRACT

Meloidogyne incognita is a species of great economic importance for world agriculture. The use of nematicides to control this nematode is common practice in infested areas. Environmental and food contamination caused by the indiscriminate use of these chemical molecules has led to the prospecting of new, less harmful molecules in the environment. Based on the above, the *in vitro* effect of aqueous extracts of Cerrado tree species such as *Machaerium opacum*, *Stryphnodendrom adstringens*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Xylopia aromatica*, *Erythroxylum suberosum* and *Sapindus saponaria* and ornamental *Schinus molle* was studied, on the control of *M. incognita*. Leaves of each plant species were collected in Brasília, oven dried at 37 ° C / 48 h and shredded. Was the crushed subjected to an infusion in distilled water at 70 ° C to 50°C and subsequently lyophilized. The extracts were tested at 1,500 ppm concentration in tests performed on the Elisa plate with 10 repetitions and 15 J2 /repetition and 60 eggs/repetition. An evaluation occurred 24, 48, and 72 hours after the trial was set up and was computed by living and dead nematodes and hatching percentage. The extracts of *Machaerium opacum*, *Erythroxylum suberosum*, *Pouteria torta*, *Sapindus saponaria* and *Schinus molle* caused a mortality higher than 90% of J2 and used in the new uncontrolled tests of *M. incognita* in potted tomato.

Keywords: root knot nematode, plant extracts, nematicidal action.

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul, estende-se por 11 estados mais o Distrito Federal, e partes dos Estados do Amapá, Roraima e Amazonas, totalizando uma área de 2.036.448 km², cerca de 22% do território nacional, maior parte ocupada por agricultura e uma menor parte com vegetação nativa (MMA).

O Cerrado ostenta cerca de 11.627 espécies de plantas vasculares (MENDONÇA *et al.* 2008). A maioria das espécies vegetais do cerrado crescem em solos pobres em nutrientes e ricos em alumínio, culminando com o desenvolvimento de árvores de porte baixo, raízes profundas, casca dos troncos e folhas mais grossas (TOLEDO *et al.*, 2009).

A biodiversidade vegetal no bioma Cerrado é representada por diferentes fitofisionomias como o cerrado *sensu stricto*, cerradão, campo limpo, campo sujo, matas, ciliares, matas de galeria e veredas (EITEN, 1993).

Nematoides fitoparasitas são comumente encontrados em solos cobertos com vegetação nativa de cerrado e em áreas ocupadas com agricultura. O nematoide das galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.) e suas mais de 100 espécies descritas em literatura causam perdas econômicas relevantes à agricultura mundial (PERRY *et al.*, 2009).

Algumas espécies são polífagas e de ocorrência mundial como *M. incognita* (KOFOID & WHITE, 1919). No Brasil, *M. incognita* é importante parasita do cafeeiro, algodoeiro, hortaliças, fruteiras, entre outras plantas cultivadas.

O controle de *M. incognita* em determinadas culturas é feito de forma isolada ou integrada com o uso de nematicidas. Os nematicidas apresentam em sua composição química moléculas de elevado risco à saúde humana e ao meio ambiente, e apresentam custo elevado (NICO *et al.* 2004). Devido a essa característica, a prospecção de novas moléculas químicas de ação mais específica e menos danosa ao meio ambiente vem ganhando força nas últimas décadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BIOMA CERRADO

“Bioma é definido como um conjunto de vida vegetal e animal, constituído pelo agrupamento de tipos de vegetação que são próximos e que podem ser identificados em nível regional, com condições de geologia e clima semelhantes e que, historicamente, sofreram os mesmos processos de formação da paisagem, resultando em uma diversidade de flora e fauna própria” (IBGE, 2019).

O cerrado é composto por diferentes tipos de vegetação que envolvem desde formações florestais a formações savânicas e campestres, além de subtipos que podem ser encontrados, totalizando 25 tipos de vegetação (RIBEIRO & WALTER, 2019).

O Cerrado é a mais diversificada savana tropical do mundo. Existe uma grande diversidade de habitats e alternância de espécies (KLINK & MACHADO, 2005), sendo plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós somando mais de 7.000 espécies (Mendonça *et al.*, 2008).

Árvores de porte mais alto (estrato arbóreo ou lenhoso) podem ser encontradas em fisionomias como Mata Ciliar, Mata de Galeria, Cerradão e Mata Seca. Vegetação savânica com predomínio de estrato herbáceo, é encontrada nas fisionomias como Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda, sendo as fisionomias campestres, com predomínio de vegetação rasteira, denominadas de Campo Limpo, Campo Sujo e Campo Rupestre (EITEN, 1990).

Apesar de ostentar 4% da biodiversidade do planeta, nas últimas três décadas mais da metade dos 2 milhões de km² do cerrado brasileiro foi substituída principalmente por pastagens e culturas anuais. O desmatamento de áreas de cerrado tem sido superior ao da floresta Amazônica, bem como o investimento destinado à sua conservação, sendo que apenas 2,2% da área do Cerrado se encontra legalmente protegida (KLINK & MACHADO, 2005).

2.2. NEMATOIDES

Os nematoides são animais adaptados a diferentes ambientes, podendo ser encontrados em água salgada, água doce, solo e como parasitas de insetos, de animais, do homem e de plantas (SHAH; MAHAMOOD, 2017). Os nematoides fitoparasitas se especializaram em nutrir de conteúdo principalmente das células da epiderme e parênquima, do córtex e do sistema vascular da raiz. (CARES & TENENTE, 2007).

Os nematoides parasitas de plantas apresentam diferentes tipos de relação com suas hospedeiras, sendo o endoparasitismo sedentário o mais especializado de todos. Como exemplo tem-se o nematoide das galhas radiculares, *Meloidogyne* spp., o qual desenvolve a maior parte do seu ciclo de vida no interior de tecidos radiculares, sendo o nematoide de maior importância econômica no mundo (PINHEIRO, 2019).

A fêmea adulta tem formato de pera e pescoço alongado, enquanto os machos são vermiformes. O estágio móvel infectante é o J2, o qual penetra nos tecidos da raiz, migra até o cilindro vascular e induz uma célula nutridora (célula gigante), tornando-se sedentário. Os demais estádios têm o formato de salsicha (J3-J4), sendo J4 o estágio pré-adulto que dará origem a fêmeas e machos (COYNE *et al.*, 2007).

As espécies de *Meloidogyne* (Göldi, 1887) mais danosas à agricultura apresentam reprodução partenogenética mitótica obrigatória, mas há espécies de reprodução partenogenética meiótica e também de reprodução anfimítica. As fêmeas maduras apresentam elevada fertilidade e depositam até 500 ovos em matriz gelatinosa (COYNE *et al.*, 2007).

Das mais de 100 espécies de *Meloidogyne* descritas em literatura, *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, e *M. hapla* representam até 95% desse grupo em solos cultivados (SHAH; MAHAMOOD, 2017).

Os danos que podem ser causados pelos nematoides são dependentes diretamente da densidade populacional do patógeno, ou indiretamente com a quantidade ou intensidade dos sintomas apresentados pelas plantas (ASMUS, 2001) e também pelas características do ambiente, como a área do cultivo e o clima do local. Os danos também são intensificados com o monocultivo, uso intenso do solo e com a utilização de variedades suscetíveis, juntamente com temperaturas elevadas e estresse hídrico, que potencializam ainda mais os prejuízos. (MACHADO, SILVA & FERRAZ, 2019).

Segundo a Sociedade Brasileira de Nematologia (SBN), o prejuízo anual causado por nematoides à agricultura brasileira chega a 35 bilhões de reais, e uma vez que os nematoides estejam presentes, o manejo deve ser feito de forma contínua, pois é praticamente impossível a total eliminação desses fitoparasitas. Com isso, os métodos que visam à redução da população são vantajosos para os produtores que encaram esse problema. (MACHADO, SILVA & FERRAZ, 2019).

2.3. MELOIDOGYNE INCOGNITA

LOPES & SANTOS, (1994) apud CARVALHO, (2017), menciona que o *Meloidogyne incognita* é uma espécie de grande impacto mundial devido as perdas econômicas geradas por ele em diversas culturas, sob diferentes condições climáticas. Segundo KARSSSEN & MOENS, (2006) apud CARVALHO (2017) *M. incognita* pode ser encontrado em todas as regiões tropicais, mas em regiões temperadas é restrito à casa de vegetação.

Essa espécie, assim como outras espécies de *Meloidogyne*, causam galhas nas raízes das plantas parasitadas, dificultando a absorção de água e nutrientes pelas raízes. As meloidoginoses são doenças de difícil manejo, especialmente em sistemas agroecológicos de produção, pelo fato de os nematoides serem veiculados pelo solo (MELO & SERRA, 2019).

O controle de meloidoginoses é difícil pois esses nematoides habitam o solo e sobrevivem protegidos em massas de ovos. Além disso, esses nematoides são disseminados a curtas distâncias no solo por percolação de água e a longas distâncias pelo transporte de solo ou de material contaminado (MELO & SERRA, 2019).

2.4. EXTRATOS VEGETAIS E SUA UTILIZAÇÃO NO CONTROLE DE NEMATOIDES

Extratos vegetais de plantas medicinais apresentam atividade biológica de compostos secundários que podem ser um potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas. (SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., *et al.*, 2000).

A prospecção por moléculas bioativas envolve a coleta de material vegetal e o preparo de extratos, os quais podem ser testados para diferentes fins incluindo o controle de nematoides fitoparasitas (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Extratos de plantas de diferentes famílias botânicas foram testados no controle de nematoides fitoparasitas. Como exemplo tem-se plantas das famílias Solanaceae (HASEEB & BUTOOL, 1996), Myrtaceae e Geraniaceae (ZOUHAR *et al.*, 2009), Liliaceae (GONG *et al.*, 2013), Aristolochiaceae, Burceraceae e Lauraceae (PARK *et al.*, 2005), Poaceae (BARBOSA *et al.*, 2010), Piperaceae (WIRATNO *et al.*, 2009), Meliaceae (MOOSAVI *et al.*, 2012), Caparaceae (CABONI *et al.*, 2012), Combretaceae (NGUYEN *et al.*, 2013), entre outras.

2.5. PLANTAS NATIVAS DE CERRADO

Espécies vegetais do gênero *Machaerium* (Pers.) são conhecidas como jacarandá, sendo um dos maiores gêneros arbóreos tropicais da subfamília Papilionoideae, com aproximadamente 130 táxons, os quais estão distribuídos por diferentes biomas brasileiros como Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal, Floresta Amazônica e Cerrado e de ocorrência também em países da América do Sul, México e África (BORTOLUZZI *et al.*, 2004). São utilizadas para diferentes fins como recomposição de áreas degradadas (LORENZI, 1998), atividade madeireira, lenha, medicinal, entre outros (BOTREL *et al.*, 2006). A casca do tronco de *M. hirtum* (Vell.) Stellfeld, por exemplo, é utilizada no tratamento de diarreia, tosse e câncer (TANGERINA, 2012) e verminoses (CORDEIRO & FÉLIX, 2014).

O gênero *Pouteria* (Aubl.) pertence à família Sapotaceae, com aproximadamente 200 espécies (MÔNICO & ARAÚJO, 2019). *Pouteria torta* (Mart.) Radlk, popularmente conhecida pelo nome Abiurana, faz parte dessa família, e é uma árvore perene encontrada no Cerrado brasileiro, mas também é encontrada na região Amazônica até o Estado da Bahia. Seus frutos são comestíveis e a casca da árvore é utilizada como remédio antidiarreico. (PERFEITO *et al.*, 2005). Já *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk, é uma árvore com cerca de 10 metros, de origem do Cerrado, bem distribuída pelas regiões Centro-Sul, até o Norte Amazonense, ocorrendo também na Bolívia e Paraguai. (PENNINGTON, 1990).

Já *Erythroxylum suberosum* (A. St.-Hilaire), da família Erythroxylaceae, conhecida como fruta-de-pomba-do-campo, é uma árvore encontrada no Cerrado *stricto sensu*, vereda, campo sujo e cerradão. Essa espécie foi observada como a mais abundante em muitos pontos do Cerrado. (PERES, 2011 apud PEREIRA *et al.*, 2014).

Sapindus saponaria é uma planta da família Sapindaceae (Juss.) que se encontra distribuída nas Américas Central e Sul até o Cerrado. No Brasil,

ocorre do Pará ao Rio Grande do Sul. Sua madeira é amplamente utilizada na indústria, na construção civil, no reflorestamento de áreas degradadas e na confecção de brinquedos e caixotaria. As sementes são usadas no artesanato. A casca, a raiz e o fruto são utilizados na medicina popular como calmante, adstringente, diurético, expectorante, tônico, depurativo do sangue e contra tosse. A árvore é bastante ornamental, principalmente por sua copa globosa, sendo amplamente empregada no paisagismo urbano. (LORENZI, 2004) apud BARRETO *et al.* (2006).

Machado *et al.* (2008) apud PIRES *et al.* (2015), diz que o gênero *Schinus L.* pertence à família Anacardiaceae e contém 37 espécies presentes, desde a América Central até a Argentina. E LORENZI (1992), também citado pelos mesmos autores, diz que a espécie *Schinus molle L.* é conhecida, popularmente, como aroeira salsa ou aroeirinha, apresentando hábito arbóreo com cerca de 8-20 metros com copa globosa, densa, perenifólia, com folhas compostas, pinatífidas. Possui crescimento relativamente rápido, em média 1 metro por ano, com tronco de 30-80 cm de diâmetro.

Stryphnodendron adstringens (MART.) Coville, pertence à família Fabaceae, é uma espécie nativa do bioma Cerrado, mais conhecida como Barbatimão, e tem ocorrência do Pará, passando pelo Planalto Central, Minas Gerais e São Paulo (Corrêa, 1984).

Xylopia aromática (Lam.) Mart., conhecida como pimenta de macaco, é uma árvore típica do Cerrado *stricto sensu* e também cerradão. Ocorre bastante em áreas perturbadas e é abundante em cerrado com alta luminosidade (Almeida *et al.* 1998).

3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GERAL

Testar o efeito *in vitro* de extratos de oito espécies botânicas sobre formas infectantes J2 e ovos do nematoide *M. incognita*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar o efeito *in vitro* dos extratos de *Machaerium opacum*, *Erythroxylum suberosum*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Sapindus saponaria*, *Schinus molle*, *Stryphnodendron adstringens* e *Xylopia aromática* sobre formas J2 de *M. incognita*.

- Testar o efeito *in vitro* dos extratos de *Machaerium opacum*, *Erythroxylum suberosum*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Sapindus saponaria*, *Schinus molle*, *Stryphnodendron adstringens* e *Xylopia aromática* sobre a eclosão de ovos de *M. incognita*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. COLETA DE MATERIAL VEGETAL

As espécies utilizadas nos ensaios *in vitro* foram *Machaerium opacum*, *Stryphnodendrom adstringens*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Xylopi aromática*, *Schinus molle*, *Erythroxyllum suberosum* e *Sapindus saponaria* (Quadro 1).

Destas, apenas *Stryphnodendron adstringens*, *Pouteria ramiflora* e *Sapindus saponaria* não tiveram material vegetal coletado (os extratos foram cedidos pelo departamento de Farmácia da UnB). Dos extratos obtidos, apenas o extrato de *S. molle* é de planta exótica ao cerrado, sendo as demais espécies nativas do bioma Cerrado.

Quadro 1: ESPÉCIES VEGETAIS UTILIZADAS NO CONTROLE DE OVOS E J2 DE *M. incognita*.

Nome Científico	Nome Comum	Parte Utilizada	Local da coleta
<i>Machaerium opacum</i>	Jacarandá-Paulista	Folha	Campus UnB
<i>Stryphnodendrom adstringens</i>	Barbatimão-verdadeiro	Casca	Campus UnB
<i>Pouteria torta</i>	Abiurana	Folha	Campus UnB
<i>Pouteria ramiflora</i>	Leiteiro-preto	Folha	Campus UnB
<i>Xylopi aromática</i>	Pimenta de Macaco	Folha	Campus UnB
<i>Schinus molle</i>	Aroeira-salso	Folha	Esplanada dos Ministérios
<i>Erythroxyllum suberosum</i>	Fruta-de-pomba-do-campo	Folha	Campus UnB
<i>Sapindus saponaria</i>	Ibaró	Semente	Campus UnB

4.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Controle e Qualidade de Medicamentos do Departamento de Farmácia da Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte.

Assim que foram feitas as coletas, o material vegetal das espécies foi mantido a 37°C/48 horas em estufa com circulação de ar. Após a secagem, o material foi triturado, pesado e armazenado em temperatura ambiente.

Foi utilizada a metodologia de Ferris & Zheng, com modificações, utilizando-se para a obtenção dos extratos: 100 gramas de material vegetal triturado para cada 500 ml de água

destilada (5:1), para as espécies *Machaerium opacum*, *Pouteria torta*, *Xylopia aromática*, *Schinus molle* e *Erythroxylum suberosum*. Os extratos das espécies *Stryphnodendrom adstringens*, *Pouteria ramiflora* e *Sapindus saponaria* foram doados pela Dra. Pérola Magalhães, coordenadora do Laboratório de Controle e Qualidade de Medicamentos, departamento de Farmácia, Universidade de Brasília.

O material foi imerso em água destilada aquecida a 70°C, mantido a temperatura ambiente com cobertura de filme plástico e, ao atingir 50°C, foi filtrado em papel filme comum e mantido por 24 horas a temperatura de -5°C com ausência de luz e por mais 24 horas a -80°C. Após, o extrato foi liofilizado para remoção de água e solventes do material congelado por sublimação, gerando o extrato seco. Em seguida, adicionou-se 1 ml de água destilada para cada 25 gramas do extrato para utilização nos testes *in vitro*.

4.3. EXTRAÇÃO DE OVOS E OBTENÇÃO DE FORMAS J2

Raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv. Santa Clara), com inóculo de *Meloidogyne incognita* foram arrancadas do solo dos vasos, lavadas com água corrente, cortadas em pedaços pequenos, trituradas em liquidificador por 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. O triturado foi passado em peneiras de 45, 150 e 500 mesh, sendo a peneira de 45 mesh utilizada para separação do material grosseiro (sujeira e restos vegetais), 150 mesh para separação de formas J2 e outras formas móveis de nematoides e peneira de 500 mesh para separação dos ovos. Os ovos separados na peneira de 500 mesh foram depositados em uma câmara de eclosão para obtenção de formas J2 ou quantificados em lâmina de contagem de Peters, de acordo com a metodologia de Hussey & Barker (1973) modificada por Boneti & Ferraz (1981).

4.4. TESTES *IN VITRO*

Os ensaios *in vitro* foram realizados no laboratório de Nematologia da Universidade de Brasília com 8 tratamentos e 10 repetições. Utilizou-se placas de Elisa com compartimentos de 300 µl de capacidade para a montagem de cada ensaio. Em cada compartimento adicionou-se 200 µl de extrato a 1.500 ppm de concentração e 15 formas J2 ou 60 ovos de *M. incognita*. Para o tratamento controle utilizou-se apenas água destilada. As avaliações foram realizadas de acordo com a porcentagem de eclosão dos ovos ou pela

imobilização dos J2, em microscópio de luz, a primeira feita após 48 horas de imersão nas soluções com extratos, e a segunda avaliação após 72 horas.

Após a primeira avaliação (48 horas), cada extrato foi diluído a 50% da concentração inicial pela retirada de 100 µl de extrato de cada compartimento e adição de 100 µl de água destilada. Após esse procedimento, aguardou-se 24 horas para a avaliação final. Os nematoides que permaneceram imóveis ou deformados foram considerados mortos e aqueles com mobilidade normal foram considerados vivos. No teste dos ovos, a porcentagem de eclosão continuou sendo avaliada.

5. RESULTADOS

5.1. EFEITO EM J2

O efeito nematostático foi de 100% para todos os tratamentos, tendo-se observado formas J2 sem qualquer movimentação após 48 horas da deposição do inóculo. Porém, houve variação entre os extratos com relação à ação nematicida (Figura 1). A porcentagem de nematoides mortos foi superior a 90% para os extratos de *Schinus molle* (99,3%), *M. opacum* (100%), *P. torta* (93,2%), *E. suberosum* (94,8%) e *Sapindus saponaria* (98,9%). Os demais extratos tiveram índice de mortalidade inferior a 90% e, portanto, foram descartados para futuros testes *in vivo*.

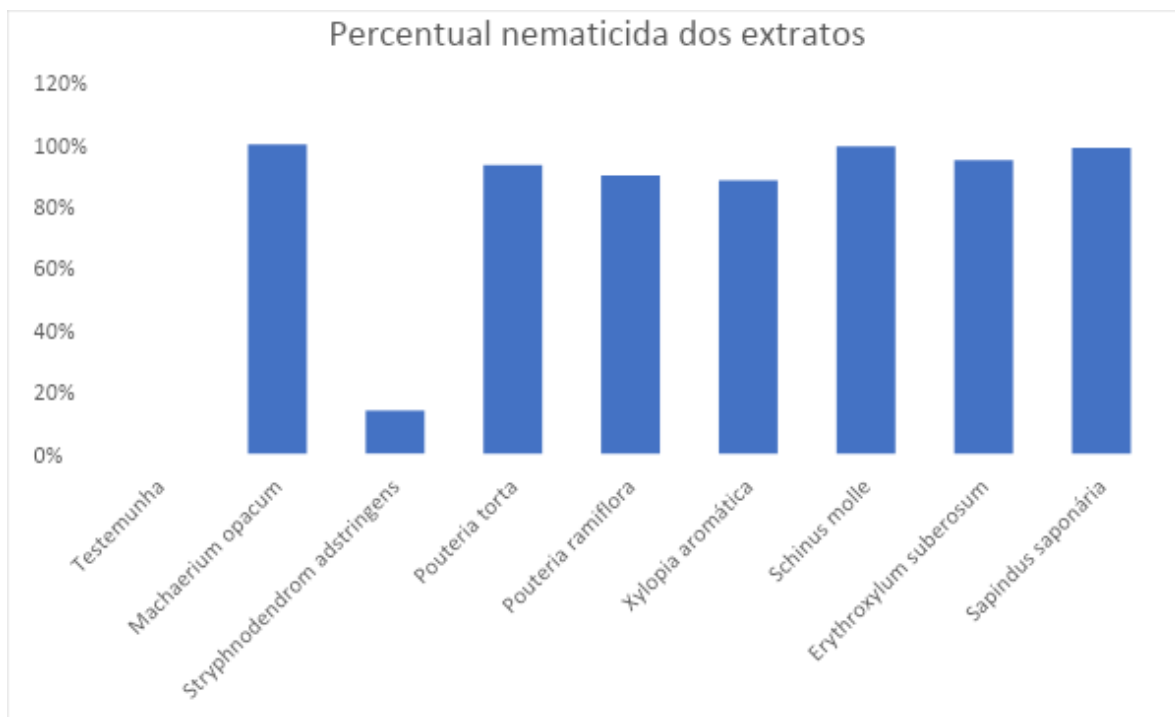


Figura 1. Efeito nematicida de extratos vegetais sobre formas J2 de *Meloidogyne incognita*.

5.2. EFEITO EM OVOS

Observou-se variação entre os tratamentos com relação ao efeito dos diferentes extratos sobre a eclosão de ovos de *M. incognita* (Figura 2). Até 72 horas após a exposição dos ovos no substrato a porcentagem de eclosão foi baixa, variando de 0 a 1,5%. Não foi observada eclosão de ovos nos extratos de *Schinus molle*, *M. opacum*, *P. torta*, *E. suberosum* e *Sapindus saponaria*. Observou-se baixa taxa de eclosão nos extratos de *X. aromatica* (0,62%), *S. adstringens* (1,5%) e *P. ramiflora* (0,41%). O tratamento controle foi o que apresentou a maior taxa de eclosão (7%) às 72 horas após a deposição.

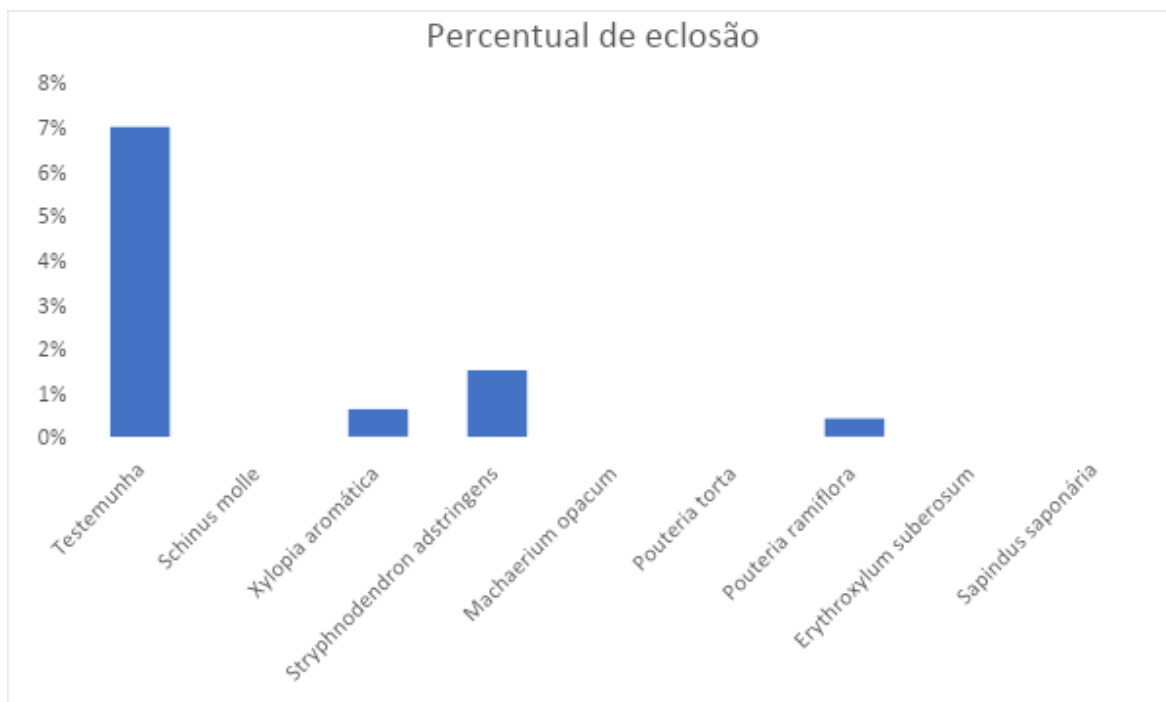


Figura 2. Eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita* após imersão de 72 horas em diferentes extratos vegetais.

6. DISCUSSÃO

Dos extratos vegetais selecionados para testes futuros, quatro foram obtidos de material vegetal de plantas nativas de cerrado como *M. opacum*, *P. torta*, *E. suberosum* e *S. saponaria*. Somente uma espécie é exótica para o cerrado, sendo muito utilizada no paisagismo urbano.

A ação nematicida do extrato aquoso de *M. opacum* sobre formas J2 de *M. incognita* pode estar relacionada à presença de flavonoides. Estudos realizados anteriormente indicam a presença desses compostos em dez espécies do gênero *Machaerium*, incluindo *M. opacum*. Como exemplo tem-se cinamilfenóis em *M. acutifolium* e isoflavanas em *M. opacum* (TANGERINA, 2012).

KUROSAWA *et al.* (1977) identificaram as substâncias mucronulatol e duartina em *M. opacum*, petrostireno em *M. acutifolium* e outros flavonoides em *M. hirtum* as quais são produzidas em resposta à invasão por diferentes organismos. O uso como anti-helmíntico de chá da casca de *M. hirtum* é um exemplo prático da presença de compostos de ação nematicida em espécies do gênero *Machaerium* e sua ação no controle de nematoides

parasitas do homem. No entanto, esse é o primeiro relato da ação nematicida de uma espécie de *Machaerium* a um nematoide fitoparasita.

De acordo com PIVA (2002) apud SANTOS *et al.* (2010), *S. molle* apresenta propriedade antiespasmódica, antirreumática, emenagoga, anti-inflamatória e cicatrizante.

Existem relatos sobre a atividade antifúngica (DIKSHIT *et al.*, 1986), antimicrobiana (GUNDIDZA, 1993), inseticida (CHANTRAINE *et al.*, 1998) e repelente (WIMALATNE *et al.*, 1996) de óleos essenciais de *S. molle*” (SANTOS *et al.*, 2010). HAYOUNI *et al.* (2008) diz que o óleo essencial de *S. molle* sugere atividade antimicrobiana e por isso podem ser utilizados em campos biotecnológicos como conservantes naturais na indústria alimentícia e farmacêutica.

O efeito nematicida sobre formas J2 de *M. incognita* é um indicativo de que o composto bioativo presente em *S. molle*, além da atividade antimicrobiana, pode também apresentar efeito sobre nematoides.

ALVES *et al.* (2000) apud PERFEITO *et al.* (2005), relatou que o extrato metanólico das folhas de *P. torta* apresentou atividade antifúngica e antimicrobiana contra *Cladosporium sphaerospermum*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente, sendo também recomendada no tratamento da diarreia.

No presente estudo o extrato aquoso de *P. torta* foi eficaz no combate ao estágio J2 de *M. incognita* sugerindo uma provável ação nematicida, sendo que ação anti-helmíntica já fora comprovada em *P. ramiflora* (CONDESSA, 2011).

O extrato aquoso de *S. saponaria* apresentou atividade nematicida sobre formas J2 de *M. incognita*. Testes com extrato aquoso dessa mesma planta sobre larvas de *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE), praga da couve e de outras culturas, causaram 100% de mortalidade e redução na emergência de adultos em 87,7% (BOIÇA *et al.*, 2005).

7. CONCLUSÕES

- Os extratos aquosos de *Schinus molle*, *M. opacum*, *P. torta*, *E. suberosum* e *Sapindus saponaria* apresentaram efeito nematostático e nematicida acima de 90% sobre formas J2 do nematoide *M. incognita*.

- Ovos mantidos nos extratos aquosos de *Schinus molle*, *M. opacum*, *P. torta*, *E. suberosum* e *Sapindus saponaria* não eclodiram após 72 horas da exposição aos extratos, retardando em 7% a taxa de eclosão em relação à testemunha.

- Os extratos de *X. aromatica*, *P. ramiflora* e *S. adstringens* apresentaram taxa de mortalidade de J2 inferior a 90%.

Portanto, o objetivo do trabalho foi alcançado, sendo possível aprofundar outros estudos para melhor utilização desse experimento em campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.P., PROENÇA, C.E., SANO, S.M. & RIBEIRO, J.F. 1998. Cerrado: espécies vegetais úteis. Embrapa, Planaltina.

ASMUS, Guilherme Lafourcade. Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne*. FERRAZ, LCCB; ASMUS, GL; CARNEIRO, RG; MAZZAFERA, P, p. 39-62, 2001.

Barreto, C.F., Cavasin, G.M., da Silva, H.H.G. e da Silva, I.G. - ESTUDO DAS ALTERAÇÕES MORFO-HISTOLÓGICAS EM LARVAS DE *Aedes aegypti* (DIPTERA, CULICIDAE) SUBMETIDAS AO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE *Sapindus saponaria* Lin (SAPINDACEAE), 2006.

Boiça Júnior, A.L., Medeiros, C.A.M., Torres, A.L., Chagas Filho, N.R. - EFEITO DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS NO DESENVOLVIMENTO DE *PLUTELLA XYLOSTELLA* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE 2005.

Bortoluzzi, R. L. C.; Carvalho-Okano, R, M.; Garcia, F. C. P. & Tozzi, A. M. G. A. 2004. Leguminosae, Papilionoideae no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. II: árvores e arbustos escandentes. *Acta Botanica Brasilica* 18(1): 49-71.

BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, n.3, p.553, 1981.

CABONI, P., SARAIS, G., AISSANI, N., TOCCO, G., SASANELLI, N., LIORI, B., CARTA, A., ANGIONI, A. Nematicidal activity of 2-thiophenecarbox-aldehyde and methylisothiocyanate from caper (*Capparis spinosa*) against *Meloidogyne incognita*. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 7345-7351.

CARES J. E. & TENENTE R. C. V. Taxonomia de nematoides de sementes, bulbos e caules – Parte I, 2007.

CARVALHO, P.H., CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DE *Meloidogyne incognita* E *M. javanica* EM TOMATEIRO, 2017.

COYNE, D.L., NICOL, J.M. e CLAUDIUS-COLE, B. Nematologia prática: Um guia de campo e de laboratório, reimpressão 2007.

CONDESSA, M.B. Avaliação da atividade antioxidante e alelopáticas de plantas medicinais. Faculdade de ciência e saúde. 2011. 101p. Dissertação.

CORDEIRO, J.M.P. & FÉLIX, L.P. - Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil – 2014

Mestrado em Ciências da Saúde. (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília.

CORRÊA, M.P. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. v. 1. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro.

Eiten, G. 1993. Vegetação do Cerrado. In: Novaes Pinto, M (org.). Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas. Brasília. Editora Universidade de Brasília. 17 ¾ 73.

Eiten, G. 1990. Vegetação do cerrado. Pp. 9-65. In: M.N. Pinto (org.). Cerrado - caracterização, ocupação e perspectivas. Brasília, Editora UnB.

Ferris, H.; Zheng, L. Plant sourcers of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, Marceline, v.31, p.241-263, 1999.

Gong B, Bloszies S, Li X, Wei M, Yang F, Qinghua S, Wang X (2013) Efficacy of garlic straw application against root-knot nematodes on tomato. *Scientia Horticulturae* 161:49-57.

Hayouni, E.A; Chraief, I.; Abedrabba, M.; Bouix, M.; Leveau, J-Y.; Mohammed, H.; Hamdi, M. – Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. 2008).

Haseeb, A. & Butool, F. (1996). Evaluation of Nematicidal Properties of Some Members of the Family Solanaceae. *Comunicação Científica*. Elsevier. 57:95-97.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2019). Disponível em:

<<https://cnae.ibge.gov.br/en/component/content/94-7a12/7a12-vamos-conhecer-o-brasil/nosso-territorio/1465-ecossistemas.html?Itemid=101#cerrado>> Acesso em: 05/12/2019.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro, v.1, n°1, p. 147-155, 2005.

KUROSAWA, K.; OLLIS, W. D.; REDMAN, B. T.; SUTHERLAND, I. O.; GOTTLIEB, O. R. Isoflavonoid constituents of *Dalbergia* and *Machaerium* species. Part 3. Vestitol and vesticarpan, isoflavonoids from *Machaerium vestitum*. *Phytochemistry*, v. 17, n. 8, p. 1405-1411, Oct. 1977.

Lorenzi, H. 1998. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Vol. 2. Plantarum, Nova Odessa, 352p.

MACHADO, A.C.Z, DA SILVA, S.A & FERRAZ, L.C.C.B. Métodos em Nematologia Agrícola, 2019.

MELO, T.A & SERRA, I.M.R.S. Materiais vegetais aplicados ao manejo agroecológico de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.1, p.97-103, 2019.

Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Junior MC, Rezende AV, Filgueiras TS, Nogueira PE, Fagg CW (2008) Flora Vascular do Bioma Cerrado: Checklist com 12.356 espécies. *Cerrado: ecologia e flora*. Brasília: Embrapa Cerrados 2:423-1279.

Ministério do Meio Ambiente (MMA) (2015) Cerrado Brasileiro tem 54,5% da vegetação preservada. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/meioambiente/2015/11/cerrado-brasileiro-tem-54-5-davegetacao-preservada>. Acessado dia 09/12/2019.

Ministério do Meio Ambiente (MMA) – O Bioma Cerrado. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>> Acesso em: 09/12/2019.

Mônico A. Z. & Araújo A. A. Pouteria (Sapotaceae) na Estação Biológica de Santa Lúcia, ES, Brasil. - Rio de Janeiro, 2019. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602019000100221>
Acesso em: 14/12/2019.

Moosavi, M.R. 2012. Efecto nematocida de algunos polvos herbales y sus extractos acuosos sobre *Meloidogyne javanica*. *Nematropica* 42:48-56.

Nguyen DMC, Seo DJ, Kim KY, Park RD, Kim DH, Han YS, Kim TH, Jung WJ (2013) Nematicidal activity of 3,4-dihydroxybenzoic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Meloidogyne incognita*. *Microbial Pathogenesis* 59(60):52-59.

NICO, A. I.; JIMÉNEZ-DIAZ, R. M.; CASTILLO, P. Control of root-knot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures. *Crop Protection*, Amsterdam, v. 23, n. 7, p. 581-587, 2004.

Oliveira VB, Zuchetto M, Oliveira CF, Paula CS, Duarte AFS, Miguel MD, Miguel OG. (2016) Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Rev. Bras. Pl. Med.* .18(1):230-239.

Park IK, Park JY, Kim KH, Choi KS, Choi IH, Kim CS, Shin SC (2005) Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Nematology* 7, 767–774.

PENNINGTON, T.D. 1990. *Flora Neotropica: Sapotaceae*. The New York Botanical Garden, New York.

Pereira, C.C.; Soares, F.F.S.; Fonseca, R.S.; Neto, S.D. - Frugivoria e dispersão por aves das sementes de *Erythroxylum suberosum* A.St.-Hil. (*Erythroxylaceae*) no Cerrado brasileiro – p. 18-20, 2014.

Perfeito, J.P., Santos, M.L., López, K.S.E., Paula, J.E., Silveira, D. - Characterization and biological properties of *Pouteria torta* extracts: a preliminary study, v. 15, n°3, 2005.

Perry, R.N.; Moens, M. & Starr, J.L. *Root-Knot Nematodes*. CABI, Wallingford, UK, 2009. 413p.

PINHEIRO, Jadir Borges. Nematóides – AGEITEC. Disponível em

<<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/pimenta/arvore/CONT000gn0k9bx902wx5ok0liq1mqut1365k.html>> . Acesso em: 20/09/2019.

Pires, M.F.; Pereira, M.P; Castro E.M; Barbosa, S., Pereira, F.J. -
MICROMORFOMETRIA FOLIAR DE *Schinus molle* L. (ANARCADIACEAE) EM
DIFERENTES ALTURAS NA COPA – 2015.

RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. – Fitofisionomias do Bioma Cerrado – capítulo III,
(1998) p. 89-166).

Ribeiro, J.F. & Walter, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do bioma cerrado. Pp. 89-166. In:
S.M. Sano & S.P. Almeida (eds.). Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, Embrapa-
CPAC. Mudar 2019 para 1998.

SANTOS, A.C.A; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A; BUENO, M; CRIPPA, L.B;
SARTORI, V.C; DELLACASSA, E. e MOYNA, P. - Efeito fungicida dos óleos essenciais
de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do
Sul, 2010).

SHAH, M.M; MAHAMOOD, M. Nematology - Concepts, Diagnosis and Control, 2017.

Tangerina M.M.P. - Extratos padronizados para o tratamento de doenças crônicas:
Machaerium hirtum (Vell.) Steffed Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Química, Araraquara, 2012, 83p.

Toledo LO, Anjos LHC, Couto WH, Correia JR, Pereira MG, Correia MEF (2009) Análise
multivariada de atributos pedológicos e fitossociológicos aplicada na caracterização de
ambientes de cerrado no norte de Minas Gerais. Revista *Árvore* 33: 957-968.

Zouhar M, Douda O, Lhotsky D, Pavela R (2009) Effect of plant essential oils on mortality
of the stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*). *Plant Protect. Sci.*, 45: 66-73.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLING, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de Extratos
Vegetais no Controle de Fungos Fitopatogênicos. 2000, p. 129-137.