

Avaliação de produtos medicinais à base de plantas anti-helmínticas no controle do nematoide das galhas

Ivan Kowaltschuk¹, Rosangela Dallemole-Giaretta¹, Cacilda Márcia Duarte Rios Faria¹, Wânia dos Santos Neves², Isabella Cristina Cavallin¹ e Carla Daiane Leite¹

Resumo – Dentre os nematoides fitoparasitas, o gênero *Meloidogyne* é um dos mais importantes, por causar perdas extremamente significativas em inúmeras espécies de importância agrícola. O objetivo do trabalho foi avaliar, *in vitro* e *in vivo*, o efeito dos produtos medicinais Verme-Flora e Vermi Plus sobre *Meloidogyne javanica*. No primeiro experimento, avaliou-se o efeito dos produtos, em concentrações de 50% ou 100%, sobre a eclosão de *M. javanica*. No segundo, foi avaliado o efeito da aplicação ao solo dos anti-helmínticos nas concentrações de 25% ou 50%, sobre a população de *M. javanica* em plantas de tomateiro, em casa de vegetação. Apenas o produto Verme-Flora teve efeito nematicida sobre o nematoide das galhas, em ambos os ensaios realizados. No teste *in vitro*, houve redução de 81,33% na eclosão dos juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, na concentração de 100% do produto. No ensaio em casa de vegetação, o produto Verme-Flora, reduziu a multiplicação do nematoide em 66% e 53%, nas concentrações de 50% e 25%, respectivamente. Diante desses resultados, conclui-se que o produto Verme-Flora apresenta potencial nematicida contra *M. javanica*.

Palavras-chave: *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*, controle alternativo, atividade nematicida.

Evaluation of medicinal products based on anti-helminthic plants on the control of root-knot nematode

Abstract – The root-knot nematode, genus *Meloidogyne*, is considered a very destructive phytoparasite for causing extremely significant losses in numerous species of agricultural importance. The objective of this study was to evaluate, *in vitro* and *in vivo*, the effect of medicinal products Verme-Flora and Vermi Plus on *M. javanica*. In the first experiment, it was evaluated the effect of the products, at rates of 50% and 100%, on the hatching of *M. javanica*. In the second experiment, it was evaluated the application into the soil of the products, at rates of 25% or 50%, on the population of *M. javanica* in tomato plants cultivated under greenhouse conditions. Only the product Verme-Flora controlled the root-knot nematode in both the experiments. The product reduced by 81.33% the hatching of juveniles of second stage at the rate of 100%. In the greenhouse experiment, in both concentrations, the product Verme-Flora reduced the multiplication of the nematode by 66% and 53%, at the rates of 50% and 25%, respectively. As a conclusion, the product Verme-Flora has nematicidal potential against *M. javanica*.

Keywords: *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*, alternative control, nematicidal activity.

INTRODUÇÃO

O gênero *Meloidogyne* Goeldi é considerado um dos fitonematoides mais importantes economicamente, por apresentar grande diversidade de hospedeiros e se encontrar amplamente disseminado nas mais variadas regiões do mundo (Moura, 1996).

Diversos métodos de manejo podem ser utilizados para o controle do nematoide das galhas. A utilização de extratos aquosos de diferentes espécies de plantas tem apresentado bons resultados para o controle de algumas espécies de fitonematoides (Gardiano et al., 2009), principalmente quando as plantas são conhecidas por sua atividade anti-helmíntica (Ferris & Zheng, 1999; Coimbra et al., 2006). Em trabalhos realizados por Neves et al. (2008) e Dallemole-Giaretta et al. (2009), extratos de sementes de mamão e de abóbora reduziram a eclosão de *M. javanica* e de *M. incognita* em mais de 80% em relação ao tratamento testemunha. Além disso, os extratos apresentaram eficiência na inativação e morte de juvenis de desses fitonematoides. Em outros trabalhos também tem sido demonstrado o efeito nematicida de extratos botânicos de hortelã, artemísia e alho (Dias et al., 2000; Costa et al., 2003; Neves et al. 2005).

Recebido em julho de 2010, aceito em abril de 2011

¹Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Campus CEDETEG, Guarapuava-PR, Brasil. E-mail: ivankowaltschuk@hotmail.com

²EPAMIG Unidade Regional Centro-Oeste, Prudente de Morais, MG, Brasil. E-mail: waniasantosneves@yahoo.com.br.

Tal fato ocorre, pois, várias espécies de plantas apresentam substâncias nematocidas, como alcalóides, ácidos graxos, isotiocianatos, glicosídeos cianogênicos, terpenoides, compostos fenólicos e outros (Chitwood, 2002).

Diante de tais informações, é possível que a utilização de aplicação ao solo de produtos medicinais comerciais à base de plantas anti-helmínticas também tenha efeito no controle de fitonematoides. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro* e *in vivo*, o efeito dos produtos medicinais Verme-Flora e Vermi Plus produzidos à base de sobre *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação do Departamento de Agronomia na Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Neste estudo, os produtos testados foram os anti-helmínticos Verme-Flora[®] e Vermi Pus[®], obtidos comercialmente em uma casa de produtos naturais. O produto Verme-Flora é à base de extratos de hortelã (*Mentha* sp.), laranja-amarga (*Citrus aurantium*), losna (*Artemisia absinthium*), jalapa (*Mirabilis jalapa*), anis (*Pimpinella anisum*) e abóbora Nante (*Curcubita* sp.). O produto Vermi Pus é composto por extratos de erva-de-Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*), hortelã (*Mentha* sp), sementes de abóbora (*Curcubita* sp.), artemísia (*Artemisia vulgaris*), casca de jatobá (*Hymenaea courbaril*), losna (*Artemisia absinthium*), camomila (*Matricaria recutita*) e genciana (*Gentiana lutea*).

O efeito dos produtos sobre a eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. javanica* foi avaliado *in vitro*. Para isto, foram depositados 40 µL de uma suspensão contendo 70 ovos de *M. javanica* em cavidades de placas de Elisa e 40 µL dos produtos Verme-Flora e Vermi Plus, em concentrações de 50% ou 100%. No tratamento testemunha utilizou-se apenas água. Posteriormente, as placas foram armazenadas em câmara de crescimento a 26 °C por 11 dias. Cada tratamento constou de cinco repetições, considerando-se cada cavidade da placa de Elisa uma repetição. Após este período, com o auxílio de microscópio estereoscópico binocular, contou-se o número de ovos e o número de juvenis eclodidos por cavidade. Posteriormente, calculou-se a porcentagem de eclosão de juvenis, conforme Dallemole-Giaretta et al. (2009).

O experimento *in vivo* foi realizado em casa de vegetação na área experimental do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com oito repetições por tratamento. Os tratamentos foram: tomate (testemunha sem nematoide); tomate + nematoide (testemunha); tomate + nematoide + Verme-Flora na concentração de 50%; tomate + nematoide + Verme-Flora na concentração de 25%; tomate + nematoide + Vermi Plus na concentração de 50%; e tomate + nematoide + Vermi Plus na concentração de 25%.

Para a montagem do ensaio, foram utilizados vasos de 500 g de capacidade, contendo uma mistura de solo e areia na proporção de 1:1 (v:v). Em cada vaso transplantou-se uma muda de tomate “Santa Clara” de aproximadamente 10 cm de altura. Um dia após o transplantio das mudas, o solo de cada vaso foi infestado com 4.000 ovos de *M. javanica*. Em seguida, adicionaram-se em cada vaso 10 mL dos respectivos produtos testados. No tratamento testemunha aplicou-se apenas água ao solo. Após cinco dias, aplicaram-se ao solo mais 7 mL em cada vaso, dos respectivos tratamentos.

Cinquenta dias após a montagem do experimento foram avaliados a altura, a biomassa da parte aérea fresca das plantas, bem como a biomassa das raízes frescas, o número de galhas e de ovos por sistema radicular dos tomateiros.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas ao tratamento controle pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento *in vitro*, o produto anti-helmíntico Vermi Plus não reduziu a eclosão dos J₂ de *M. javanica* em nenhuma das concentrações testadas, quando comparado ao tratamento testemunha (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito dos produtos medicinais Verme-Flora e Vermi Plus, à base de plantas anti-helmínticas sobre a eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	J ₂ eclodidos (%)
Testemunha (água)	58,66 ab
Vermi Plus 50%	72,51 a
Vermi Plus 100%	59,08 ab
Verme-Flora 50%	52,87 b
Verme-Flora 100%	10,95 c

Média de cinco repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan, a 5 % de significância.

Quanto ao produto anti-helmíntico Verme-Flora, a redução na eclosão dos J₂ de *M. javanica* foi observada apenas na dose de 100% do produto.

No experimento em casa de vegetação, nenhum dos produtos afetou significativamente a altura e a produção de biomassa de tomateiros, tampouco o número de galhas de *M. javanica* (Tabela 2), independentemente da concentração testada.

Quanto ao número de ovos, apenas o produto Verme-Flora reduziu a multiplicação do nematoide, em 66% e 53%, respectivamente, em ambas as concentrações testadas (Tabela 2).

Algumas espécies de plantas que compõem os produtos estudados, a exemplo da hortelã, losna, artemísia e semente de abóbora, já foram relatadas por outros autores como eficientes em controlar algumas espécies de nematoides (Dias et al., 2000, Oka et al., 2000; Dallemole Giaretta et al., 2009). Em algumas destas espécies de plantas, como por exemplo, em diferentes espécies de *Mentha* spp., o efeito nematicida é devido à presença dos compostos limonene, peperitone e menthol (Sangwan et al., 1990; Oka et al., 2000; Pandey et al., 2000). A semente de abóbora apresenta a cucurbitacina, um glicosídeo terpenóide, relatado como responsável em controlar o nematoide *M. incognita* (Chitwood, 2002). A ausência do efeito nematicida do produto Vermi Plus possivelmente seja devido à quantidade de substâncias nematicidas contidas neste produto ser inferior àquela necessária para controlar o nematoide das galhas (Tabelas 1 e 2).

Tabela 2. Efeito de produtos medicinais Verme-Flora e Vermi Plus, à base de plantas anti-helmínticas sobre *Meloidogyne javanica* e no desenvolvimento dos tomateiros, 50 dias após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Altura (cm)	Massa da parte aérea (g)	Massa de raiz (g)	Nº de galhas	Nº de ovos
Tomate (sem <i>M.j.</i>)	50,71 ^{ns}	20,36 ^{ns}	6,28 ^{ns}	-	-
Tomate (com <i>M.j.</i>)	44,31	18,68	5,96	332 ^{ns}	1556 a
Verme-Flora 50%	45,81	20,97	6,39	292	516 b
Verme-Flora 25%	46,56	18,56	5,98	296	795 b
Vermi Plus 50%	44,06	16,95	4,94	345	946 ab
Vermi Plus 25%	41,60	14,31	4,86	258	928 ab

Média de sete repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan, a 5 % de significância. ^{ns} Não significativo pelo teste F ($P < 0,05$) de significância.

Embora o produto anti-helmíntico Verme-Flora tenha afetado a eclosão de *M. javanica* no experimento realizado *in vitro*, esse produto não afetou a infectividade do nematoide nas raízes dos tomateiros permitindo a formação de galhas nas raízes das plantas. O uso desse produto foi eficiente em controlar apenas a multiplicação do nematoide, resultando em menor número de ovos por raiz. Um dos fatores que pode ter contribuído para que o produto Verme-Flora não fosse eficiente em reduzir o número de galhas nas raízes dos tomateiros é a metodologia utilizada para a aplicação do produto ao solo. Possivelmente, se o produto tivesse ficado em contato com ovos do nematoide por um período maior antes do transplântio das mudas de tomate, poderia ter ocorrido à redução da eclosão dos J₂ de *M. javanica* e, conseqüentemente, a redução do número de galhas do nematoide. Além disso, a quantidade do produto utilizada no teste *in vivo* pode ter sido baixa, resultando na aplicação de substâncias com potencial nematicida ao solo em níveis inferiores necessários para que afetasse a infectividade do nematoide (Lopes et al., 2005). Por outro lado, a aplicação de doses altas do produto pode ser inviável, mesmo quando aplicados em pequenas áreas, como canteiros de olerícolas, por exemplo (Lopes et al., 2008).

Novos estudos devem ser realizados em condições de campo para avaliar o potencial nematicida do produto anti-helmíntico Verme-Flora no controle do nematoide das galhas.

CONCLUSÕES

- 1) O produto Verme-Flora reduziu a eclosão de J₂ de *M. javanica* na concentração de 100% do produto;
- 2) O produto Verme-flora reduziu o número de ovos em raízes de tomateiros em 53% e 66% nas concentrações de 25 e 50%, respectivamente.

REFERÊNCIAS

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

- COIMBRA J.L.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M.S.; SOUSA, C.S.; RIBEIRO, F.L.B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1209-1211, 2006.
- COSTA, S.S. R.; SANTOS, M.S.N.; RYAN, M.F. Effect of *Artemisia vulgaris* Rhizome Extracts on Hatching, Mortality, and Plant Infectivity of *Meloidogyne megadora*. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 4, p. 437-442, 2003
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, G.L.; NEVES, S.V.; COUTINHO, M.M.; FERRAZ, N. Efeito de extrato aquoso de sementes de abóbora sobre a eclosão e inativação de juvenis de *Meloidogyne javanica* e de *M. incognita*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, 3-7, 2009.
- DIAS, C.R; SCHWAN, A.V.; EZEQUIEL, D.P.; SARMENTO, M.C.; FERRAZ, S. Efeito extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, p. 219-226, 2000.
- FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 241-263, 1999.
- GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X.; FREITAS, L. G. Avaliação de extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 551-556, 2009.
- LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; FERREIRA, P.A.; AMORA, D.X. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p. 67-74, 2005.
- LOPES, E.A.; FERRAZ S.; FREITAS L.G.; FERREIRA, P.A.. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). **Revista Trópica**, n.1, v. 2, p.17-21, 2008.
- MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 209-244, 1996.
- NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FABRY, C.F.S.; COUTINHO, M.M.; DHINGRA, O.D.; FERRAZ, S.; DEMUNER, J.A. Atividade de extratos de alho (*Allium sativum*), mostarda (*Brassica campestris*) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) sobre eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.29, p.273-278, 2005.
- NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A; COUTINHO, M. M.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S. Efeito, in vitro, do extrato de sementes de mamão sobre a eclosão e juvenis de *Meloidogyne* spp. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, V. 2, N. 3, p. 12, 2008.
- OKA, Y.; NACAR. S.; PUTIEVSKY. E.; RAVID. U.; YANIV, Z.; SPIEGEL, Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, vol. 90, No. 7, 710-715, 2000.
- PANDEY, R.; KALRA, A.; TANDON, S.; MEHROTRA, N. ; SINGH, H.N. ; KUMAR, S. Essential oils as potent sources of nematicidal compounds. **Journal of Phytopathology**, 148 (7/8): 501-502, 2000.
- SANGWAN, N. K.; VERMA, B. S.; VERMA, K. K.; DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of some essential plant oils. **Pesticide Science**, 28 (3): 331-335, 1990