

WÂNIA DOS SANTOS NEVES

**ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS DE PIMENTA
MALAGUETA, MOSTARDA E ALHO SOBRE *Meloidogyne javanica***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S237a
2003

Neves, Wânia dos Santos, 1973-

Atividade nematicida de extratos de pimenta malagueta,
mostarda e alho sobre *Meloidogyne javanica* / Wânia dos
Santos Neves. – Viçosa : UFV, 2003.
64p. : il.

Orientador: Leandro Grassi de Freitas
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa

1. Fitopatógenos - Controle. 2. Pimenta malagueta -
Extratos botânicos - Avaliação. 3. Mostarda - Extratos
botânicos - Avaliação. 4. Alho - Extratos botânicos -
Avaliação. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 632.3

CDD 20.ed. 632.3

WÂNIA DOS SANTOS NEVES

**ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS DE PIMENTA
MALAGUETA, MOSTARDA E ALHO SOBRE *Meloidogyne javanica***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2003.

Prof. Onkar D. Dhingra
(Conselheiro)

Prof. Silamar Ferraz
(Conselheiro)

Prof. Ricardo Henrique S. Santos

Profa. Rosângela D’Arc de L. Oliveira

Prof. Leandro Grassi de Freitas
(Orientador)

"É melhor tentar e falhar, que se preocupar e ver a vida passar. É melhor tentar ainda que em vão, que se sentar fazendo nada até o final... Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes, em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, do que em conformidade viver."

A Deus.

Ao meu filho Lucas.

A minha família e ao Jerry.

Aos meus amigos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa concedida durante o curso.

Ao professor Leandro Grassi de Freitas, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos e pela amizade.

Ao professor Onkar Dhingra, pela colaboração, críticas e sugestões.

Ao professor Silamar Ferraz pela colaboração, críticas, sugestões e pela amizade.

Ao professor Antônio Jacinto Demuner pela colaboração.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos transmitidos, em especial ao professor Robert Barreto pela paciência, amizade e carinho com a turma de mestrado 2001.

Aos amigos e colegas do laboratório de nematologia Cléia, Deisy, Delaine, Everaldo, Fábio, Letícia, Rosângela e Vinícius pelo convívio, pela amizade e pelas colaborações. E um agradecimento especial ao Marcelo e ao Paulo por toda ajuda que me deram sempre que precisei.

Aos funcionários das casas de vegetação pelos serviços prestados.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, em especial ao Délio por todas as informações e pela gentileza com que sempre me tratou.

Aos meus colegas da turma de mestrado 2001, em especial à Rosângela e ao Aderlan, pela amizade, apoio e pelos momentos de alegria vividos.

Ao meu filho, por aceitar todo o meu amor e todas as horas de seu crescimento que tive que estar ausente.

Aos meus pais Argemiro e Teresinha, pelo amor, carinho, apoio e compreensão.

Aos meus irmãos Wagner, Waner e Wanessa, pelo apoio e amizade.

Ao Jerry, por tudo.

As amigas Angelina, Cecília, Lilyan e Silvânia que mesmo longe permanecem presentes em minha vida me dando apoio e carinho sempre.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências Bibliográficas	4
 CAPÍTULO 1	 6
ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE PIMENTA MALAGUETA (<i>Capsicum frutescens</i>), MOSTARDA (<i>Brassica campestris</i>) e ALHO (<i>Allium sativum</i>) SOBRE O NEMATÓIDE DAS GALHAS, <i>Meloidogyne javanica</i> , em TOMATEIRO (<i>Lycopersicon esculentum</i> L)	6
Resumo	6
Abstract	8
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	14
Referências Bibliográficas	25
 CAPÍTULO 2	 28
ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE PIMENTA MALAGUETA (<i>Capsicum frutescens</i>), MOSTARDA (<i>Brassica campestris</i>) e ALHO (<i>Allium sativum</i>) SOBRE A ECLOSÃO DE JUVENIS DO NEMATÓIDE DAS GALHAS, <i>Meloidogyne javanica</i>	28

Resumo.....	28
Abstract	30
Introdução.....	31
Material e Métodos	32
Resultados e Discussão	35
Referências Bibliográficas	43
 CAPÍTULO 3	 45
ATIVIDADE NEMATOSTÁTICA OU NEMATICIDA DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE PIMENTA MALAGUETA (<i>Capsicum frutescens</i>), MOSTARDA (<i>Brassica campestris</i>) e ALHO (<i>Allium sativum</i>) SOBRE JUVENIS DO NEMATÓIDE DAS GALHAS, <i>Meloidogyne javanica</i>	45
Resumo.....	45
Abstract	47
Introdução.....	48
Material e Métodos	49
Resultados e Discussão	52
Referências Bibliográficas	61
 CONCLUSÕES GERAIS	 64

RESUMO

NEVES, Wânia dos Santos, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2003. **Atividade nematocida de extratos de pimenta malagueta, mostarda e alho sobre *Meloidogyne javanica***. Orientador: Leandro Grassi de Freitas. Conselheiros: Onkar D. Dhingra e Silamar Ferraz.

Métodos alternativos, como controle biológico, uso de plantas antagônicas e extratos de diferentes espécies e partes de plantas, têm sido estudados para o manejo de nematóides fitoparasitas. A pimenta malagueta contém capsaicina e capsainóides, responsáveis pelo seu ardor e por atuar como irritante do sistema nervoso de vários animais. A decomposição de brássicas, como a mostarda, libera compostos tóxicos com efeito nematocida. O alho possui compostos sulfurosos que podem atuar no controle de diversos patógenos. Este trabalho teve como objetivos: 1) avaliar atividade nematocida de extratos botânicos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), mostarda (*Brassica campestris*) e alho (*Allium sativum*) sobre o nematóide das galhas, *Meloidogyne javanica*, em tomateiro; 2) comparar o efeito dos extratos botânicos selecionados com um produto comercial (Champon®) e um produto contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, em diferentes concentrações, sobre *M. javanica* em tomateiro; 3) avaliar o efeito dos extratos botânicos e dos produtos contendo

capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato sobre a eclosão dos juvenis de *M. javanica*; 4) avaliar o efeito dos extratos botânicos e dos produtos contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato sobre a inativação dos juvenis de *M. javanica*. Foram produzidos extratos cetônicos de frutos de pimenta, bulbos de alho e parte aérea de plantas de mostarda e extrato clorofórmico de frutos de pimenta. Para isso cada parte da planta a ser utilizada foi moída e submetida à extração. Foi testado óleo comercial de mostarda juntamente com os demais extratos. O estudo sobre o efeito dos extratos de pimenta, mostarda e alho e de óleo de mostarda sobre *Meloidogyne javanica* foi realizado em casa de vegetação com a avaliação da redução do número de galhas e ovos em raízes de tomateiro e em testes para avaliação da inibição da eclosão e inativação de juvenis foram realizados em laboratório. Foi avaliado ainda o efeito dos extratos sobre o desenvolvimento das plantas infectadas pelo peso e altura das plantas em casa de vegetação. No primeiro experimento foi feita uma seleção dos extratos que, em alta concentração, apresentaram atividade nematicida sem causar fitotoxidez. Extratos clorofórmico e cetônico de pimenta e o óleo de mostarda foram os que apresentaram melhores resultados no experimento de seleção. Após a seleção dos extratos, foram comparadas diferentes concentrações do extrato emulsificado. Um produto comercial importado dos Estados Unidos (Champon®) e um produto, que encontra-se em fase experimental, contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato também foram avaliados em diferentes concentrações. O óleo de mostarda e os produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato inibiram significativamente a eclosão de juvenis de *M. javanica*. No experimento onde se avaliou a inativação de juvenis de *M. javanica*, os extratos de pimenta, mostarda e alho mostraram eficiência apenas em altas concentrações, mas o óleo de mostarda e os produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato mostraram-se eficientes em todas as concentrações testadas. Dos resultados obtidos, conclui-se que extratos botânicos e produtos à base de ingredientes naturais podem ser uma boa opção para o controle de *M. javanica*.

ABSTRACT

NEVES, Wânia dos Santos, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2003. **Nematicidal activity of botanical extracts from chili pepper, mustard and garlic on *Meloidogyne javanica*.** Advisor: Leandro Grassi de Freitas. Committee members: Onkar D. Dhingra and Silamar Ferraz.

Alternative methods, such as biological control, antagonistic plants and extracts from different plant parts and species have been studied for the management of nematodes. The red hot chili pepper fruit contains capsaicin and capsaenoids, responsible for its burning and for acting as an irritant to the nervous system of various animals. The decomposition of brassics, such as mustard, releases toxic compounds with nematicidal effects. Garlic presents sulfurous components which may control several plant pathogens. This work had the following objectives: 1) to evaluate the nematicidal activity of botanical extracts from chili pepper (*Capsicum frutescens*), mustard (*Brassica campestris*) and garlic (*Allium sativum*) on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in tomato; 2) to compare the most efficient botanical extract with a brand product and with a product in development, both containing capsaicin, capsaenoids and allyl isothiocyanate, testing in different concentrations, for the control of *M. javanica* in tomato; 3) to evaluate the effects of the extracts and of the products with capsaicin, capsaenoids and allyl isothiocyanate on the *M. javanica* egg hatching; 4) to evaluate the effects of the extracts and of the products with capsaicin, capsaenoids and allyl isothiocyanate on the inactivation of *M. javanica* second-stage juveniles.

Cetonic extracts were obtained from chili pepper fruits, from garlic bulbs and from leaves of mustard, and chloroformic extract from chili pepper fruits. Each plant part was ground before the extraction. Commercial mustard oil was tested along with the other extracts. The effects on the chili pepper, mustard and garlic extracts as well as the mustard oil on the control of *M. javanica* were evaluated in a bioassay in the greenhouse by measuring reductions of number of galls and eggs in tomato roots, and the tests on the egg hatching and juvenile inactivation were conducted in the laboratory. The effects of the extracts on plant development was studied measuring weight and size of the infected plants in the green house. In the first experiment extracts which controlled the nematode without being phytotoxic, even in a high concentration, were selected. The chloroformic and cetonic extracts of chili pepper and the mustard oil presented the best performance. After the selection, different concentration of the products in emulsion were tested in the control of the nematode. An commercial product imported from the USA (Champon®) and a product in development in the University of Viçosa, both containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate, were evaluated also, in different concentrations. The mustard oil and the products containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate inhibited significantly *M. javanica* egg hatching. Inactivation of juveniles occurred with chili, mustard and garlic extracts only at high concentration, but the mustard oil and the products with capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate were effective in all the tested concentrations. From the observed results it is possible to conclude that botanical extracts and products with natural ingredients may be a good option for the control of *M. javanica*.

INTRODUÇÃO GERAL

Nematóides parasitas de plantas causam perdas estimadas em 12% na produção agrícola, sendo que aproximadamente 9% ocorrem em países desenvolvidos e cerca de 15% em países em desenvolvimento, representando cerca de 100 bilhões de dólares de prejuízo anual, em todo o mundo (Sasser & Freckman, 1987). Tais perdas refletem em prejuízos para o produtor e em um conseqüente aumento de preço para o consumidor (Freitas et al., 2001).

Os nematóides do gênero *Meloidogyne*, também conhecidos como nematóides das galhas, são considerados os mais importantes do mundo (Sasser & Frekman, 1987). Estes nematóides são parasitas de mais de 2000 espécies de plantas e sua extensa gama de hospedeiros inclui plantas monocotiledoneas e dicotiledoneas, plantas herbáceas e lenhosas (Hussey, 1985). Estes nematóides causam grandes perdas em olerícolas, principalmente na cultura do tomate onde as perdas chegam a 18 milhões de toneladas por ano (Sasser, 1989).

Além de afetarem a quantidade, os fitonematóides, também reduzem a qualidade dos produtos (Sasser & Carter, 1982). Os sintomas mais característicos causados por nematóides do gênero *Meloidogyne* aparecem nas raízes e tubérculos, que quando infectados engrossam no ponto de penetração do juvenil originando as galhas típicas. A formação de células gigantes na região vascular da raiz causa uma redução na quantidade de água e de nutrientes disponíveis para

a planta (Zimmerman & McDonough, 1978), o que reflete em plantas com crescimento reduzido, diminuição na área foliar, deficiência mineral, murchamento mais acentuado durante o período mais quente do dia e baixa produtividade (Gonçalves et al., 1995).

O controle de nematóides é muito complexo. Primeiramente, medidas preventivas devem ser tomadas, evitando a introdução destes organismos em áreas onde ainda não estão presentes. Após serem introduzidos, outras medidas de controle devem ser adotadas para minimizar os prejuízos por eles causados. O controle por meio de resistência genética, embora desejável, é limitado pela escassez de cultivares resistentes e pela quebra de resistência em temperaturas de solo superiores à 28°C (Dropkin, 1969), o que pode acontecer freqüentemente em nosso tipo de clima. A rotação de cultura para o nematóides das galhas com outras olerícolas é praticamente impossível devido à ampla gama de hospedeiros que as principais espécies de *Meloidogyne* possuem. O controle químico propicia uma proteção temporária, após a qual a população pode atingir altos níveis dentro de pouco tempo. Além disso, a partir da década de 80, vários nematicidas foram retirados do mercado devido à persistência no solo, contaminação da água de lençóis freáticos e aos efeitos prejudiciais ao seres humanos e à fauna do planeta (Jatala, 1985).

Por estas razões, métodos alternativos de controle têm sido estudados para o manejo de nematóides fitoparasitas, como controle biológico, uso de plantas antagônicas e extratos de diferentes espécies e partes de plantas.

De acordo com Quarles (1992), extratos botânicos apresentam vantagens sobre pesticidas sintéticos, como: possibilidade de gerar novos compostos que os patógenos ainda não se tornaram capazes de inativar; serem menos concentrados e conseqüentemente menos tóxicos, serem biodegradados rapidamente, possuir um amplo modo de ação e serem derivados de recursos renováveis.

Vários pesquisadores têm descrito o efeito de extratos botânicos sobre os fitonematóides e algumas plantas têm apresentado um grande potencial como matéria prima para a produção de nematicidas naturais (Lewis & Papavizas, 1971; Mayton, et al., 1996; Lazzeri et al., 1993; Ferris & Zheng, 1999).

Diversos constituintes químicos com efeito nematicida já foram isolados de espécies vegetais, como é o caso de espécies de brássicas que produzem compostos sulfurosos, os glicosinolatos (Lewis & Papavizas, 1971), incluindo isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos, epinitrilas e glicose (Mayton et al., 1996). O alho possui compostos sulfurosos que podem atuar no controle de diversos patógenos. Gupta & Sharma (1991) e Nath et al. (1982) observaram que bulbos de alho apresentam constituintes tóxicos a nematóides. A pimenta malagueta contém capsaicina e capsainóides, responsáveis pelo seu ardor e por atuar como irritante do sistema nervoso de vários animais. Freitas et al. (2000) observaram grande redução no número de ovos e na formação de galhas de *Meloidogyne javanica* em tomateiro, com o uso de um produto a base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato. Júlio et al. (2001) realizaram um experimento “in vitro” onde extrato de pimenta apresentou maior efeito repelente aos juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, seguido de um produto comercial à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato e do extrato de alho.

Desta maneira, este trabalho teve como objetivos:

- 1) avaliar a atividade nematicida de extratos botânicos de frutos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), plantas de mostarda (*Brassica campestris*) e bulbos de alho (*Allium sativum*) sobre o nematóides das galhas, *Meloidogyne javanica*, em tomateiro
- 2) comparar o efeito dos extratos botânicos selecionados com o de um produto comercial (Champon®) e um produto contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, em diferentes concentrações, sobre *M. javanica* em tomateiro;
- 3) avaliar o efeito dos extratos botânicos e dos produtos contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato sobre a eclosão dos juvenis de *M. javanica*;
- 4) avaliar o efeito dos extratos botânicos e dos produtos contendo capsaicina e capsainóides e alil isotiocianato sobre a inativação dos juvenis de *M. javanica*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DROPKIN, V.H. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, v.59, p.1632-1639. 1969.
- FREITAS, L.G.; MARRA, B.M.; NEVES, W.S. & DIAS, C.R. Controle de *Meloidogyne javanica* com extratos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (suplemento), p.336. 2000.
- FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Cadernos didáticos Nº 58. Viçosa: Editora UFV. 84p. 2001.
- FERRIS, H. & ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.31, n.3, p.241-263. 1999.
- GONÇALVES, W.; MAZZAFERA P.; FERRAZ, L.C.C.B.; SILVAROLLA, M.B. & LIMA, M.M.A. Biochemical basis of coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita*. **Plantation Recherche Development**, v.2, p.54-60. 1995.
- GUPTA, R. & SHARMA, N.K. Nematicidal properties of garlic, *Allium sativum*. **Indian Journal of Nematology**, v.21, p.14-18. 1991.
- HUSSEY, R.S. Host-parasite relationship and associated physiological changes. In: J.N. SASSER & C. C. CARTER, eds. **An advanced treatise on Meloidogyne**. Vol. I: Biology and control. North Carolina State University Graphics. Raleigh, p.143-153. 1985.

- JATALA, P. Biological control of nematodes. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C., ed. **An advanced treatise on *Meloidogyne***, V.1. Biology and control. Raleigh: North Carolina State University Graphics, p.303-308. 1985.
- JÚLIO, V.A.; FREITAS, L.G.; NEVES, W.S. & DEMUNER, A.J. Efeito de extratos de plantas no movimento de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v.26 (suplemento), p.505. 2001.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. **Journal Agric. Food Chemical**, v.41, p.825-829. 1993.
- LEWIS, J. A. & PAPAVIDAS, G.C. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. **Phytopathology**, v.61, p.208-214. 1971.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. **Phytopathology**, v.86, p.267-271. 1996.
- NATH, A.; SHARMA, N.K.; BHARDMAJ, S. & THAPA, C.D. Nematicidal properties of garlic. **Nematologica**, v.28, p.253-255. 1982.
- QUARLES, W. Botanical pesticides from *Chenopodium*. **IPM Practitioner**, v.14, n.2, p.1-11. 1992.
- SASSER, J. N. **Plant parasitic nematodes**: The farmer's hidden enemy. Publication Department of Plant Pathology and the Consortium for International Crop Protection. 114p. 1989.
- SASSER, J.N. & CARTER, C.C. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp) affecting economic food crops in developing nations. In: **International Meloidogyne Project**, North Carolina, 24p. 1982.
- SASSER, J. N. & FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: J. A. VEECH & D. W. DICKSON, (Ed.) **Vistas on Nematology**. Maryland: Society of Nematologists, p. 7-14. 1987.
- ZIMMERMAN, M.H. & J. McDONOUGH. Dysfunction in the flow of food. In: Horsfall, J.G. & E. B. Cowling (eds.). **Plant Disease, An Advanced Treatise**. Vol. 3. How Plants Suffer from Disease. Academic Press, New York, p.117-140. 1978.

CAPÍTULO 1

ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE PIMENTA MALAGUETA (*Capsicum frutescens*), MOSTARDA (*Brassica campestris*) E ALHO (*Allium sativum*) SOBRE O NEMATÓIDE DAS GALHAS, *Meloidogyne javanica*, EM TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum* L)

RESUMO

O experimento teve como objetivo avaliar a atividade nematicida de extratos botânicos dos frutos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), plantas de mostarda (*Brassica campestris*), de bulbos de alho (*Allium sativum*) e óleo de mostarda sobre o nematóides das galhas, *Meloidogyne javanica*, em tomateiro em casa de vegetação e posteriormente comparar os extratos que apresentassem maior redução de número de galhas e de ovos com dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato. Uma mistura peneirada de solo e areia na proporção 1:1 (v:v) foi colocada em vasos de plástico e infestada com 4000 ovos de *M. javanica*. Quatro dias após 20 mL de cada extrato, na concentração de 1000 ppm, foram espalhados sobre o solo. Apenas água foi

derramada sobre o solo infestado no tratamento testemunha. Mudanças de tomate com 20 dias de idade foram transplantadas quatro dias após a colocação dos extratos ao solo. Após quarenta e cinco dias avaliou-se o número de ovos e o número de galhas do sistema radicular de cada planta. Os extratos clorofórmico e cetônico de pimenta malagueta e o óleo de mostarda apresentaram melhor controle do nematóide, diferindo estatisticamente da testemunha quanto ao número de galhas. Porém, somente o óleo de mostarda reduziu significativamente o número de ovos quando comparado com a testemunha. O extrato cetônico e clorofórmico de pimenta e o óleo de mostarda reduziram em 34,5%, 40,4% e 99,9% o número de galhas, respectivamente e o óleo de mostarda reduziu em 99,9% o número de ovos. No experimento seguinte foram avaliados o extrato clorofórmico de pimenta, o óleo de mostarda, o produto comercial Champon® e um produto em desenvolvimento na UFV, chamado DS, a base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato em diferentes concentrações. Os produtos Champon® e DS e o óleo de mostarda reduziram o número de ovos e galhas quando comparados a testemunha em todas as concentrações testadas. O extrato de pimenta apresentou o melhor resultado na concentração de 400 ppm, reduzindo o número de ovos e galhas em relação à testemunha, porém esse foi bem maior quando comparado com os demais produtos testados.

Palavras chave: controle, extratos botânicos, *M. javanica*, tomateiro.

ABSTRACT

The experiment had the objectives of evaluate the nematicidal activity of botanical extracts of chili pepper fruits (*Capsicum frutescens*), mustard (*Brassica campestris*) and garlig (*Allium sativum*) on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato plants in the greenhouse, and in a second step, to compare the best extracts for the reduction of the number of eggs and root galls with two products containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate. A sieved mixture of soil and sand 1:1 (v:v) was used to fill plastic pots and infested with 4000 eggs of *M. javanica*. After 4 days, 20 mL of one of the extracts, in the concentration of 1000ppm, were poured over the soil of each pot. Water was poured in the test treatment. Twenty day-old tomato seedlings were planted, one per pot, four days after the aplication of the extracts. Forty five days after planting, the number of galls and eggs per plant was evaluated. The chloroformic and cetonic extracts of chili pepper and the mustard oil presented the highest effect on the nematode population, differing from the control treatment in respect to the number of galls, but only the mustard oil differed from the control in the number of eggs per plant. The chloroformic and cetonic extracts of chili pepper and the mustard oil reduced in 34,5%, 40,4% and 99,9% the number of galls, respectively, and the mustard oil reduced the number of eggs in 99,9%. In the following experiment, the chloroformic extract of chili pepper, the mustard oil, a commercial product (Champon[®]) and a product in development at the UFV called DS, both containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate, were compared at different concentrations. The Champon[®], the DS and the mustard oil reduced the egg and gall numbers in comparison with the control treatment in all the tested concentrations. The pepper extract show the best result at 400 ppm, reducing the number of galls and eggs per root system in relation to the control treatment, however, these numbers were much higher than the observed in the Champon[®] and the DS treatments.

Keywords: control, botanical extracts, *M. javanica*, tomato.

INTRODUÇÃO

Os nematóides do gênero *Meloidogyne*, também conhecidos como nematóides das galhas, são considerados os mais importantes do mundo (Sasser & Frekman, 1987). Estes nematóides causam grandes perdas em olerícolas, principalmente na cultura do tomate, onde as perdas chegam a 18 milhões de toneladas de frutos por ano (Sasser, 1989).

O controle de nematóides é muito complexo. Primeiramente, medidas preventivas devem ser tomadas, evitando a introdução destes organismos em áreas onde ainda não estão presentes. Métodos alternativos de controle como o uso de extratos de diferentes espécies e partes de plantas têm sido estudados para o manejo de nematóides fitoparasitas. Vários pesquisadores têm descrito o efeito de extratos botânicos sobre os fitonematóides e algumas plantas têm apresentado um grande potencial como matéria prima para a produção de nematicidas naturais (Mani & Chitra, 1989; Goswami & Vijayalakshmi, 1981; Rao & Reddy, 1992; Hussaini et al., 1996; Ferris & Zheng, 1999). Espécies de brássicas produzem compostos sulfurosos com efeito nematicida, os glicosinolatos (Lewis & Papavizas, 1971), incluindo isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e epinitrilas (Mayton, et al., 1996). A presença de constituintes tóxicos a nematóides no alho foi observada por Nath et al. (1982) e Gupta & Sharma (1991). Freitas et al. (2000) observaram grande redução na redução de ovos e na formação de galhas de *Meloidogyne javanica* em tomateiro, com o uso de um produto à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato.

Este trabalho teve como objetivos:

- 1) Avaliar a atividade nematicida de extratos botânicos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), mostarda (*Brassica campestris*) e alho (*Allium sativum*) sobre o nematóides das galhas, *Meloidogyne javanica*, em tomateiro;
- 2) Comparar o efeito dos extratos botânicos selecionados com um produto comercial (Champon®) e um produto em desenvolvimento na UFV, chamado DS, contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, em diferentes concentrações, sobre *M. javanica* em tomateiro;

MATERIAL E MÉTODOS

Parte 1: Obtenção dos extratos

Extrato cetônico de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*): Um quilograma de frutos frescos de pimenta malagueta foi separado em sacos de papel contendo 50 gramas de pimenta cada um. Os sacos contendo a pimenta foram colocados em estufas de ar forçado, com temperatura ajustada em 50°C, até atingir peso constante. Os frutos foram então moídos em liquidificador e submetidos à extração com acetona em aparelho tipo Soxhlet por um período de aproximadamente 20 horas a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após este período o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O extrato concentrado obtido foi mantido sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato cetônico de mostarda (*Brassica campestris*): Plantas de mostarda (folhas, flores e sementes) frescas foram fragmentadas em pequenos pedaços e colocadas em local fechado com condições de temperatura controladas, ao abrigo de luz, onde permaneceram por aproximadamente 15 dias para a secagem do material vegetal. A extração foi feita através do uso do solvente acetona em aparelho tipo Soxhlet por um período de aproximadamente 20 horas, a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após este período o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O extrato concentrado obtido foi mantido sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato cetônico de alho (*Allium sativum*): Um quilograma de bulbos de alho, sem casca, foi triturado em liquidificador e colocado em 3 litros de acetona em um Erlenmeyer tampado, em repouso no escuro por aproximadamente 4 dias. Sulfato de magnésio foi adicionado na amostra antes de ser submetido à filtração em papel de filtro. A amostra foi levada para o condensador para a eliminação do solvente. O extrato concentrado de alho obtido foi armazenado em freezer até o momento do ensaio biológico.

Extrato clorofórmico de pimenta e óleo de mostarda: O extrato clorofórmico de pimenta foi submetido ao mesmo processo de extração do

extrato cetônico de pimenta e armazenado em local fresco ao abrigo de luz até o momento do ensaio biológico. O extrato comercial de mostarda (óleo de mostarda) é um produto importado que contém, de acordo com o fabricante, aproximadamente 95% de alil isotiocianato.

Parte 2: Observação da ocorrência de fitotoxidez em tomateiro com diferentes concentrações dos extratos

Foi realizado um teste preliminar com diferentes concentrações dos extratos para verificar qual a concentração máxima do extrato que a planta suporta, sem que ocorra fitotoxidez.

Os extratos foram aplicados nas concentrações de 250, 500, 750 e 1000 ppm por litro de solo. A emulsificação dos extratos foi feita com 1% de Tween 80 sob agitação pelo tempo de 2 minutos em agitador magnético. Foram usados vasos de plásticos de 1,5 litro de capacidade. Cada vaso recebeu uma mistura de solo e areia, previamente peneirada e tratada com brometo de metila, na proporção de 1:1 (v: v).

O teste preliminar, nas concentrações citadas anteriormente, foi feito aplicando-se à superfície do solo de cada vaso 20 mL dos extratos cetônicos de alho, mostarda e pimenta, extrato clorofórmico de pimenta e óleo de mostarda. Água foi usada como controle. De cada concentração foram feitas quatro repetições.

Após 4 dias da aplicação do extrato foi plantado uma muda de tomate Santa Cruz 'Kada' com 20 dias de idade. As plantas ficaram sob observação durante 15 dias.

Parte 3: Seleção dos extratos com efeito nematicida sobre *M. javanica*

Os efeitos dos extratos de pimenta, de mostarda e de alho sobre *Meloidogyne javanica* foram investigados em casa de vegetação quanto a redução de galhas e ovos em raízes de tomateiro. Foram usados vasos de plástico

de 1,5 litro de capacidade, nos quais foi colocada uma mistura peneirada de solo e areia, previamente tratados com brometo de metila, na proporção de 1:1 (v: v). O solo de cada vaso foi infestado com uma suspensão contendo 4000 ovos de *M. javanica*, vertida através de orifícios abertos no solo, usando-se pipeta semi-automática. Quatro dias após a infestação do solo, aplicou-se, na forma de rega, 20 mL dos extratos cetônicos de alho, mostarda e pimenta, extrato clorofórmico de pimenta e óleo de mostarda na concentração de 1000 ppm por litro de solo. Foi feito um controle com água+tween 80 a 1%, que foi utilizado para emulsificação dos extratos, e um controle apenas com água. Quatro dias após a aplicação dos extratos no solo, foi plantada uma muda de tomate suscetível ao nematóide (Santa Cruz 'Kada'), de 20 dias de idade, em cada vaso. As plantas foram cultivadas por um período de 45 dias, recebendo tratos culturais necessários. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação e irrigados sempre que necessário. Os ovos utilizados foram extraídos segundo o método Hussey e Barker, adaptado por Boneti & Ferraz (1981), obtidos a partir de raízes de tomateiro do grupo Santa Cruz, mantidos em casa de vegetação.

Após 45 dias do transplântio das mudas a parte aérea das plantas foi eliminada e as raízes coletadas para avaliação do número de galhas e do número de ovos. Para a contagem do número de galhas/sistema radicular, as raízes foram armazenadas em geladeira até o momento da avaliação. Para a retirada dos ovos do sistema radicular, as raízes de cada planta foram agitadas em hipoclorito na concentração de 0,5%, durante 3 minutos. A seguir, os ovos foram coletados em peneira de 0,025 mm de abertura (500 mesh) e enxaguados em água corrente até total retirada do NaOCl da suspensão de ovos e guardados em tubos plásticos armazenados na geladeira até o momento da avaliação. Os ovos foram contados com o auxílio de câmara de Peters e microscópio estereoscópio.

Foram feitas dez repetições de cada tratamento em delineamento inteiramente casualizado e os dados obtidos foram submetidos a análise estatística através do sistema SAEG (Euclides, 1983). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esse experimento foi repetido apenas com os tratamentos extrato clorofórmico de pimenta e óleo de mostarda, na concentração de 1000 ppm, para confirmar o resultado anterior, pois estes reduziram significativamente a população do nematóide. Foram usados os mesmos procedimentos descritos para a montagem e avaliação do experimento anterior.

Parte 4: Comparação de diferentes concentrações dos extratos com um produto comercial e outro em desenvolvimento, ambos contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato

O experimento foi realizado em casa de vegetação, onde foi comparado o efeito dos extratos de pimenta e de óleo de mostarda, com um produto comercial (Champon®) e com um produto em desenvolvimento na UFV, chamado DS, ambos contendo capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, em diferentes concentrações, sobre *M. javanica* em tomateiro.

Os extratos foram testados nas concentrações de 400, 200, 100 e 50 ppm por litro de solo, indicando, respectivamente, 40, 20, 10 e 5% da concentração previamente utilizada. Os produtos Champon® e DS também foram usados na concentrações de 40, 20, 10 e 5%.

O experimento foi conduzido como descrito anteriormente. Após 45 dias do transplântio das mudas foram avaliados, além do número de ovos e do número de galhas, também o peso e a altura das plantas. Foram feitas dez repetições de cada tratamento em delineamento inteiramente casualizado e os dados obtidos para altura e peso da parte aérea foram submetidos a análise estatística através do sistema SAEG (Euclides, 1983). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados relativos aos números de ovos e de galhas foram submetidos à análise estatística descritiva, já que os dados não seguiram a distribuição normal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste preliminar realizado, observou-se que a concentração de 1000 ppm de todos os extratos não resultou em fitotoxidez durante 15 dias em casa de vegetação.

Os resultados do experimento para seleção dos extratos, na concentração de 1000 ppm estão na Tabela 1. A análise dos resultados demonstra que não houve influência do Tween 80 a 1% sobre a população do nematóide. Observou-se a potencialidade de alguns extratos para o controle de *M. javanica*. O óleo de mostarda na concentração de 1000 ppm merece atenção especial, pois o valor máximo observado foi de 0,5 galhas de *M. javanica* e de 143,6 ovos nas raízes de tomateiro, o que significa uma redução de 99,9% no número de galhas e de 99,9% no número de ovos (Tabela 1).

Tabela 1: Efeito de diferentes extratos aplicados ao solo, na concentração de 1000 ppm, sobre o número de galhas e de ovos de *Meloidogyne javanica*, presentes no sistema radicular de tomateiro grupo Santa Cruz ‘Kada’

Tratamentos	<i>Meloidogyne javanica</i>	
	Galhas	Ovos
Testemunha (água)	425,9 ab	373.004,5 ab
Tween 80 a 1%	345,8 bc	492.360,5 a
Extrato Cetônico de Alho	306,4 bc	269.076,0 ab
Extrato Cetônico de Mostarda	512,4 a	377.373,0 ab
Óleo de Mostarda	0,5 d	143,6 c
Extrato Cetônico de Pimenta	279,0 c	232.134,0 ab
Extrato Clorofórmico de Pimenta	254,0 c	214.606,0 ab

Médias de dez repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 2: Efeito de diferentes extratos aplicados ao solo, na concentração de 1000 ppm, sobre o número de galhas e de ovos de *Meloidogyne javanica*, presentes no sistema radicular de tomateiro grupo Santa Cruz ‘Kada’ (reavaliação dos extratos que se mostraram eficientes)

Tratamentos	<i>Meloidogyne javanica</i>	
	Galhas	Ovos
Testemunha (água)	874,7 a	364.596,1 a
Óleo de Mostarda	0,8 c	431,3 c
Extrato Clorofórmico de Pimenta	378,8 b	100.279,9 b

Médias de dez repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

O extrato cetônico e o extrato clorofórmico de pimenta também apresentaram efeito sobre a população do nematóide reduzindo o número de galhas em relação à testemunha, porém, a redução não foi tão expressiva quanto à apresentada pelo o óleo de mostarda. A redução do número de ovos e de galhas, respectivamente, com o extrato clorofórmico de pimenta foi de 40,2% e 42,5% e com o extrato cetônico de pimenta foi de 34,5% e 37,8%, porém, não houve diferença significativa entre o número de ovos desses tratamentos e da testemunha (Tabela 1).

O extrato cetônico de alho não promoveu redução na população do nematóide nesse experimento. Tarjan (1990) também relatou que extratos de alho e cebola não demonstraram eficiência no controle de *M. incognita*. Resultados contraditórios foram obtidos por Sukul et al. (1974), que observaram que extrato de alho promoveu uma considerável redução do número de galhas em plantas inoculadas com *M. incognita*, porém, a aplicação do extrato ao solo causou certa fitotoxidez. A aplicação de extratos obtidos das folhas de *Allium sativum* e *A. cepa*, em pré-plantio, causou a redução do número de galhas em raízes de tomateiro (Mateeva et al., 2000). Parada & Guzmán (1997) também relataram o

efeito do extrato de alho na redução do índice de galhas e de ovos produzidos por *M. incognita* em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*).

O extrato cetônico de mostarda possibilitou reprodução do nematóide equivalente à testemunha (Tabela 1). Esse resultado difere dos resultados encontrados por Lewis & Papavizas (1971) que relatam o controle de patógenos de plantas por espécies de brássicas, atribuído à produção de compostos sulfurosos, os glicosinolatos. Potter et al. (1998) observaram que tecidos foliares de *Brassica* spp. causaram a morte de até 95,2% de *Pratylenchus neglectus* enquanto que tecidos radiculares resultaram em até 48,3% de mortalidade do nematóide. Papavizas (1967 e 1968) observou uma considerável redução de *Aphanomyces euteicles*, causador da podridão de raiz em ervilha, quando foram incorporados ao solo em casa de vegetação folhas e talos de crucíferas, tais como, repolho, mostarda, couve e nabo.

A ineficiência dos extratos de alho e mostarda aqui demonstrada pode ser atribuída à ausência ou à baixa concentração dos compostos com atividade nematicida, como os compostos sulfurosos, isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e epinitrilas. Os métodos de extração usados podem ter feito com que tais compostos não tenham sido retirados dos vegetais na quantidade adequada para atuar sobre os nematóides. Foi observado por Scramin et al. (1987) que a atividade nematicida de algumas espécies depende do solvente utilizado na extração dos seus produtos e da parte da planta utilizada. Mayton et al. (1996) observaram que o composto alil isotiocianato não foi detectado em macerados de tecidos foliares de *Brassica campestris* enquanto que em outras espécies e partes de brássicas o composto estava presente. Nidiry et al. (1994) demonstraram a diferença da atividade nematicida entre extratos metanólicos de sementes de cebola obtidos a quente e a frio, onde a taxa de mortalidade de juvenis de *M. incognita in vitro* foi de 100% e 12%, respectivamente. Os autores sugerem que a retirada do princípio ativo é mais eficiente no método de extração a quente.

O óleo de mostarda reduziu drasticamente o número de ovos e de galhas em todas as concentrações (Figuras 1 e 2). Na concentração de 5% o número de

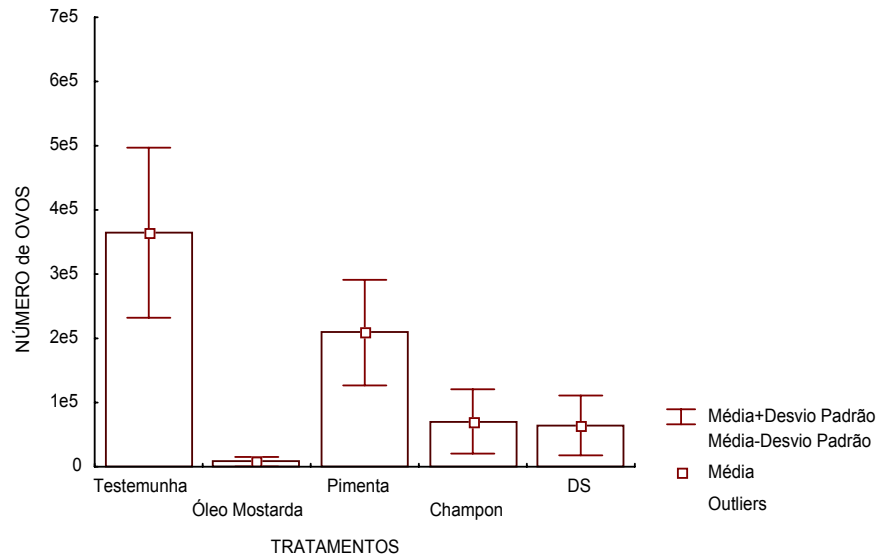


Figura 1: Número de ovos de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 50 ppm e dos produtos na concentração de 5%.

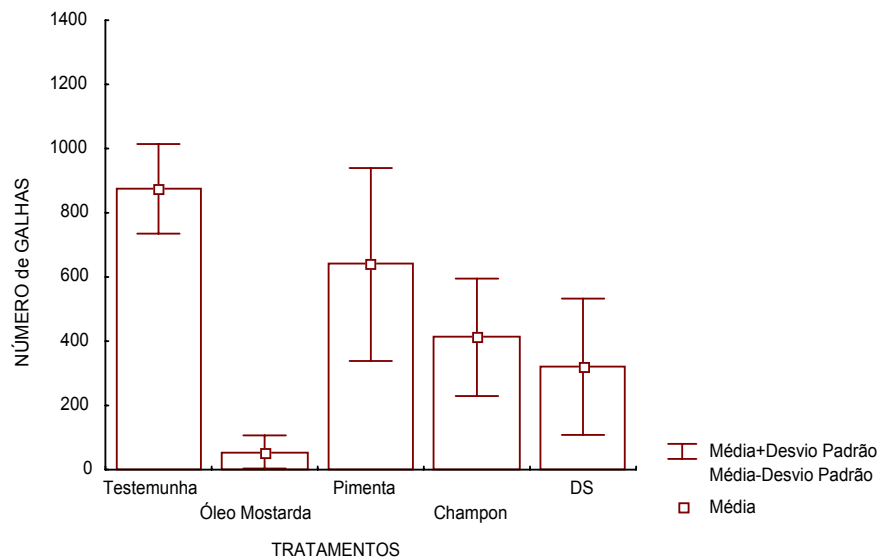


Figura 2: Número de galhas formadas por *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 50 ppm e dos produtos na concentração de 5%.

ovos apresentou uma redução de 97,8% e o número de galhas uma redução de 93,7% quando comparados à testemunha. Houve uma redução de 99,9% tanto no número de ovos quanto no número de galhas em relação à testemunha nas concentrações de 10% (Figuras 3 e 4), 20% (Figuras 5 e 6) e 40% (Figuras 7 e 8). Nas concentrações de 5% e 10% a altura e o peso da parte aérea das plantas apresentaram médias significativamente maiores que a testemunha (Tabela 3). Nas concentrações de 20% e 40 o peso e a altura da parte aérea das plantas não diferiram da testemunha (Tabela 3). Husain et al. (1984) já haviam realizado um estudo onde observaram a eficácia da torta de mostarda no controle de *M. incognita* e que o produto também não interferiu no crescimento das plantas. Akhtar & Mahmood (1993) observaram que o óleo de mostarda também reduziu a população *M. incognita* em tomateiro, mas apresentou um desenvolvimento da planta maior do que o observado em plantas inoculadas apenas com o nematóide.

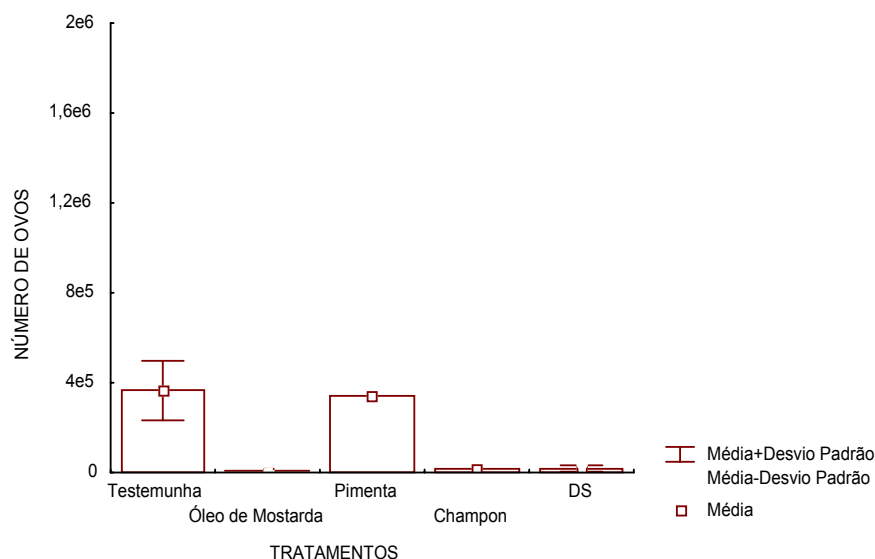


Figura 3: Número de ovos de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 100 ppm e dos produtos na concentração de 10%.

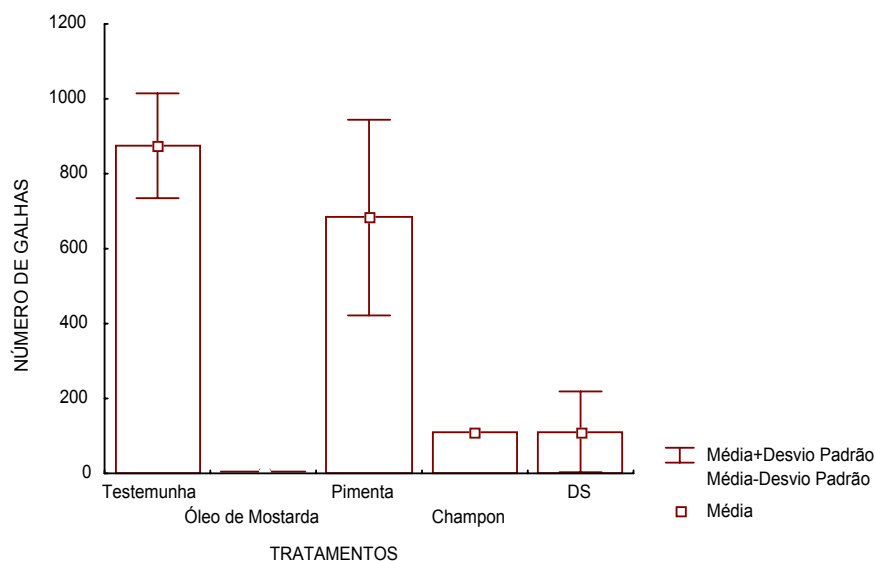


Figura 4: Número de galhas formadas por *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 100 ppm e dos produtos na concentração de 10%.

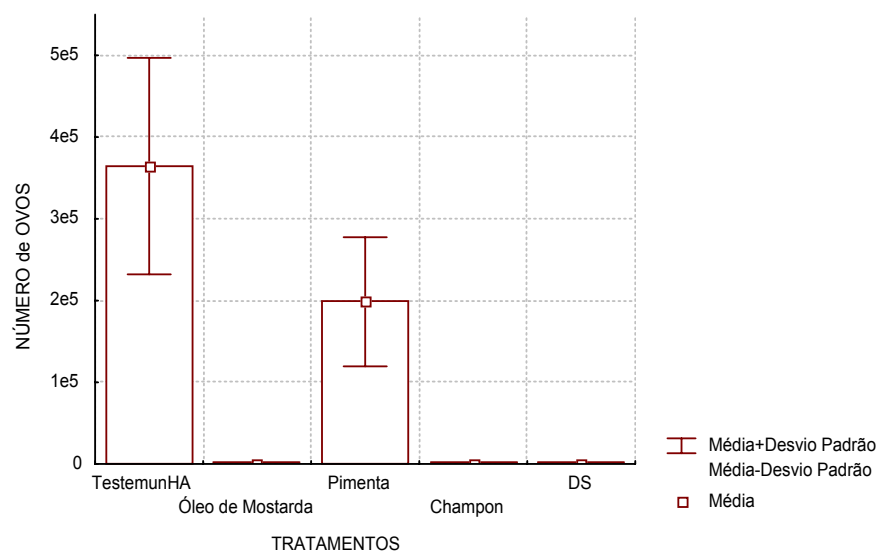


Figura 5: Número de ovos de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 200 ppm e dos produtos na concentração de 20%.

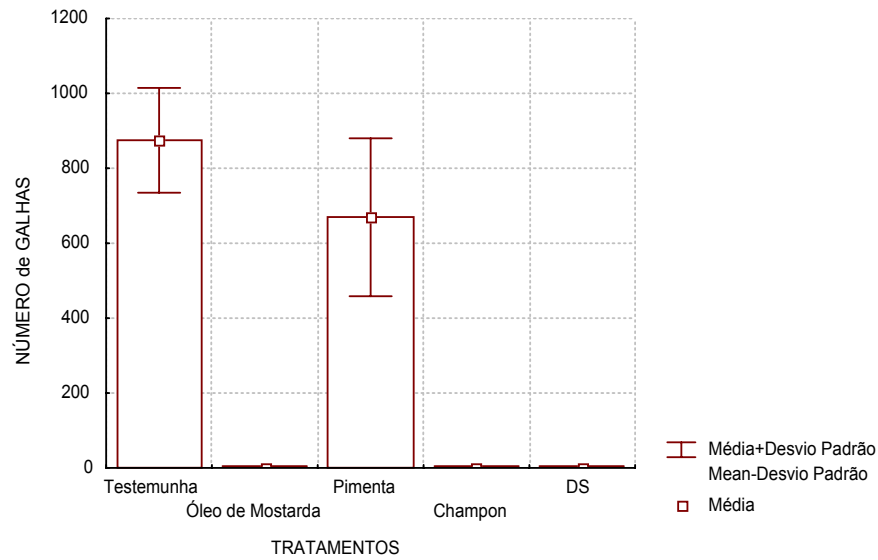


Figura 6: Número de galhas formadas por *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 200 ppm e dos produtos na concentração de 20%.

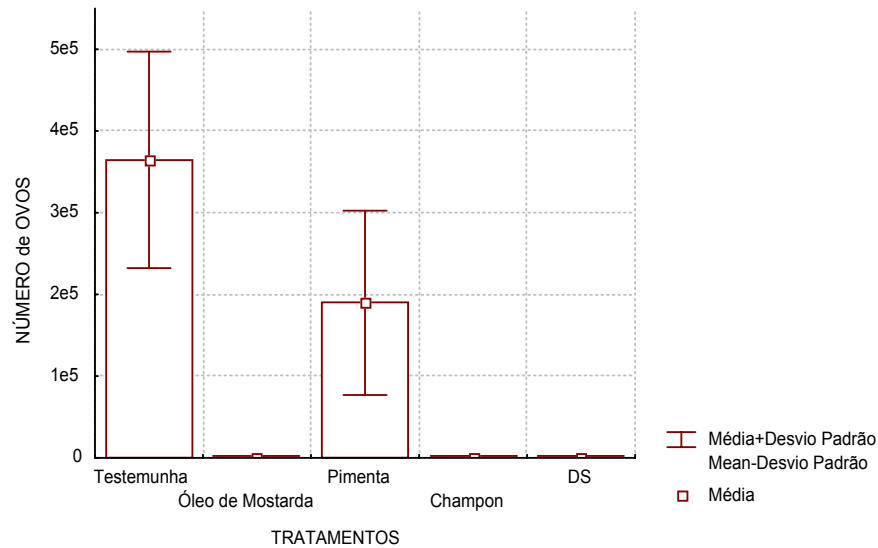


Figura 7: Número de ovos de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 400 ppm e dos produtos na concentração de 40%.

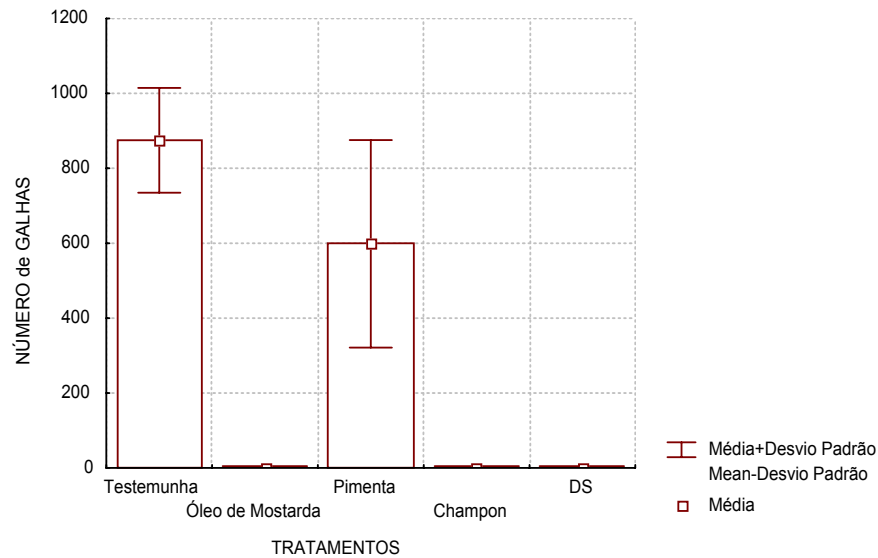


Figura 8: Número de galhas formadas por *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro retiradas de solo tratado com extratos na concentração de 400 ppm e dos produtos na concentração de 40%.

O extrato clorofórmico de pimenta reduziu o número de galhas e de ovos nas concentrações 200 e 400 ppm, mas o melhor resultado foi apresentado pela concentração de 400 ppm, onde houve uma redução de 23,5% e 45,5% no número de galhas e ovos, respectivamente (Figuras 7 e 8). Em nenhuma das concentrações a pimenta causou fitotoxidez em relação a altura e peso da parte aérea das plantas (Tabela 3). Sulkul et al. (1974) também não observaram a ocorrência de fitotoxidez causada por extrato de pimenta chinesa (*Capsicum annum*) e relataram o seu efeito na diminuição do número de galhas formadas por *M. incognita*. Moreira & Freitas (1998) não observaram efeito do extrato aquoso de pimenta malagueta sobre a infectividade de *M. javanica* em raízes de tomateiro, altura e peso da parte aérea. Neste caso, a pimenta pode não ter exercido efeito sobre o nematóide devido ao baixo teor de capsaicina e capsainóides presentes no filtrado.

Tabela 3: Efeito de diferentes extratos e produtos sobre a altura e o peso da parte aérea das plantas de tomate grupo Santa Cruz ‘Kada’

Tratamentos	Concentração 40%		Concentração 20%		Concentração 10%		Concentração 5%	
	Peso (gramas)	Altura (cm)	Peso (gramas)	Altura (cm)	Peso (gramas)	Altura (cm)	Peso (gramas)	Altura (cm)
Testemunha (água)	22,9 a	44,8 abc	22,9 ab	44,8 ns	22,9 b	44,8 c	22,9 c	44,8 b
Óleo de Mostarda	25,6 a	49,9 ab	25,6 a	47,1 ns	28,3 a	58,6 ab	30,1 a	61,0 a
Extrato de Pimenta	27,3 a	54,5 a	27,3 a	54,5 ns	27,4 ab	55,9 ab	24,9 bc	53,9 ab
Champon®	11,9 b	35,7 c	20,3 b	50,3 ns	28,1 a	65,9 a	28,8 ab	57,9 a
DS	14,5 b	42,7 bc	24,8 ab	49,5 ns	24,1 ab	55,5 b	28,7 ab	60,0 a

Médias de dez repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

^{ns}Médias dos tratamentos desta coluna não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O produto Champon® apresentou alta eficácia no controle de *M. javanica* em tomateiro em todas as concentrações testadas. O número de galhas e de ovos foi, respectivamente, 52,9% e 80,6% menor do que os apresentados pela testemunha com o produto na concentração de 5% (Figuras 1 e 2). O peso e altura das plantas na concentração de 5% foram superiores aos apresentados pela testemunha (Tabela 3). Na concentração de 10% o produto apresentou uma redução média de 95,1% no número de ovos e de 87,4% no número de galhas quando comparados à testemunha (Figuras 3 e 4). A média do peso da parte aérea e da altura das plantas com o produto a 10% foi significativamente superior à apresentada pela testemunha (Tabela 3). Nas concentrações de 20% e de 40% houve uma redução na média do número de ovos e de galhas maior que 99% em relação à testemunha (Figuras 5, 6, 7 e 8). O produto na concentração de 20%, não mostrou diferença significativa entre a

altura e o peso da parte aérea em relação à testemunha. Porém, na concentração de 40% o peso da parte aérea foi significativamente menor que o apresentado pela testemunha, enquanto que a altura média das plantas não apresentou diferença significativa (Tabela 3).

O produto DS também apresentou alta eficiência no controle de *M. javanica* em tomateiro em todas as concentrações testadas. A redução do número de ovos e de galhas, com o produto a 5%, foi de 82,3% e 53,4%, respectivamente, em relação à testemunha (Figura 1 e 2). A média da altura e do peso da parte aérea com o produto a 5%, foi significativamente maior quando comparados com a testemunha (Tabela 3). Na concentração de 10%, o produto apresentou uma redução de 87,3% e 95,0% no número de galhas e de ovos, quando comparados à testemunha (Figuras 3 e 4). A média da altura e do peso da parte aérea das plantas com o produto a 10% foi significativamente superior à apresentada pela testemunha (Tabela 3). Na concentração de 40% e 20% do produto houve uma redução no número de ovos e de galhas maior que 99% em relação à testemunha (Figuras 5, 6, 7 e 8). Com produto na concentração de 20% a altura e o peso da parte aérea das plantas não apresentaram diferença significativa em relação a testemunha. Na concentração de 40% do produto, a altura das plantas não apresentou diferença estatística em relação à testemunha e o peso foi significativamente menor que o apresentado pela testemunha, o que pode indicar um certo nível de fitotoxidez (Tabela 3).

Os resultados obtidos para os dois produtos não demonstram grandes diferenças entre eles quanto a sua eficiência no controle do nematóide. Resultados semelhantes foram obtidos por Freitas et al. (2000) com um produto natural com 4,94% de capsaicina e capsainóides e 4,43% de alil isotiocianato como ingredientes ativos, em relação ao número de galhas e de ovos e observaram fitotoxidez, expressa em menor altura de planta e peso de raiz, com o produtos em altas concentrações. Os resultados obtidos talvez sejam devido à presença do composto alil isotiocianato, que é um composto volátil tóxico para fungos e que é um ingrediente ativo de fumigantes do solo comerciais (Lewis & Papavizas, 1971). Lazzeri et al. (1993) investigaram o efeito de glicosinolatos e

de seus produtos sobre o nematóide *Heterodera schachtii*, observando que alil isotiocianato causou a morte de 100% dos nematóides após 96 horas de exposição ao produto, “in vitro”.

Neste experimento conclui-se que o extrato de pimenta causou redução do número de galhas e de ovos nas concentrações de 400 e 200 ppm e não causou fitotoxidez em nenhuma das concentrações, mas o melhor resultado foi obtido na concentração de 400 ppm onde o número de galhas teve uma redução de 23,5% e o número de ovos 45,5% em relação à testemunha. O óleo de mostarda apresentou alta eficiência em relação a redução do número de galhas e de ovos e a concentração mais indicada foi a de 10%, onde houve redução de 99% do número de galhas e de ovos e apresentou plantas com altura e peso significativamente maiores que a testemunha. Os dois produtos testados, Champon e DS, também foram eficientes em todas as concentrações, mas a concentração de 20% foi a que apresentou melhor resultado quanto a redução do número de ovos e de galhas sem a ocorrência de fitotoxidez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKTAR, M. & MAHMOOD, I. 1993. Control of plant parasitic nematodes with “nimim” and some plant oils by bare-root dip treatment. *Nematologia Mediterranea*, Bari. 21(1): 89-92.
- BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 553.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- FERRIS, H. & ZHENG, L. 1999. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 31(3): 241-263.
- FREITAS, L.G.; MARRA, B.M.; NEVES, W.S. & MOREIRA, J.U.V. 2000. Controle de *Meloidogyne javanica* com extratos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA. Belém, Resumos, p.336.
- GOSWAMI, B.K. & K. VIJAYALAKSHMI. 1981. Effect of some indigenous plant materials and oil-cakes amended soils on the growth of tomato and root-knot nematode population. *Indian Journal of Nematology* 11: 121. 1981.
- GUPTA, R. & SHARMA, N.K. 1991. Nematicidal properties of garlic, *Allium sativum*. *Indian Journal Nematology*, New Delhi 21: 14-18.
- HUSAIN, S.I.; KUMAR, R.; KHAN, T.A. & TITOV, A. 1984. Effect of root-dip treatment of egg plant seedlings with plant extracts and anthelmintic drugs on plant growth and root-knot development. *Pakistanian Journal of Nematology* 2(2): 79-83.
- HUSSAINI, S.S.; RAO, R.V.V.P. & PANDU, H.K. 1996. Toxicity of water soluble leaf extracts against larvae and egg masses of three *Meloidogyne* species. *Indian Journal of Nematology* 26(1): 23-31.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. *Journal Agric. Food Chemical* 41:825-829.
- LEWIS, J. A. & PAPAVIDAS, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 61: 208-214.

- MANI, A. & CHITRA, K.C. 1989. Toxicity of certain plant extracts to *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea* 17: 43-44.
- MATEEVA, A.; IVANOVA, M.; GULLINO, M.L.; KATAN, J. & MATTA, A. 2000. Alternative methods for control of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. *Acta Horticulturae*, 532: 109-111.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. 1996. Correlation of fungicidal activity of Brassica species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*, 86: 267-271.
- MOREIRA, J.U.V. & FREITAS, L.G. 1998. Efeito do filtrado de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) sobre a infectividade de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 23(suplemento): 306 (resumo).
- NATH, A.; SHARMA, N.K.; BHARDMAJ, S. & THAPA, C.D. 1982. Nematicidal properties of garlic. *Nematologica* 28: 253-255.
- NIDIRY, E.S.J.; CHANDRAVADANA, M.V.; KHAN, R.M. & RAO, M.S. 1994. In vitro nematicidal activity of extracts of bulbs and seeds onion against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, 22: 31-40.
- PAPAVIZAS, G.C. 1968. Suppression of *Aphanomyces* root rot of peas by cruciferous soil amendments. *Phytopathology* 56: 1071-1075.
- PAPAVIZAS, G.C. 1967. Comparison of treatments suggested for control of *Aphanomyces* root rot of peas. *Plant Disease* 51: 125-129.
- PARADA, R.Y. & GUZMÁN, R.F. 1997. Evaluación de extractos botánicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomía Mesoamericana – Nota Técnica* 8(1): 108-114.
- POTER, M.J.; DAVIES, K.; RATHJEN, A.J. 1998. Suppressive impact of glucosinolates in Brassica vegetative tissues on root lesion nematode *Pratylenchus neglectus*. *Journal of Chemical Ecology* 24(1): 67-68.
- RAO, M.S. & REDDY, P.P. 1992. Studies on the comparative efficacy of certain plant leaves and carbofuran in the management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Current Nematology* 3(1): 5-6.
- SASSER, J. N. 1989. Plant parasitic nematodes: The farmer's hidden enemy. Publication Department of Plant Pathology and the Consortium for International Crop Protection. 114p.

- SASSER, J. N., & FRECKMAN, D. W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. In: J. A. VEECH & D. W. DICKSON, (Ed.) Vistas on Nematology. Maryland: Society of Nematologists, p. 7-14.
- SCRAMIN, S.; SILVA, H.P.; L.M.S. FERNANDES, L.M.S. & YHAN, C.A. 1987. Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. Nematologia Brasileira 11: 89-101.
- SUKUL, N.C.; DAS, P.K. & DE, G.C. 1974. Nematicidal action of some edible crops. Nematologica 20: 187-191.
- TARJAN, A.C. 1990. Tests with ubiquitous materials for biocontrol of *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. Nematologia Mediterrânea, 18: 231-232.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE PIMENTA MALAGUETA (*Capsicum frutescens*), MOSTARDA (*Brassica campestris*) e ALHO (*Allium sativum*) SOBRE A ECLOSÃO DE JUVENIS DO NEMATÓIDE DAS GALHAS, *Meloidogyne javanica*

RESUMO

Várias plantas têm demonstrado possuir substâncias químicas com um provável efeito nematicida. A atividade de extratos de alho (*Allium sativum*), de mostarda (*Brassica campestris*) e de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), de óleo de mostarda e de dois produtos à base capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato foi avaliada, *in vitro*, sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*. O experimento foi montado em placas de Petri, onde foram depositados 2,0 mL de um dos extratos, do óleo ou de um dos produtos e 1,0 mL de uma suspensão aquosa com aproximadamente 300 ovos do nematóide. Água destilada foi usada como testemunha. Os ovos em solução de extratos foram incubados a 26°C, em recipiente fechado durante 21 dias. Os extratos de pimenta e alho não

exerceram efeito sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica*. Os ovos em extrato de mostarda apresentaram taxa de eclosão 47% menor que a apresentada pela testemunha. O óleo de mostarda e os dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato testados inibiram significativamente a eclosão de juvenis de *M. javanica* em todas as concentrações testadas, quando comparados à testemunha.

Palavras-chave: extratos, nematóide, atividade, eclosão de juvenis.

ABSTRACT

Several plants have shown to have chemical substances with a probable nematicidal effect. The activity of extracts from garlic (*Allium sativum*), mustard (*Brassica campestris*) and chili pepper (*Capsicum frutescens*), of mustard oil and of two products containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate were evaluated *in vitro* on the *M. javanica* egg hatching. The experiment was set in Petri dishes, where 2.0 mL of one of the extracts, of the oil or of one of the products, and 1,0 mL of aqueous suspension of approximately 300 eggs of the nematode were placed. Distilled water was used as the control treatment. The eggs in extract solution were incubated at 26°C, in close recipient, for 21 days. The pepper and the garlic extracts did not affect the *M. javanica* egg hatching. The eggs in mustard extract hatched 47% less than the control treatment. The mustard oil and the two products with capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate inhibited the *M. javanica* egg hatching in all the tested concentrations, when comparing to the control treatment.

Key-words: extracts, nematode, activity, egg hatching.

INTRODUÇÃO

Por possuir ampla distribuição geográfica, extensa gama de hospedeiros, interações com fungos, bactérias e nematóides, causar doenças e ser de difícil controle, o gênero *Meloidogyne*, também conhecido como nematóide das galhas, é considerado um dos mais importantes fitopatógenos (Moura, 1996). Por estas razões, métodos alternativos de controle têm sido estudados visando ao manejo desse nematóide em diversas culturas. Vários pesquisadores têm descrito o efeito de extratos botânicos sobre os fitonematóides e algumas plantas têm apresentado um grande potencial como matéria prima para a produção de nematicidas naturais (Lewis & Papavizas, 1971; Mayton, et al., 1996; Lazzeri et al., 1993; Ferris & Zheng, 1999).

Diversos constituintes químicos com efeito nematicida já foram isolados de espécies vegetais, como é o caso de espécies de brássicas, que produzem compostos sulfurosos, os glicosinolatos (Lewis & Papavizas, 1971), incluindo isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e epinitrilas (Mayton, et al., 1996). A presença de constituintes tóxicos a nematóides no óleo de alho foi observada por Nath et al. (1982). Gupta & Sharma (1991) também observaram que bulbos de alho apresentam substâncias tóxicas a *M. incognita*. Freitas et al. (2000) observaram grande redução do número de ovos e na formação de galhas de *Meloidogyne javanica* em tomateiro, com o uso de um produto à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato. Júlio et al. (2001) realizaram um experimento “in vitro” onde extrato de pimenta apresentou grande efeito repulsivo aos juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, seguido de um produto comercial, Champon®, à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato e do extrato de alho.

Desta maneira o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a atividade de extratos de alho, mostarda e pimenta, do óleo de mostarda e de dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, em diferentes concentrações, sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos extratos

Extrato cetônico de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*):

Um quilograma de frutos frescos de pimenta malagueta foi separado em sacos de papel contendo 50 gramas de pimenta cada um. Os sacos contendo a pimenta foram colocados em estufas de ar forçado, com temperatura ajustada em 50°C, até a completa remoção de água dos frutos. Os frutos foram então passado em liquidificador e submetidos à extração com acetona em aparelho tipo Soxhlet por um período de aproximadamente 20 horas a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após este período o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O extrato concentrado permaneceu sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato cetônico de mostarda (*Brassica campestris*):

Plantas de mostarda (folhas, flores e sementes) frescas foram fragmentadas em pequenos pedaços e colocadas em câmara de secagem, onde permaneceram por aproximadamente 15 dias para a secagem do material vegetal. A extração foi feita através do uso do solvente acetona em aparelho tipo Soxhlet por um período de aproximadamente 20 horas, a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após este período o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O extrato concentrado de mostarda obtido permaneceu sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato cetônico de alho (*Allium sativum*):

Um quilograma de bulbos de alho, sem casca, foi moído em liquidificador e colocado em 3 litros de acetona em um Erlenmeyer tampado, em repouso no escuro por aproximadamente 4 dias. Sulfato de magnésio foi adicionado na amostra antes de ser submetido à filtração em papel de filtro. A amostra foi levada para o condensador para a eliminação do solvente. O extrato concentrado de alho obtido permaneceu sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato clorofórmico de pimenta:

O extrato clorofórmico de pimenta foi obtido pelo mesmo modo de extração do extrato cetônico de pimenta e armazenado em local fresco ao abrigo de luz até o momento do ensaio biológico.

Óleo de mostarda:

O extrato comercial de mostarda (óleo de mostarda) é um produto importado que contém, de acordo com o fabricante, aproximadamente 95% de alil isotiocianato.

Avaliação da eclosão de juvenis de *M. javanica* in vitro

Os ovos de *M. javanica* foram obtidos a partir de tomateiro Santa Cruz 'Kada', mantido em casa de vegetação, e extraídos conforme a metodologia proposta por Hussey e Barker, adaptada por Boneti & Ferraz (1981) e contados com o auxílio de câmara de Peters em microscópio estereoscópio.

O teste constou da verificação da eclosão de juvenis de *M. javanica* em extratos cetônicos de alho, mostarda e pimenta; extrato clorofórmico de pimenta e óleo de mostarda nas concentrações de 1000, 400, 200, 100 e 50 ppm e em dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, o Champon®, importado dos Estados Unidos, e um outro produto em desenvolvimento na UFV, aqui chamado de DS, ambos nas concentrações de 40, 20, 10 e 5%. O detergente Tween 80 foi usado a 1% para promover a homogeneização das soluções. No experimento onde os extratos foram usados na concentração de 1000 ppm, água destilada e Tween 80 a 1% foram utilizados como controle, nos experimentos com as demais concentrações o controle foi feito somente com água destilada. O experimento foi montado em placas de Petri com 5 cm de diâmetro, onde foram depositados 2 mL do extrato e 1,0 mL de uma suspensão aquosa com aproximadamente 300 ovos do nematóide. Os ovos em solução de extratos, nas diferentes concentrações, foram incubados a 26°C, em recipiente fechado durante 21 dias. As avaliações foram feitas 24 horas após a montagem do experimento e

a cada três dias foram feitas novas avaliações onde contou-se o número de juvenis eclodidos e de ovos remanescentes com auxílio de microscópio estereoscópio, calculando-se a porcentagem de eclosão de juvenis de acordo com a fórmula:

$$\text{Porcentagem de eclosão} = [\text{número de juvenis} / (\text{número de juvenis} + \text{número de ovos})] \times 100$$

Somente os extratos e o óleo de mostarda foram usados na concentração de 1000 ppm porque foi a concentração que foram emulsificados com Tween 80. Os produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato já estavam emulsificados, por isso não foram usados na concentração de 100%. O controle com Tween 80 a 1% foi feito somente no experimento com os extratos a 1000 ppm, pois nas demais concentrações o Tween 80 foi utilizado sempre na concentração de 1%, não havendo a necessidade de testá-lo novamente quanto ao seu efeito sobre a eclosão dos juvenis.

Os ensaios foram montados em delineamentos inteiramente casualizados, com cinco repetições para cada tratamento. Os dados obtidos na última avaliação foram analisados utilizando-se o programa estatístico SAEG (Euclides, 1983) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos de alho e mostarda e o óleo de mostarda apresentaram um número de juvenis menor que a testemunha ao final da avaliação, porém, a 1000 ppm, essa redução foi significativa para o óleo de mostarda que causou a eclosão de 17% de juvenis, quando comparados com a testemunha água que teve uma taxa de 37,0% de eclosão (Figura 1). Os demais tratamentos não diferiram estaticamente da testemunha, nota-se que a testemunha com água+Tween e os extratos cetônico e clorofórmico de pimenta apresentaram 38,7%, 42,6% e 45,1% de eclosão, respectivamente.

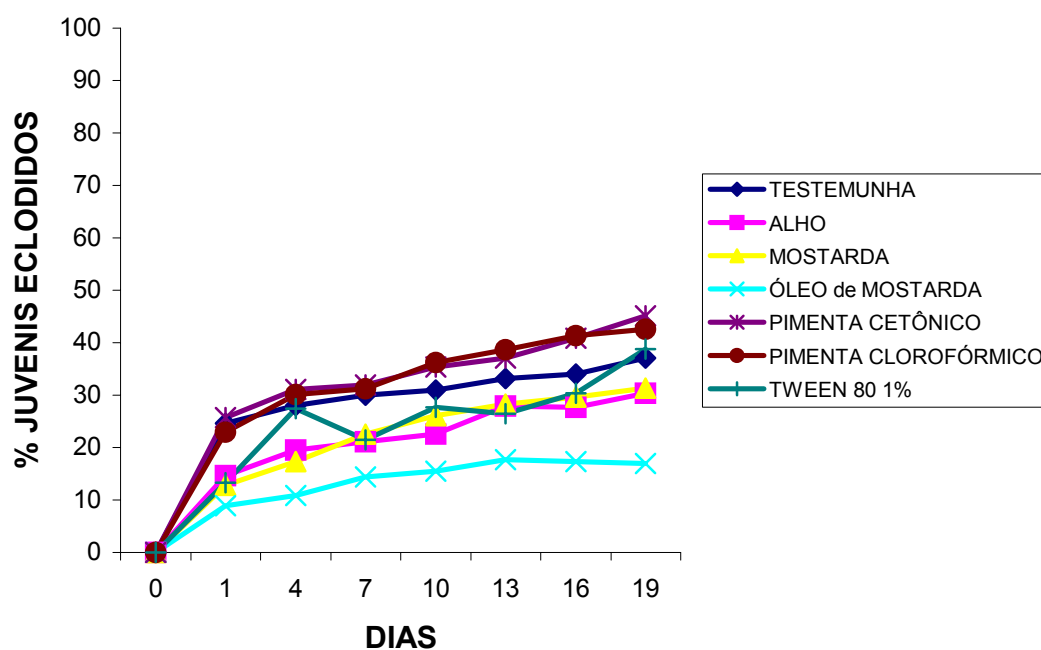


Figura 1: Percentagem de eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*, *in vitro*, sob a ação de extratos de plantas, na concentração de 1000 ppm, ao longo do tempo.

Apesar dos extratos de pimenta, mostarda e alho terem apresentado uma taxa de eclosão inferior que a apresentada pela testemunha, nenhum desses tratamentos apresentou efeito significativo sobre a eclosão de juvenis ao final da avaliação à concentração de 400 ppm, para os extratos e de 40% para Champon® e DS (Figura 2).

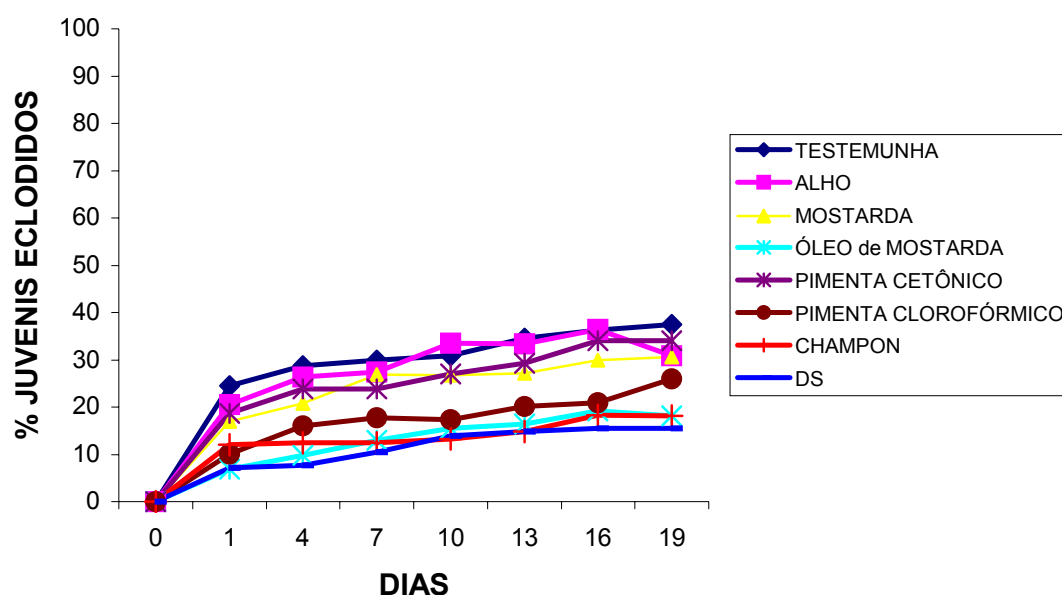


Figura 2: Percentagem de eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*, *in vitro*, sob a ação de extratos de plantas, na concentração de 400 ppm, e dos produtos Champon® e DS a 40%, ao longo do tempo.

Os dois produtos testados, Champon® e DS, e o óleo de mostarda apresentaram uma taxa de eclosão de 18,1%, 15,6% e 18,2% ao final da avaliação, o que mostra uma redução significativa em relação à testemunha que apresentou 37,6% de juvenis eclodidos.

Os produtos Champon® e DS, na concentração de 20%, e o óleo de mostarda, na concentração de 200 ppm, não diferiram estatisticamente entre si,

apresentando 12,1%, 18,6% e 16,6% de eclosão, respectivamente, ao final da avaliação, enquanto que a testemunha apresentou uma taxa de eclosão final de 76,8%. Os extratos cetônico e clorofórmico de pimenta apresentaram 89,9% e 80,7% de juvenis eclodidos (Figura 3).

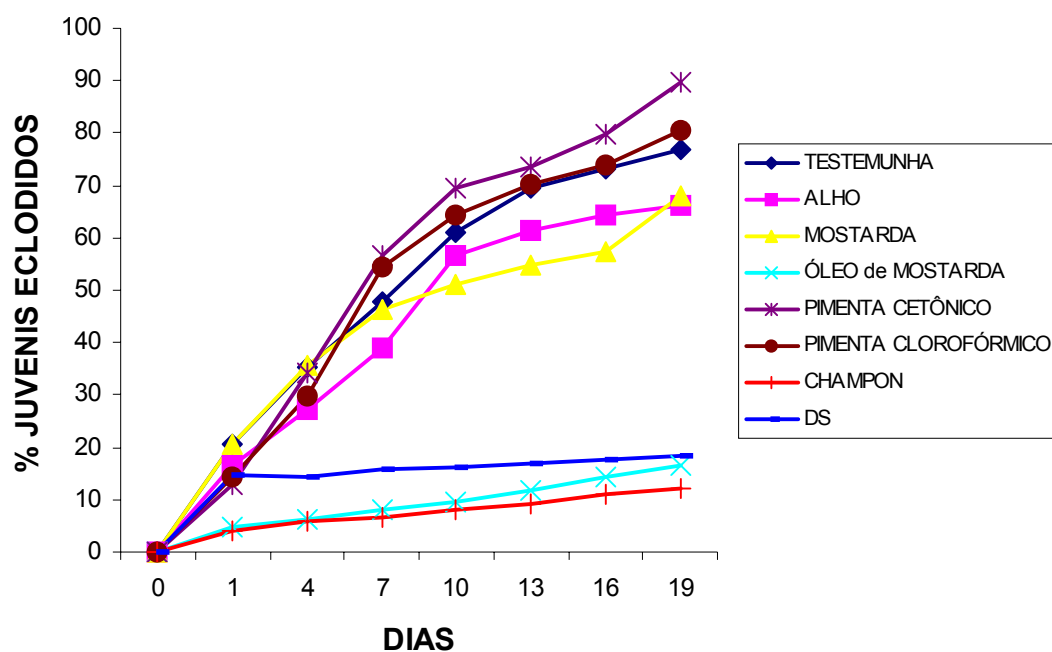


Figura 3: Percentagem de eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*, *in vitro*, sob a ação de extratos de plantas na concentração de 200 ppm, e dos produtos Champon® e DS a 20%, ao longo do tempo.

Os extratos de alho e mostarda embora tenham apresentado uma porcentagem de juvenis de 66,2% e 67,9%, respectivamente, não diferiram estatisticamente da testemunha.

Os extratos de pimenta, mostarda e alho, na concentração de 100 ppm, não demonstraram efeito sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica*. A tesmunha resultou em 76,8% de juvenis eclodidos diferindo estatisticamente dos produtos

Champon® e DS e o óleo de mostarda, que ao final da avaliação, apresentaram porcentagem de eclosão de 17,2%, 16,2% e 29,8%, respectivamente (Figura 4).

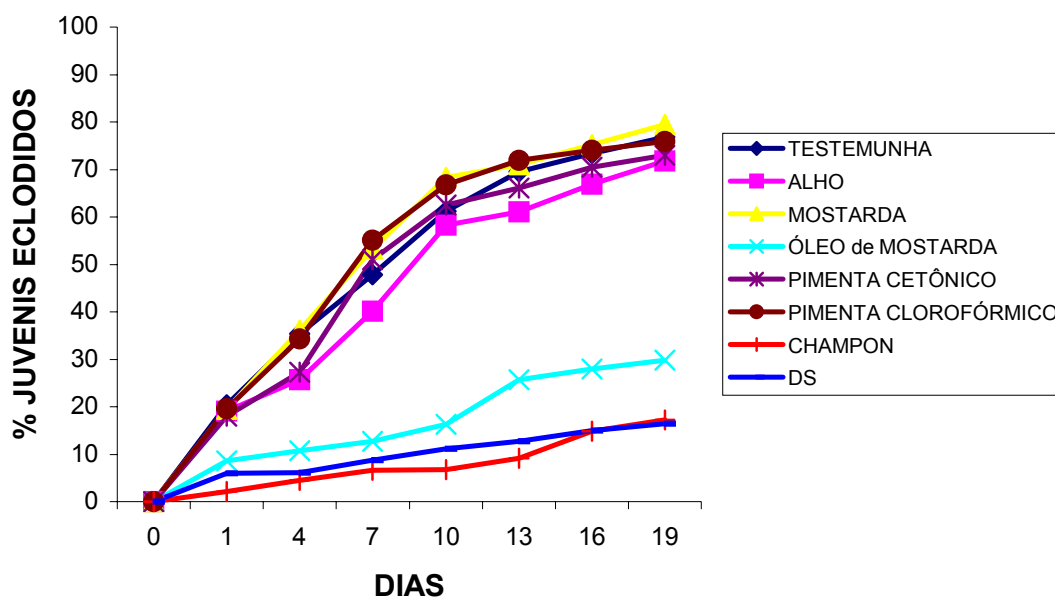


Figura 4: Porcentagem de eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*, *in vitro*, sob a ação de extratos de plantas na concentração de 100 ppm, e dos produtos Champon® e DS a 10%, ao longo do tempo.

Pode-se observar pela Figura 5 que o óleo e o extrato de mostarda e os dois produtos testados apresentaram uma porcentagem de eclosão inferior a apresentada pela testemunha. O extrato de mostarda resultou em 32,7% de eclosão, mostrando-se estatisticamente inferior à testemunha e ao óleo de mostarda que apresentaram 79,8% e 54,7%, respectivamente. A grande inibição da eclosão pelo extrato de mostarda na concentração de 50 ppm contradiz os resultados obtidos nos experimentos com concentrações mais altas, por isso, outros estudos devem ser realizados para a confirmação desse resultado. Os

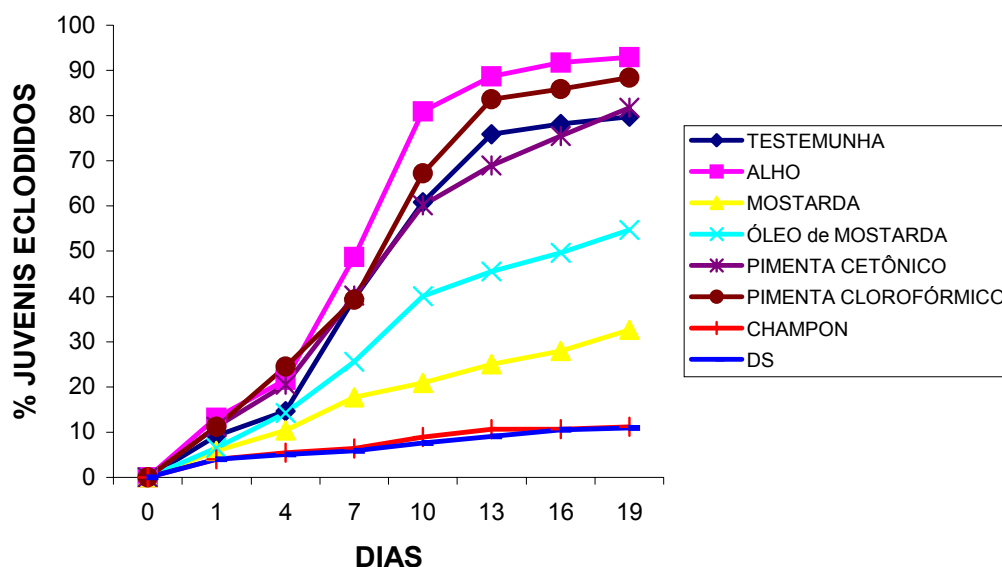


Figura 5: Percentagem de eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*, *in vitro*, sob a ação de extratos de plantas na concentração de 50 ppm, e dos produtos Champon® e DS a 5%, ao longo do tempo.

extratos cetônico e clorofórmico de pimenta e o extrato de alho apresentaram 81,8%, 88,4% e 93,0% de eclosão, respectivamente, o que demonstra um aumento em relação ao controle, que apresentou 79,8% de eclosão. Os melhores resultados foram obtidos com o Champon® e o DS que resultaram em 11,1% e 11,0% de juvenis eclodidos, respectivamente.

As avaliações dos extratos sobre a eclosão de *M. javanica* permitem concluir que os extratos de pimenta não têm efeito sobre a eclosão de juvenis em nenhuma das concentrações usadas, e pode até apresentar um número maior de juvenis eclodidos em relação à testemunha.. Isso confirma o resultado obtido no ensaio realizado por Moreira & Freitas (1998) em que o efeito do filtrado de pimenta malagueta sobre a eclosão de *M. javanica* também não foi observado. Uma hipótese que pode ser considerada é que compostos presentes em extratos de pimenta tenham ação repelente ao nematóide, mas não inibam a eclosão dos mesmos, mesmo em alta concentração, pois, o efeito repulsivo do extrato de

pimenta a juvenis de segundo estágio de *M. javanica* foi observado por Júlio et al. (2001) em testes laboratoriais..

O extrato de alho também não apresentou efeito sobre a eclosão dos juvenis em nenhuma das concentrações testadas. A ausência de compostos tóxicos possibilitaram que juvenis de *M. javanica* eclodissem livremente em água e se movimentassem normalmente. Os resultados aqui obtidos são contraditórios àqueles encontrados por Nath et al. (1982) que sugerem a presença de constituintes tóxicos a nematóides em óleo de alho, produzidos através de destilação a vapor. Gupta & Sharma (1991) também observaram que bulbos de alho apresentam substâncias tóxicas a *M. incognita*. A ineficiência do extrato nesse experimento pode ser devido ao solvente ou método de extração utilizado, que pode ter feito com que a substância tóxica ao nematóide não tenha sido extraída ou que esteja no extrato em concentrações insuficientes para exercer efeito sobre o nematóide. Scramin et al. (1987) ressaltaram a diferença de comportamento de extratos hexânico, clorofórmico e etanólico de uma mesma espécie vegetal frente a um mesmo nematóide.

O óleo de mostarda causou inibição da eclosão de juvenis de *M. javanica* em todas as concentrações testadas, apresentando melhores resultados nas concentrações de 1000, 400 e 200 ppm. Lewis & Papavizas (1971) atribuem o controle de patógenos de plantas a produção de compostos sulfurosos, os glucosinolatos. Aproximadamente 100 diferentes glucosinolatos têm sido identificados em tecidos de plantas, incluindo o isotiocianatos (Duncan, 1991). Espécies de brássicas, como *Brassica campestris*, possuem em sua constituição o alil isotiocianato (Mayton *et al.*, 1996) que tem sido relatado no controle de nematóides (Poter *et al.*, 1998). Esse estudo demonstrou que o óleo de mostarda é muito eficiente para inibir a eclosão de juvenis e que o seu uso no controle do nematóide das galhas é bastante promissor.

Champon® e o DS inibiram a eclosão dos juvenis em todas as concentrações testadas, até mesmo a 5% os produtos foram muito promissores, resultando em apenas 10% de juvenis eclodidos. A associação entre alil isotiocianato, capsaicina e capsainóide pode ser responsável pela alta eficiência

dos produtos sobre a eclosão do nematóide, já que os extratos de pimenta separadamente não apresentaram efeito sobre a eclosão e que o óleo de mostarda apresentou uma porcentagem maior de juvenis eclodidos em baixas concentrações. Em alguns casos a associação de duas substâncias potencializa o efeito sobre o nematóide. Chakraborty & Dutta (1997) observaram uma considerável redução da doença causada por *Aphelencoides besseyi* e *M. incognita* em *Polianthes tuberosa* L. quando foi usado extrato de neem em combinação com extrato de alho.

O extrato de mostarda, apesar de ter apresentado um número de juvenis inferior ao da testemunha não exerceu efeito sobre a eclosão do nematóide nas concentrações de 1000, 400, 200 e 100 ppm. Esses resultados são diferentes dos esperados. Os resultados obtidos por Mayton *et al.* (1996) demonstraram a presença do composto alil isotiocianato em tecidos de *Brassica campestris*, que apresenta comprovado efeito sobre o nematóide. Potter *et al.* (1998) demonstraram, através da análise em HPLC, que tecidos foliares de *Brassica* spp apresentam o composto 2-phenylethyl glucosinolato responsável pela mortalidade do nematóide *Pratylenchus neglectus*. Uma hipótese para explicar o resultado obtido é a provável ausência de compostos tóxicos ao nematóide no extrato, o que pode ser devido à evaporação do composto durante o processo de eliminação do solvente, à sua degradação no processo de extração ou durante o armazenamento do material. O extrato de mostarda, na concentração de 50 ppm, diferiu estatisticamente da testemunha, inibindo a eclosão dos juvenis. É difícil formular uma hipótese para explicar esse resultado. É possível que algum erro experimental tenha ocorrido, visto que o extrato em maiores concentrações não causou inibição na eclosão do nematóide. Insunza *et al.* (2001) estudaram o efeito de extratos de diversas plantas, inclusive *Brassica campestris*, sobre o nematóide *Xiphinema americanum*, em duas concentrações e nenhum dos extratos apresentou melhor resultado na concentração mais baixa. Entretanto, Krishnamurthy & Murthy (1993) também observaram que o extrato de *Brassica nigra* exerceu efeito sobre *M. javanica* somente na menor diluição. Outra

hipótese formulada que pode explicar o resultado é a possibilidade do princípio ativo do extrato ser liberado somente em baixas concentrações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 6 (suplemento): 553 (resumo).
- CHAKRABORTY, H.S. & DUTTA, P. 1997. Phytochemical control of floral malady of *Polianthes tuberosa* L. Journal of Mycopathological Research 35(2): 111-113.
- DUNCAN, A. 1991. Glucosinolatos, p. 127-147 IN: Toxic Substances in Crop Plants. J. P. D'Mello, C. M. Duffus, and J. H. Duffus, eds. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- FERRIS, H. & ZHENG, L. 1999. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 31(3): 241-263.
- FREITAS, L.G.; MARRA, B.M.; NEVES, W.S. & DIAS, C.R. 2000. Controle de *Meloidogyne javanica* com aplicação de óleo essencial de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). Fitopatologia Brasileira, 25 (suplemento): 336 (resumo).
- GUPTA, R. & SHARMA, N.K. 1991. Nematicidal properties of garlic, *Allium sativum*. Indian Journal Nematology, New Delhi 21: 14-18.
- JÚLIO, V.A.; FREITAS, L.G.; NEVES, W.S. & DEMUNER, A.J. 2001. Efeito de extratos de plantas no movimento de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. Fitopatologia Brasileira 26 (suplemento): 505 (resumo).
- KRISHNAMURTHY, G.V.G. & MURTHY, P.S.N. 1993. Further studies with plant extracts on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) larvae. In: CHARI, M.S. & RAMAPRASAD, G. (Ed.) Botanical Pesticides in Integrated Pest Management. Rajahmundry: Indian Society of Tobacco Science. Pp. 438-448.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. Journal Agric. Food Chemical 41:825-829.

- LEWIS, J. A. & PAPAVIZAS, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 61: 208-214.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. 1996. Correlation of fungicidal activity of Brassica species with allyl isotiocianato production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*, 86: 267-271.
- MOREIRA, J.U.V. & FREITAS, L.G. 1998. Efeito do filtrado de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) sobre a infectividade de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 23(suplemento): 306 (resumo).
- MOURA, R.M. 1996. O Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, 4: 209-244.
- NATH, A.; SHARMA, N.K.; BHARDMAJ, S. & THAPA, C.D. 1982. Nematicidal properties of garlic. *Nematologica* 28: 253-255.
- POTER, M.J.; DAVIES, K.; RATHJEN, A.J. Jan. 1998. Supressive impact of glucosinolates in Brassica vegetative tissues on root lesion nematode *Pratylenchus neglectus*. *Journal of Chemical Ecology* 24(1): 67-68.
- SCRAMIN, S.; SILVA, H.P.; L.M.S. FERNANDES, L.M.S. & YHAN, C.A. 1987. Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. *Nematologia Brasileira* 11: 89-101.

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE NEMATOSTÁTICA OU NEMATICIDA DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE PIMENTA MALAGUETA (*Capsicum frutescens*), MOSTARDA (*Brassica campestris*) E ALHO (*Allium sativum*) SOBRE JUVENIS DO NEMATÓIDE DAS GALHAS, *Meloidogyne javanica*

RESUMO

Várias plantas têm demonstrado possuir substâncias químicas com efeito nematicida. A atividade nematostática e nematicida de extratos de alho (*Allium sativum*), mostarda (*Brassica campestris*) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*); de óleo de mostarda e de dois produtos à base capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato foram avaliadas, *in vitro*, sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* em diferentes concentrações. O experimento foi montado em placas de Petri, onde foram depositados 2,0 mL do extrato e 1,0 mL de uma suspensão aquosa com aproximadamente 300 juvenis do nematóide. Água destilada foi usada como testemunha. Os juvenis em solução de extratos, nas concentrações de 1000, 400, 200, 100 ou 50 ppm, ou de produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, nas concentrações de 40, 20,

10 ou 5%, foram incubados a 26°C, em recipiente fechado. As avaliações da inativação de juvenis foram feitas 24 horas após a montagem do experimento. Após a contagem dos inativos, os juvenis foram enxaguados em peneira de 0,025 mm de abertura de poro, colocados em água por mais 24 horas e avaliou-se a porcentagem de juvenis mortos. Os extratos de alho, pimenta e mostarda apresentaram atividade nematicida quando comparados à testemunha. Os produtos a base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato e o óleo de mostarda apresentaram até 100% de eficiência na inativação de juvenis de *M. javanica*.

Palavras-chave: extratos, nematóide, atividade, nematicida, juvenis.

ABSTRACT

Several plants have shown to have chemical substances with a probable nematicidal effect. The activity of extracts from garlic (*Allium sativum*), mustard (*Brassica campestris*) and chili pepper (*Capsicum frutescens*), of mustard oil and of two products containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate were evaluated *in vitro* on second-stage juveniles of *M. javanica*, at different concentrations. The experiment was set in Petri dishes, where 2.0 mL of one of the extracts, of the oil or of one of the products, and 1,0 mL of aqueous suspension of approximately 300 eggs of the nematode were placed. Distilled water was used as the control treatment. The juveniles in extract solution, at the concentrations of 1000, 400, 200, 100 or 50 ppm, or of products containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate, at concentrations of 40, 20, 10 or 5% were incubated at 26 C, in close container. The evaluations of the juvenile inactivation were made 24 hours after the setup of the experiment. After counting the inactive, the juveniles were rinsed on a 0,025 mm pore aperture sieve and placed in water for more 24 hours and the percentage of dead juveniles was recorded. The garlic, pepper and mustard extracts presented nematicidal activity when compared to the control treatment. The products containing capsaicin, capsainoids and allyl isothiocyanate presented up to 100% efficiency in the inactivation of *M. javanica* juveniles.

Key-words: extracts, nematode, activity, nematicide, juveniles.

INTRODUÇÃO

A busca de métodos alternativa de controle tem atraído a atenção de pesquisadores interessados no manejo de nematóides fitoparasitas. A literatura relata o efeito de extratos botânicos sobre os fitonematóides e algumas plantas têm apresentado um grande potencial como matéria prima para a produção de nematicidas naturais (Lewis & Papavizas, 1971; Mayton, et al., 1996; Lazzeri et al., 1993; Ferris & Zheng, 1999).

Diversos constituintes químicos com efeito nematicida já foram isolados de espécies vegetais como é o caso de espécies de brássicas que produzem compostos sulfurosos, os glicosinolatos (Lewis & Papavizas, 1971), incluindo isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e epinitrilas (Mayton et al., 1996). A presença de constituintes tóxicos a nematóides no óleo de alho foi observada por Nath et al. (1982). Gupta & Sharma (1991) também observaram que bulbos de alho apresentam substâncias tóxicas a *M. incognita*. Freitas et al. (2000) observaram redução de ovos e na formação de galhas de *Meloidogyne javanica* em tomateiro, com o uso de um produto comercial importado dos Estados Unidos (Champon®) à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato. Júlio et al. (2001) realizaram um experimento “in vitro” onde extrato de pimenta apresentou efeito repulsivo aos juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, seguido do Champon® e do extrato de alho. Dias et al. (2000) observaram que o efeito nematostático de alguns extratos de plantas não implica em um conseqüente efeito nematicida, por isso, é de grande importância a avaliação da recuperação dos juvenis de nematóides.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a atividade nematostática e/ou nematicida de extratos de alho, mostarda e pimenta, do óleo de mostarda e de dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, em diferentes concentrações, sobre juvenis de segundo estágio *M. javanica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos extratos

Extrato cetônico de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*):

Um quilograma de frutos frescos de pimenta malagueta foi separado em sacos de papel contendo 50 gramas de pimenta cada um. Os sacos contendo a pimenta foram colocados em estufas de ar forçado, com temperatura ajustada em 50°C, até a completa remoção de água dos frutos. Os frutos foram então passado em liquidificador e submetidos à extração com acetona em aparelho tipo Soxhlet por um período de aproximadamente 20 horas a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após este período o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O extrato concentrado permaneceu sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato cetônico de mostarda (*Brassica campestris*):

Plantas de mostarda (folhas, flores e sementes) frescas foram fragmentadas em pequenos pedaços e colocadas em câmara de secagem, onde permaneceram por aproximadamente 15 dias para a secagem do material vegetal. A extração foi feita através do uso do solvente acetona em aparelho tipo Soxhlet por um período de aproximadamente 20 horas, a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após este período o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O extrato concentrado de mostarda obtido permaneceu sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato cetônico de alho (*Allium sativum*):

Um quilograma de bulbos de alho, sem casca, foi moído em liquidificador e colocado em 3 litros de acetona em um Erlenmeyer tampado, em repouso no escuro por aproximadamente 4 dias. Sulfato de magnésio foi adicionado na amostra antes de ser submetido à filtração em papel de filtro. A amostra foi levada para o condensador para a eliminação do solvente. O extrato concentrado de alho obtido permaneceu sob refrigeração até o momento do ensaio biológico.

Extrato clorofórmico de pimenta:

O extrato clorofórmico de pimenta foi submetido ao mesmo modo de extração do extrato cetônico de pimenta e armazenado em local fresco ao abrigo de luz até o momento do ensaio biológico.

Óleo de mostarda:

O extrato comercial de mostarda (óleo de mostarda) é um produto importado que contém, de acordo com o fabricante, aproximadamente 95% de alil isotiocianato.

Avaliação da inativação ou morte de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* *in vitro*

Ovos de *M. javanica* foram obtidos a partir de tomateiro Santa Cruz 'Kada', mantido em casa de vegetação, e extraídos conforme a metodologia proposta por Hussey e Barker, adaptada por Boneti & Ferraz (1981). Para a obtenção de juvenis de segundo estágio os ovos foram colocados em funis de Baerman (Baermann, 1917) e mantidos em câmara de crescimento a 26°C.

O ensaio foi realizado separadamente por concentração devido ao grande número de nematóides requeridos por parcela e dificuldade de avaliação. Na primeira etapa do experimento foram avaliados os extratos cetônicos de alho, pimenta e mostarda; extrato clorofórmico de pimenta e óleo de mostarda nas concentrações de 1000 ppm. O detergente Tween 80 foi usado a 1% para promover a homogeneização das soluções. Água destilada e Tween 80 a 1% foram usados como controle. Foram feitas 5 repetições por tratamento e o experimento foi realizado em duas épocas diferentes. Utilizaram-se placas de petri de 5 cm de diâmetro e em cada placa foram colocados 2,0 mL da solução teste e 1,0 mL de suspensão contendo em média 300 juvenis de *M. javanica*, com auxílio de pipeta semi-automática. As placas foram colocadas em incubadora a 26°C. A avaliação foi feita 24 horas após a montagem do experimento, determinando-se a porcentagem de juvenis móveis e imóveis. Cada suspensão contendo os extratos e

os juvenis foi vertida cuidadosamente sobre peneira de 0,025 mm de abertura (500 mesh), após a avaliação (24 horas), os juvenis foram lavados com água corrente. Com o auxílio de uma piseta contendo água os juvenis foram transferidos novamente para as placas de Petri e deixados em repouso por mais 24 horas, após o que, foi avaliada a porcentagem de recuperação dos nematóides para averiguar a atividade nematicida dos extratos.

Os mesmos extratos também foram avaliados nas concentrações de 400, 200, 100 e 50 ppm. Um produto comercial importado dos Estados Unidos (Champon®) e um produto em desenvolvimento na UFV (aqui chamado de DS), ambos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, foram avaliados nas concentrações de 40, 20, 10 e 5%. Água foi usada como controle e foram feitas cinco repetições por tratamento. Todas as etapas do experimento foram realizadas duas vezes. Os mesmos procedimentos adotados na avaliação dos extratos a 1000 ppm foram utilizados para avaliação das demais concentrações.

Os ensaios foram montados em delineamentos inteiramente casualizados. Os dados foram analisados utilizando-se o programa estatístico SAEG (Euclides, 1983) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como podem ser observados, os resultados nos dois ensaios realizados foram consistentes. As mortalidades de 4,7% e 4,8% dos juvenis nos ensaios 1 e 2, foram observadas no controle com água, respectivamente (Tabela 1). O controle com água + Tween 80 a 1% não diferiu estatisticamente do controle apenas com água, apresentando morte dos juvenis de 10,4% e 10,1% no primeiro e segundo ensaio, respectivamente. O extrato cetônico de pimenta apresentou um leve efeito nematostático. O extrato clorofórmico de pimenta e o extrato cetônico de alho apresentaram efeito nematicida quando comparados à testemunha. No primeiro ensaio o extrato clorofórmico de pimenta causou a morte de 15,5% dos juvenis e o extrato de alho causou a morte de 60,4% dos juvenis, respectivamente. No segundo ensaio o extrato clorofórmico de pimenta e o extrato cetônico de alho causaram a morte de 27,5% e 49,7% dos juvenis, respectivamente. Nos dois ensaios o óleo de mostarda resultou em morte de 100% dos juvenis. O extrato de mostarda não demonstrou atividade nematicida em nenhum dos dois ensaios.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados do experimento com os extratos a 400 ppm e os produtos Champon® e DS à 40%. O controle com água resultou na morte de 7,8% e 6,2% dos juvenis no primeiro e segundo ensaio, respectivamente. O extrato cetônico de alho não apresentou efeito nematostático ou nematicida em nenhum dos dois ensaios. Extratos cetônico e clorofórmico de pimenta resultaram, no primeiro ensaio, na morte de 18,0% e 20,4% dos juvenis, respectivamente e no segundo ensaio na morte de 15,5% e 23,7% dos juvenis. O extrato de mostarda resultou em taxa de 26,6% e 15,9% de juvenis mortos nos ensaios 1 e 2, respectivamente. O óleo de mostarda e os dois produtos testados, a base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato, apresentaram morte de 100% dos nematóides.

No teste dos extratos a 200 ppm e os produtos a 20%, conforme mostrado na Tabela 3, somente o óleo de mostarda e os produtos à base de

Tabela 1: Média da porcentagem de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* inativos após 24 horas de exposição a diferentes extratos na concentração de 1000 ppm e mortos após lavagem e repouso por 24 horas em água

Tratamento	1º ensaio				2º ensaio			
	Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i>				Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i>			
	Inativos		Mortos		Inativos		Mortos	
Testemunha (água)	2,1	d	4,8	d	7,6	d	4,8	d
Tween 80 a 1%	9,5	cd	10,1	cd	14,7	d	10,4	d
Extrato Cetônico de Alho	53,5	b	60,4	b	57,1	b	49,7	b
Extrato Cetônico de Mostarda	4,4	d	2,6	d	7,2	d	4,6	d
Óleo de Mostarda	100	a	100	a	100	a	100	a
Extrato Cetônico de Pimenta	18,8	c	7,0	cd	33,2	c	11,0	d
Extrato Clorofórmico de Pimenta	46,4	b	15,5	c	60,9	b	27,5	c
C.V. (%)	20,7		14,4		17,6		22,5	

Médias de cinco repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato causaram a morte dos juvenis. No primeiro ensaio o óleo de mostarda apresentou 92,8% de juvenis mortos e os dois produtos testados resultaram em 100% de eficiência na morte dos juvenis. O extrato cetônico de pimenta apresentou um leve efeito nematostático, porém não apresentou um número significativo de juvenis mortos. No segundo ensaio o óleo de mostarda causou a morte de 75,4% dos juvenis e os dois produtos apresentaram 100% de juvenis mortos. O extrato de mostarda apresentou uma ação nematostática em 29,3% dos juvenis, porém, não apresentou ação nematicida, pois os juvenis se recuperaram em água. O extrato de alho apresentou diferença significativa no número de juvenis mortos, quando comparados com o controle, diferindo do primeiro ensaio. Ferris & Zheng (1999)

Tabela 2: Média da porcentagem de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*, inativos após 24 horas de exposição a diferentes extratos e produtos na concentração de 400 ppm e 40%, respectivamente, e mortos após 24 horas em água, para dois ensaios realizados em diferentes épocas

Tratamentos	Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 1º ensaio				Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 2º ensaio			
	Inativos		Mortos		Inativos		Mortos	
Testemunha (água)	5,4	c	7,8	d	2,7	e	6,3	d
DS	100	a	100	a	100	a	100	a
Extrato Cetônico de Alho	6,2	c	10,2	cd	3,4	e	8,3	cd
Extrato Cetônico de Mostarda	30,4	b	26,6	b	13,3	c	15,9	bc
Óleo de Mostarda	100	a	100	a	100	a	100	a
Extrato Cetônico de Pimenta	8,7	c	18,0	bc	7,4	d	15,5	bc
Extrato Clorofórmico de Pimenta	26,8	b	20,4	b	18,1	b	23,7	b
Champon	100	a	100	a	100	a	100	a
C.V. (%)	4,4		9,4		2,5		9,4	

Médias de cinco repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

DS e Champon®: produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato.

sugerem que resultados falsos positivos podem ocorrer devido a presença de microrganismos ou seus metabólitos associados a extratos vegetais. Outra hipótese que pode explicar a diferença dos resultados, entre os dois ensaios, em relação ao extrato de alho é a possibilidade do extrato não ter sido totalmente retirado das amostras durante a lavagem dos juvenis, visto que na avaliação feita após 24 horas de exposição dos nematóides aos extratos não foi observado nem mesmo um pequeno efeito nematostático do extrato, ou seja, não houve diferença significativa entre o extrato de alho e o controle com água.

Tabela 3: Média da porcentagem de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*, inativos após 24 horas de exposição a diferentes extratos e produtos na concentração de 200 ppm e 20%, respectivamente, e mortos após 24 horas em água, para dois ensaios realizados em diferentes épocas

Tratamentos	Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 1 ensaio		Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 2 ensaio	
	Inativos	Mortos	Inativos	Mortos
Testemunha (água)	19,0 d	32,42 b	16,12 d	28,3 de
DS	100 a	100 a	100 a	100 a
Extrato Cetônico de Alho	19,0 d	31,18 b	17,04 d	47,4 c
Extrato Cetônico de Mostarda	21,62 d	26,74 b	29,34 c	36,9 cd
Óleo de Mostarda	87,4 b	92,78 a	77,54 b	75,4 b
Extrato Cetônico de Pimenta	38,6 c	30,54 b	18,02 d	23,2 e
Extrato Clorofórmico de Pimenta	24,26 d	33,46 b	16,92 d	26,5 de
Champon	100 a	100 a	100 a	100 a
C.V. (%)	9,9	13,0	9,1	11,4

Médias de cinco repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

DS e Champon®: produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato.

Na Tabela 4 estão descritos os resultados com os extratos a 100 ppm e os produtos a 10%. O controle apresentou 17,1% e 18,9% de juvenis mortos no ensaio 1 e 2, respectivamente. Os dois produtos a base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato apresentaram 100% de eficiência nematicida sobre os juvenis nos dois ensaios montados. O óleo de mostarda causou a morte de 75,9% dos juvenis no ensaio 1 e de 69,9% dos juvenis no ensaio 2. No primeiro ensaio o extrato clorofórmico de pimenta apresentou um leve efeito nematicida sobre os nematóides, o que não foi observado no segundo ensaio. O

Tabela 4: Média da porcentagem de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*, inativos após 24 horas de exposição a diferentes extratos e produtos na concentração de 100 ppm e 10%, respectivamente, e mortos após 24 horas em água, para dois ensaios realizados em diferentes épocas

Tratamentos	Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 1 ensaio		Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 2 ensaio	
	Inativos	Mortos	Inativos	Mortos
Testemunha (água)	14,3 d	17,1 e	17 c	18,9 c
DS	100 a	100 a	100 a	100 a
Extrato Cetônico de Alho	20,1 cd	29,0 d	18,03 c	21,5 c
Extrato Cetônico de Mostarda	75,4 b	68,8 c	69,8 b	66,8 b
Óleo de Mostarda	73,8 b	75,9 b	68,3 b	69,9 b
Extrato Cetônico de Pimenta	20,9 cd	27,4 d	19,9 c	26,5 c
Extrato Clorofórmico de Pimenta	26,8 c	31,2 d	20,3 c	23,1 c
Champon	100 a	100 a	100 a	100 a
C.V. (%)	10,4	6,4	13,3	13,1

Médias de cinco repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

DS e Champon®: produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato.

extrato de mostarda apresentou 68,8% e 66,76% de juvenis mortos. Os demais tratamentos não diferiram significativamente do controle.

Como pode ser observado na Tabela 5, os extratos na concentração de 50 ppm e os produtos na concentração de 5%, apresentaram resultados semelhantes ao experimento anterior. O controle apresentou 19,7% e 18,1% de juvenis mortos nos ensaios 1 e 2 respectivamente. Os produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato causaram a morte de 100% dos nematóides nos dois ensaios realizados. O óleo de mostarda resultou em 60,7% e

Tabela 5: Média da porcentagem de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*, inativos após 24 horas de exposição a diferentes extratos e produtos na concentração de 50 ppm e 5%, respectivamente, e mortos após 24 horas em água, para dois ensaios realizados em diferentes épocas

Tratamentos	Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 1 ensaio		Juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i> 2 ensaio	
	Inativos	Mortos	Inativos	Mortos
Testemunha (água)	12,4 d	19,7 c	11,8 d	18,1 c
DS	100 a	100 a	100 a	100 a
Extrato Cetônico de Alho	16,6 d	25,8 c	15,8 d	24,9 c
Extrato Cetônico de Mostarda	69,2 b	51,8 b	58,3 b	40,8 b
Óleo de Mostarda	61,0 b	60,7 b	59,0 b	58,0 b
Extrato Cetônico de Pimenta	23,1 cd	25,6 c	22,4 cd	24,9 c
Extrato Clorofórmico de Pimenta	29,6 c	29,4 c	22,8 cd	23,7 c
Champon®	100 a	100 a	100 a	100 a
C.V. (%)	10,5	11,1	12,0	12,7

Médias de cinco repetições.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

DS e Champon®: produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato.

58,0% de juvenis mortos no primeiro e segundo ensaio, respectivamente. O extrato cetônico de mostarda apresentou 51,8% e 40,8% de juvenis mortos nos ensaios 1 e 2, respectivamente, não diferindo estatisticamente do óleo de mostarda. Os demais tratamentos não diferiram significativamente entre si.

A atividade nematicida do extrato de mostarda foi demonstrada por Inzunza et al. (2001) onde extratos de raízes e da parte aérea (folhas e flores) de *Brassica campestris* apresentaram atividade nematicida sobre *Xiphinema americanum* após 24 horas de exposição, porém somente o extrato obtido das raízes apresentou eficácia, quando utilizado a uma concentração 75% menor

que a anterior. Extrato aquoso de folhas de *B. nigra* apresentou atividade nematostática sobre juvenis *M. javanica* (Krishnamurthy & Murthy, 1993). Lewis & Papavizas (1971) relataram que diversos constituintes químicos com efeito nematicida já foram isolados de espécies de brássicas. Mayton et al. (1996) atribuem o controle de patógenos de plantas por espécies de brássicas à produção de compostos sulfurosos. Uma hipótese para explicar os resultados obtidos para o extrato cetônico de mostarda nas concentrações de 100 e 50 ppm, é de que houve um resíduo do óleo de mostarda deixado na peneira usada para a retirada do produto, visto que, a lavagem dos juvenis tratados com o extrato de mostarda foi feita após a lavagem dos juvenis que estavam em óleo de mostarda. Apesar de todo o cuidado tomado ao se lavar as peneiras entre lavagens a natureza oleosa do produto pode ter causado aderência de moléculas nematicidas à malha de nylon da peneira. Portanto, estudos mais detalhados devem ser realizados para comprovar a atividade de tal extrato nas duas concentrações, pois, como pode ser observado na Tabela 3 o mesmo extrato na concentração de 200 ppm não apresentou efeito nematicida significativo quando comparado com o controle e na concentração de 400 ppm a porcentagem de juvenis mortos foi menor do que a apresentada nas concentrações de 100 e 50 ppm.

A ação nematicida do extrato de alho constatada nesse trabalho também foi observada por Sukul, et al. (1974) onde o extrato de alho mostrou um promissor efeito nematicida ao nematóide das galhas, *M. incognita*, *in vitro*. Nath et al. (1982) também observaram que extratos aquoso e metanólico de alho foram nematicidas efetivos contra *Aphelenoides sacchari* e *Tylenchulus semipenetrans* *in vitro*. Foi observado que óleo de alho, produzido através da destilação a vapor, apresentou maior toxidez a *Aphelenoides sacchari* e *Tylenchulus semipenetrans* do que o composto sintético “diallyl disulphide”, o que sugere a presença de outros constituintes tóxicos aos nematóides no óleo de alho (Nath et al., 1982). No mesmo estudo Nath et al. relataram que extrato metanólico e aquoso bruto de alho causaram a morte de 100% dos nematóides. Gupta & Sharma (1991) observaram que bulbos de alho apresentam substâncias tóxicas a *M. incognita*. Extrato de bulbos de alho foi avaliado por Krishnamurthy & Murthy (1993) em

diferentes concentrações e promoveu alta taxa de mortalidade de juvenis de *M. javanica in vitro* na menor diluição. Parada & Guzmán (1997) relataram que o extrato de alho exerceu atividade nematostática sobre *M. incognita in vitro*, mas que a eficácia do extrato depende em parte da dose utilizada e do tempo de exposição dos nematóides ao produto. Extrato hexânico de bulbos e de sementes de cebola e óleo essencial de bulbos de cebola não apresentaram atividade nematicida sobre *M. incognita*, enquanto que extrato aquoso e metanólico de sementes de cebola apresentaram taxa de mortalidade dos juvenis de 80% e 100%, respectivamente, após 48 horas de exposição (Nidiry et al., 1994).

A mortalidade dos juvenis de *M. javanica* em extratos de pimenta também foi observada por Sukul et al. (1974), que observaram que extrato de pimenta do reino (*C. annum*) causou a morte de 100% de juvenis de *M. incognita* após 30 minutos de exposição. Krishnamurthy & Murthy (1993) relataram que o extrato de sementes de pimenta (*Piper nigrum* L.) apresentou alta taxa de mortalidade de juvenis de *M. javanica in vitro*. Scramin et al. (1987) observaram que a atividade nematicida de algumas espécies depende do solvente utilizado na extração dos seus produtos. O que talvez possa explicar que tanto na concentração de 1000 ppm quanto na concentração de 400 ppm o extrato cetônico de pimenta apresenta menor porcentagem de morte dos juvenis do que a apresentada pelo extrato clorofórmico de pimenta.

O óleo de mostarda apresentou atividade nematicida em todas as concentrações testadas, porém nas concentrações de 1000, 400 e 200 ppm esta atividade foi mais evidente. Esse resultado corrobora os obtidos por Akhtar & Mahmood (1993), que relatam o efeito nematicida do óleo de mostarda sobre *M. incognita*. Segundo Husain et al. (1984) a presença de fenóis em óleo de mostarda é a responsável por sua alta atividade nematicida. Resultados semelhantes foram encontrados por Shukla & Hasseb (1996), onde o óleo de mostarda demonstrou alta eficiência no controle de *Pratylenchus thornei*. Outros óleos essenciais também apresentaram efeito nematicida (Debprasad, 2000; Sanjay et al., 2000; Bala & Sukul, 1987; Gokte et al., 1991; Leela et al., 1992).

Os dois produtos Champon® e DS apresentaram 100% de eficiência na mortalidade dos juvenis em todas as concentrações testadas. O alil isotiocianato é um glicosinolato, predominante em *B. nigra*, *B. carinata* e *B. juncea*, tóxico a alguns fitopatógenos (Mayton et al., 1996). De fato, Lazzeri et al. (1993) já haviam investigado o efeito de glicosinolatos e de seus produtos sobre o nematóide *Heterodera schachtii*, observando que alil isotiocianato causou a morte de 100% dos nematóides após 96 horas de exposição ao produto, *in vitro*. Foi observado por Goncalves et al. (2000) que óleo essencial de frutos de *Capparis flexuosa*, rico em glicosinolatos, inativou 97,3% dos juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, *in vitro*. Freitas et al. (2000) também observaram alta eficiência do Champon® no controle de *M. javanica*. A alta eficiência desse produto talvez ocorra pela potencialização de pimenta e mostarda quando usados em conjunto, visto que o óleo de mostarda e o extrato de pimenta apresentaram baixa eficiência sobre os juvenis quando usados separadamente em baixas concentrações. Gokte et al. (1991) relataram que os compostos como o estragol e linalol associados possuem atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita*, *Heterodera avenae*, *H. cajae* e *H. zae*, em baixas concentrações, enquanto que individualmente só apresentam efeito sobre os nematóides em altas concentrações.

O efeito nematostático de alguns extratos não implica que eles tenham também efeito nematicida (Dias et al., 2000 e Ferris & Zheng, 1999), o que demonstra a importância do estudo da taxa de recuperação dos juvenis em água. Os extratos de alho, mostarda e pimenta apresentaram relativa eficiência na morte de juvenis de *M. javanica*, porém, os melhores resultados foram obtidos com os produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato e com o óleo de mostarda que apresentou taxa de mortalidade dos juvenis de até 100%. Estudos mais detalhados devem ser realizados para definir que as substâncias com atividade nematicida estão presentes nos produtos e no óleo de mostarda e em que quantidade elas se encontram presentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKTAR, M. & MAHMOOD, I. 1993. Control of plant parasitic nematodes with “nimim” and some plant oils by bare-root dip treatment. *Nematologia Mediterranea*, Bari. 21(1): 89-92.
- BAERMANN, G. 1917. Eine einfache methode zur auffindung von ankvlostomum (Nematoden) larven in erdproben. *Ned. Indie* 57: 131-137.
- BALA, S. K. & SUKUL, N. C. 1987. Systemic nematicidal effect of eugenol. *Nematropica*, Auburn, 17: 217-222.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 553 (resumo).
- DEBPRASAD, R.; PRASAD, D.; SINGH, R.P. & RAY, D. 2000. Chemical examination and antinemic activity of marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. *Annals of Plant Protection Sciences* 8(2): 212-217.
- DIAS, C.R.; SCHWAN, A.V.; EZEQUIEL, D.P.; SARMENTO, M.C. & FERRAZ, S. 2000. Avaliação de extratos aquosos de plantas medicinais sobre a sobrevivência de *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira* 24(2): 203-210.
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology* 59: 1632-1639.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- FERRIS, H. & ZHENG, L. 1999. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 31(3): 241-263.
- FREITAS, L.G.; MARRA, B.M.; NEVES, W.S. & DIAS, C.R. 2000. Controle de *Meloidogyne javanica* com aplicação de óleo essencial de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). *Fitopatologia Brasileira*, 25 (suplemento): 336 (resumo).
- GOKTE, N.; MAESHWARI, M.L. & MAKTUR, V.K. 1991. Nematicidal activity of new essential oils against root-knot and cyst nematode species. *Indian Journal Nematology*. New Delhi, 21: 123-127.

- GONÇALVES, F.J.T.; FREIRE, F.C.O. & NETO, M.A. 2000. Atividade antagonística do óleo essencial dos frutos de *Capparis Flexuosa* (Capparaceae) em ovos e juvenis de *Meloidogyne incognita*. I Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais, 35 (resumo). Fortaleza
- GUPTA, R. & SHARMA, N.K. 1991. Nematicidal properties of garlic, *Allium sativum*. Indian Journal Nematology, New Delhi 21: 14-18.
- HUSAIN, S.I.; KUMAR, R.; KHAN, T.A. & TITOV, A. 1984. Effect of root-dip treatment of egg plant seedlings with plant extracts and anthelmintic drugs on plant growth and root-knot development. Pakistanian Journal of Nematology 2(2): 79-83.
- INZUNZA, V.; ABALLAY, E. & MACAYA, J. 2001. *In vitro* nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema Americanum sensu lato*. Nematropica 31: 47-54.
- JATALA, P. 1985. Biological control of nematodes. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C., ed. An advanced treatise on *Meloidogyne*, V.1. Biology and control. Raleigh: North Carolina State University Graphics, p.303-308.
- JÚLIO, V.A.; FREITAS, L.G.; NEVES, W.S. & DEMUNER, A.J. 2001. Efeito de extratos de plantas no movimento de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. Fitopatologia Brasileira 26 (suplemento): 505 (resumo).
- KRISHNAMURTHY, G.V.G. & MURTHY, P.S.N. 1993. Further studies with plant extracts on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) larvae. In: CHARI, M.S. & RAMAPRASAD, G. (Ed.) Botanical Pesticides in Integrated Pest Management. Rajahmundry: Indian Society of Tobacco Science. Pp. 438-448.
- LAZZERI, L.; TACCONI, R. & PALMIERI, S. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. Journal Agric. Food Chemical 41:825-829.
- LEELA, N.K.; KHAN, R.M.; REDDY, P.P. & NIDIRY, E.S.J. 1992. Nematicidal activity of essential oils of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea, Bari, 20(1): 57-58.
- LEWIS, J. A. & PAPAVIZAS, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. Phytopathology 61: 208-214.

- LORDELLO, A.I.L.; LORDELLO, R.R.A. & SAWAZAKI, E. 2001. Avaliação da resistência do milho à *Meloidogyne incognita* raça 3. Summa Phytopathologica 27: 86-88.
- MAYTON, H.S.; CLAUDIA, O.; VAUGHN, S.F. & LORIA, R. 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. Phytopathology, 86: 267-271.
- NATH, A.; SHARMA, N.K.; BHARDMAJ, S. & THAPA, C.D. 1982. Nematicidal properties of garlic. Nematologica 28: 253-255.
- NIDIRY, E.S.J.; CHANDRAVADANA, M.V.; KHAN, R.M. & RAO, M.S. 1994. In vitro nematicidal activity of extracts of bulbs and seeds of onion against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea, 22: 31-40.
- PARADA, R.Y. & GUZMÁN, R.F. 1997. Evaluacion de extractos botanicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*). Agronomia Mesoamericana – Nota Técnica 8(1): 108-114.
- SANJAY, S.; PRASAD, D.; SINGH, R.P. & SRIVASTAVA, S. 2000. Antinematic studies of the chemical constituents of the leaves of *Murraya koenigii* (L) Spreng. Annals of Plant Protection Sciences 8(2): 183-186.
- SASSER, J. N., & FRECKMAN, D. W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. Pp. 7-14. IN: J. A. VEECH & D. W. DICKSON, (Ed.) Vistas on Nematology. Maryland: Society of Nematologists.
- SCRAMIN, S.; SILVA, H.P.; L.M.S. FERNANDES, L.M.S. & YHAN, C.A. 1987. Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. Nematologia Brasileira 11: 89-101.
- SHUKLA, P.K. & HASSEB, A. 1996. Effectiveness of some nematicides and oil cakes in the management of *Pratylenchus thornei* on *Mentha citrata*, *M. piperita* and *M. spicata*. Bioresource Technology 57: 306-310.
- SUKUL, N.C.; DAS, P.K. & DE, G.C. 1974. Nematicidal action of some edible crops. Nematologica 20: 187-191.

CONCLUSÕES GERAIS

Extratos botânicos e produtos à base de ingredientes naturais são uma boa opção para o controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. Os produtos testados à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato e o óleo de mostarda foram os tratamentos mais promissores no controle do nematóide, pois apresentaram eficiência em todas as concentrações testadas. Champon®, DS e o óleo de mostarda mostraram efeito nematotóxico nas diversas fases do ciclo de vida de *M. javanica*, uma vez que inibiram a eclosão e causaram a mortalidade dos juvenis. Estudos mais detalhados devem ser realizados para o conhecimento da composição de cada produto e o nível de toxicidade a seres humanos e ao meio ambiente.