

AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE 14
ESPÉCIES VEGETAIS SOBRE *Meloidogyne incognita*
RAÇA 1

Shirlei Scramin¹
Herberte P. Silva²
Leslie M.S. Fernandes¹
Cleide A. Vhan³

INTRODUÇÃO

A obtenção de compostos nematicidas a partir de extratos vegetais constitui uma medida alternativa para pequenos agricultores ao uso de produtos químicos de alto custo no controle de nematóides fitopatogênicos. Buscando produtos alternativos, procedeu-se ao levantamento bibliográfico. Como resultado obteve-se informações sobre a existência de diferentes grupos de substâncias de origem vegetal que atuam no combate e/ou controle de nematóides fitopatogênicos (GOMMERS, 1981; MUNAKATA, 1979;

¹ EMBRAPA/CNPDA, Jaguariúna - SP.

² SEMENTES AGROCERES S/A, Jacarezinho - PR.

³ IAC - SP - Seção de Botânica Econômica, Campinas - SP.

Recebido para publicação em 14/4/87.

KAWAZU, 1980; MAHMOOD, 1979; CHATERJEE, 1980; KOGIZO, 1976; HOAN, 1979; MOHAMMAD, 1981).

Com base no levantamento, foram selecionadas 14 espécies vegetais pertencentes, principalmente, às famílias **Compositae** e **Leguminosae**, por serem portadoras de substâncias naturais com potencial atividade sobre nematóides. Essas espécies foram submetidas a extração com três solventes orgânicos de diferentes polaridades e seus extratos avaliados *in vitro* contra o nematóide *Meloidogyne incognita* raça 1.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatorze espécies vegetais previamente selecionadas foram localizadas, coletadas e identificadas pelos botânicos da Seção de Botânica Econômica do Instituto Agrônomo de Campinas - IAC (Quadro 1).

A preparação dos vegetais e a subsequente extração dos seus componentes químicos foram conduzidas na Seção de Fitoquímica do IAC.

Os vegetais foram separados por partes (raiz, caule, folha, flor e fruto), fragmentados (com tesoura de poda), colocados em bandejas, separadamente, submetidos a secagem em estufas de circulação de ar forçado sob ventilação de ar quente (Marca FANEM) a 50°C, até peso constante, e moídos em moinhos com rotores de facas com rotação em torno de 12.000 r.p.m. (Moinho Tipo Willie - Marca FANEM).

Os componentes químicos das partes secas e pulverizadas foram extraídos através do uso de solventes orgânicos, sempre a frio, usando a maceração como processo extrativo (COSTA, 1978). Como é variável a natureza química e, portanto, a solubilidade dos constituintes químicos dos tecidos dos vegetais, extraiu-se fracionadamente os diversos constituintes usando-se três solventes orgânicos de diferentes polaridades: hexano, clorofórmio e etanol.

Inicialmente, cada vegetal na forma de pó foi extraído com hexano, usando-se a proporção de 100 g de pó para

Quadro 1. Relação dos vegetais selecionados, coletados, processados e extraídos.

Espécie vegetal	Família	Local de coleta	Época
<i>Ageratum conyzoides</i>	Compositae	Sorocaba	10.03.86
<i>Alomia fastigiata</i>	Compositae	São Paulo	29.08.86
<i>Ambrosia polystachya</i>	Compositae	São Sebastião	06.06.86
<i>Cassia occidentalis</i>	Leguminosae	Brotas	21.03.86
<i>Crotalaria spectabilis</i>	Leguminosae	Mogi-Guaçú	23.05.86
<i>Dolichos lablab</i>	Leguminosae	Campinas	27.05.85
<i>Eragrostis acuminata</i>	Gramineae	São Sebastião	06.06.86
<i>Indigofera hirsuta</i>	Leguminosae	Mogi-Mirim	11.03.86
<i>Lupinus albus</i>	Leguminosae	Ourinhos	11.04.86
<i>Ricinus communis</i>	Euphorbiaceae	Campinas	11.03.86
<i>Tagetes minuta</i>	Compositae	Ourinhos	11.04.86
<i>Tagetes patula</i>	Compositae	Cunha	07.05.85
<i>Vernonia condensata</i>	Compositae	Campinas	11.02.86
<i>Vernonia polyanthes</i>	Compositae	Boa Esperança do Sul	14.04.86

300 ml de solvente. Essas extrações foram repetidas até que as soluções extrativas se apresentassem totalmente descoradas. Após o esgotamento do pó de cada parte vegetal pelo hexano, o mesmo foi extraído com clorofórmio, seguindo-se o método descrito acima. Finalmente, usou-se etanol, sendo desprezado o resíduo. Na troca de um solvente pelo seguinte, o material foi seco para se evitar a interferência do solvente anterior.

Os extratos brutos, diluídos, foram filtrados em papel de filtro, evaporados sob pressão reduzida em evaporadores rotatórios (Marca Buchii), obtendo-se materiais concentrados e viscosos, isentos de solvente.

Para avaliação dos extratos foram comparados dois métodos; o de ALAM (1973), que consistiu em colocar 100 larvas de 2º estágio de *Meloidogyne incognita* em peneiras metálicas de 25 μm , 10 μm , 5 μm de abertura (1,5 cm de diâmetro e 1,0 cm de largura). As larvas eram mantidas sobre a tela e esta era imersa na solução do extrato. Decorrido um período de exposição de 24 horas, as larvas eram transferidas para a água e o número de larvas mortas e vivas era estimado após um intervalo de uma hora. O segundo método consistiu na incubação de larvas de 2º estágio de *M. incognita* em extratos na concentração de 1% (Peso/Volume) por aproximadamente 24 horas. No final deste período, larvas eram submetidas ao método de Baermann em siracusa, e larvas que sobreviviam ao teste após um período de 24 horas eram avaliadas. A porcentagem de inativação das larvas sob a ação dos extratos de plantas era estimada em relação à sobrevivência de larvas usando como controle a água.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das espécies vegetais escolhidas para este trabalho são facilmente encontradas em estado nativo na região de Campinas, sendo consideradas como plantas invasoras de áreas cultivadas, não lhes sendo atribuída nenhuma propriedade tóxica.

O processo empregado na obtenção dos extratos visou a obtenção do maior número de constituintes químicos, evitando-se uma possível decomposição dos mesmos por terem sido utilizadas condições mais brandas, tanto na preparação dos vegetais, como também na posterior obtenção dos extratos, onde se empregou o processo de extração a frio.

Os dados de porcentagem de retenção das larvas de 2º estágio de *M. incognita* nos dois métodos de avaliação encontram-se no Quadro 2. Os resultados mostram que o método proposto por ALAM (1973) ocasiona erros na avaliação devido a baixa retenção das larvas nas peneiras e mostrou ser um método vagaroso, devido a viscosidade das soluções, acarretando dificuldade na passagem da solução pela malha das peneiras; a vantagem deste método é que permite a diferenciação dos extratos quanto a ação nematocida ou nematostática. O método de Baermann em siracusa mostrou ser um método preciso e rápido, porém não permite diferenciar a ação nematocida ou nematostática dos extratos e exige a realização de testes "in vivo" para a confirmação dos resultados, pois larvas que não atravessam o algodão podem estar apenas paralisadas sob a ação do extrato. Apesar desta desvantagem, este método foi utilizado para a triagem preliminar da ação nematostática ou nematocida dos extratos.

Quadro 2. Comparação entre dois métodos de avaliação "in vitro" através da porcentagem de retenção das larvas de 2º estágio de *M. incognita* raça 1 em peneiras e algodão umedecido.

	Método proposto por ALAM(1973)	Método de Baermann em siracusa
Peneira de 25 µm	72,2 ^a	-
Peneira de 10 µm	86,6	-
Peneira de 5 µm	98,4	-
Algodão umedecido	-	100

a = média de 8 repetições.

No quadro seguinte (Quadro 3), são apresentados os resultados de porcentagem de atividade (nematicida ou nematostática) dos 62 extratos vegetais avaliados, na concentração de 1%, pelo método de Baermann, sobre larvas de 2º estágio de *M. incognita* raça 1. Para efeito de comparação foi utilizado o nematicida Carbofuran, na mesma concentração. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que extratos de algumas espécies vegetais possuem atividade semelhante a este nematicida. Para pesquisa posterior, quanto ao tipo de atividade - nematicida ou nematostática - e isolamento e identificação dos princípios ativos, serão selecionados os extratos que apresentaram até 50% de atividade (10 primeiros extratos).

É importante, também, ressaltar a diferença de comportamento dos diferentes extratos (hexânico, clorofórmico e etanólico) de uma dada parte do vegetal, frente ao mesmo nematóide (Figuras 1, 2 e 3). Por exemplo, os extratos hexânico e etanólico de caule de *Vernonia polyanthes* apresentaram atividade comparável ao do Carbofuran, ao passo que o extrato clorofórmico não teve atividade significativa (Figura 2). O mesmo se percebe com extrato clorofórmico de folhas de *Ageratum conyzoides* que mostrou atividade potencial, ao passo que os extratos hexânico e etanólico não tiveram atividade expressiva (Figura 2). Isso se deve às diferentes substâncias que são extraídas em cada solvente empregado.

RESUMO

Foram avaliados biologicamente, "in vitro", quanto a atividade nematicida ou nematostática contra larvas do 2º estágio de *Meloidogyne incognita* raça 1, 62 extratos de diferentes espécies e partes vegetais obtidos por extração com solventes orgânicos (hexano, clorofórmio e etanol). Foram comparados dois métodos de avaliação da atividade dos extratos e os resultados mostraram que o método de Baermann em siracusa foi mais eficiente do que o de ALAM (1973). Dentre os sessenta e dois extra-

Quadro 3. Efeito nematicida ou nematostático de extratos de diferentes espécies de plantas, na concen tração de 1%, em larvas de 2º estágio de *Meloidogyne incognita* (expresso em %).

Espécie de planta	Parte vegetal	Tipo extrato	% atividade
<i>Tagetes minuta</i>	folha	hexânico	91,6 ^a
<i>Tagetes patula</i>	caule	clorofórmico	89,7
<i>Cassia occidentalis</i>	fruto	etanólico	86,9
<i>Ageratum conyzoides</i>	folha	clorofórmico	85,1
<i>Vernonia polyanthes</i>	caule	hexânico	84,4
<i>Vernonia polyanthes</i>	caule	etanólico	80,9
<i>Vernonia condensata</i>	caule	clorofórmico	70,4
<i>Alomia fastigiata</i>	flores	hexânico	60,1
<i>Vernonia condensata</i>	caule	hexânico	52,8
<i>Tagetes minuta</i>	caule	hexânico	51,4
<i>Tagetes minuta</i>	flores	hexânico	49,6
<i>Tagetes patula</i>	raiz	clorofórmico	48,7
<i>Indigofera hirsuta</i>	raiz	hexânico	44,9
<i>Vernonia condensata</i>	folha	hexânico	40,6
<i>Indigofera hirsuta</i>	raiz	clorofórmico	39,7
<i>Crotalaria spectabilis</i>	raiz	etanólico	39,4
<i>Tagetes patula</i>	folha	hexânico	39,3
<i>Tagetes patula</i>	raiz	hexânico	37,0
<i>Cassia occidentalis</i>	bainha	hexânico	33,3
<i>Cassia occidentalis</i>	raiz	hexânico	33,2
<i>Crotalaria spectabilis</i>	raiz	clorofórmico	32,5
<i>Crotalaria spectabilis</i>	folha	hexânico	29,8
<i>Vernonia polyanthes</i>	folha	hexânico	28,6
<i>Ricinus communis</i>	folha	hexânico	26,4
<i>Tagetes minuta</i>	flores	clorofórmico	24,9
<i>Ambrosia polystachya</i>	caule	hexânico	24,2
<i>Tagetes patula</i>	caule	hexânico	23,6
<i>Vernonia polyanthes</i>	caule	clorofórmico	22,1
<i>Cassia occidentalis</i>	caule	hexânico	21,7
<i>Vernonia condensata</i>	folha	etanólico	20,9
<i>Ageratum conyzoides</i>	folha	etanólico	19,6
<i>Tagetes minuta</i>	flores	etanólico	19,0
<i>Ricinus communis</i>	folha	clorofórmico	19,0

Cont.

Quadro 3. Continuação.

Espécie de planta	Parte vegetal	Tipo extrato	% Atividade
<i>Tagetes minuta</i>	caule	etanólico	19,0 ^a
<i>Vernonia condensata</i>	folha	clorofórmico	18,0
<i>Eragrostis acuminata</i>	raiz	hexânico	17,4
<i>Dolichos lablab</i>	caule	etanólico	17,2
<i>Lupinus albus</i>	semente	etanólico	17,1
<i>Cassia occidentalis</i>	raiz	clorofórmico	16,4
<i>Dolichos lablab</i>	raiz	clorofórmico	16,3
<i>Ricinus communis</i>	semente	hexânico	15,3
<i>Dolichos lablab</i>	caule	clorofórmico	15,1
<i>Eragrostis acuminata</i>	raiz	clorofórmico	15,0
<i>Dolichos lablab</i>	caule	hexânico	14,2
<i>Ricinus communis</i>	semente	etanólico	13,9
<i>Vernonia condensata</i>	caule	etanólico	13,2
<i>Dolichos lablab</i>	raiz	hexânico	12,8
<i>Eragrostis acuminata</i>	raiz	hexânico	11,0
<i>Tagetes minuta</i>	caule	clorofórmico	11,0
<i>Ageratum conyzoides</i>	folha	hexânico	10,3
<i>Ricinus communis</i>	folha	etanólico	10,1
<i>Cassia occidentalis</i>	bainha	clorofórmico	9,8
<i>Tagetes patula</i>	raiz	etanólico	9,6
<i>Dolichos lablab</i>	raiz	etanólico	9,1
<i>Eragrostis acuminata</i>	raiz	etanólico	8,1
<i>Ricinus communis</i>	semente	clorofórmico	8,0
<i>Indigofera hirsuta</i>	raiz	etanólico	6,4
<i>Cassia occidentalis</i>	raiz	etanólico	6,1
<i>Tagetes patula</i>	flores	hexânico	4,7
<i>Lupinus albus</i>	semente	clorofórmico	4,1
<i>Lupinus albus</i>	semente	hexânico	0,0
<i>Crotalaria spectabilis</i>	raiz	hexânico	0,0
Carbofuran			98,3

a. Média de 4 repetições.

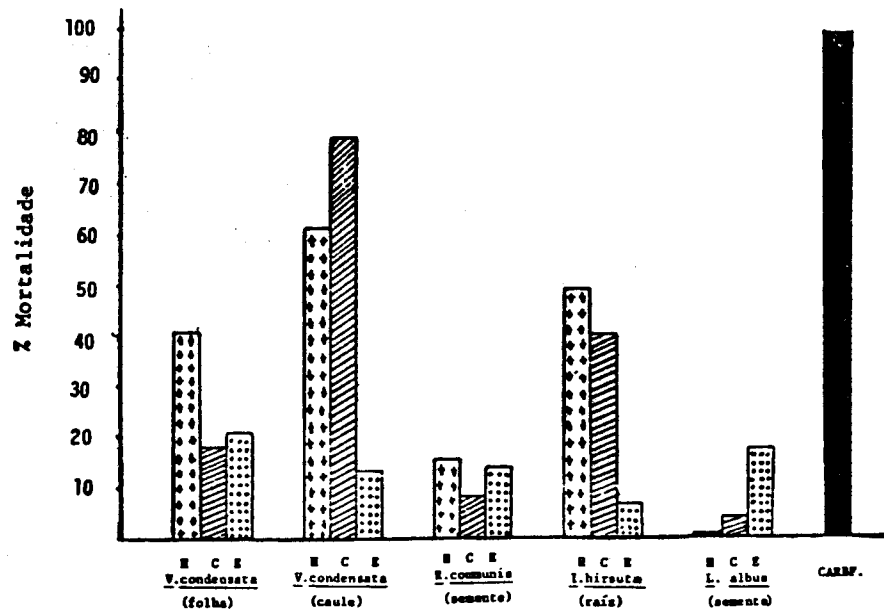


Figura 1. Mortalidade de larvas de 2º estágio de *M. incognita* aos tratamentos com extratos Hexânico (H), Clorofôrmico (C) e Etanólico (E) na concentração de 1%, de folha e caule de *Vernonia condensata*, sementes de *Ricinus communis* e *Lupinus albus*, raiz de *Indigofera hirsuta* e Carbofuran (em %).

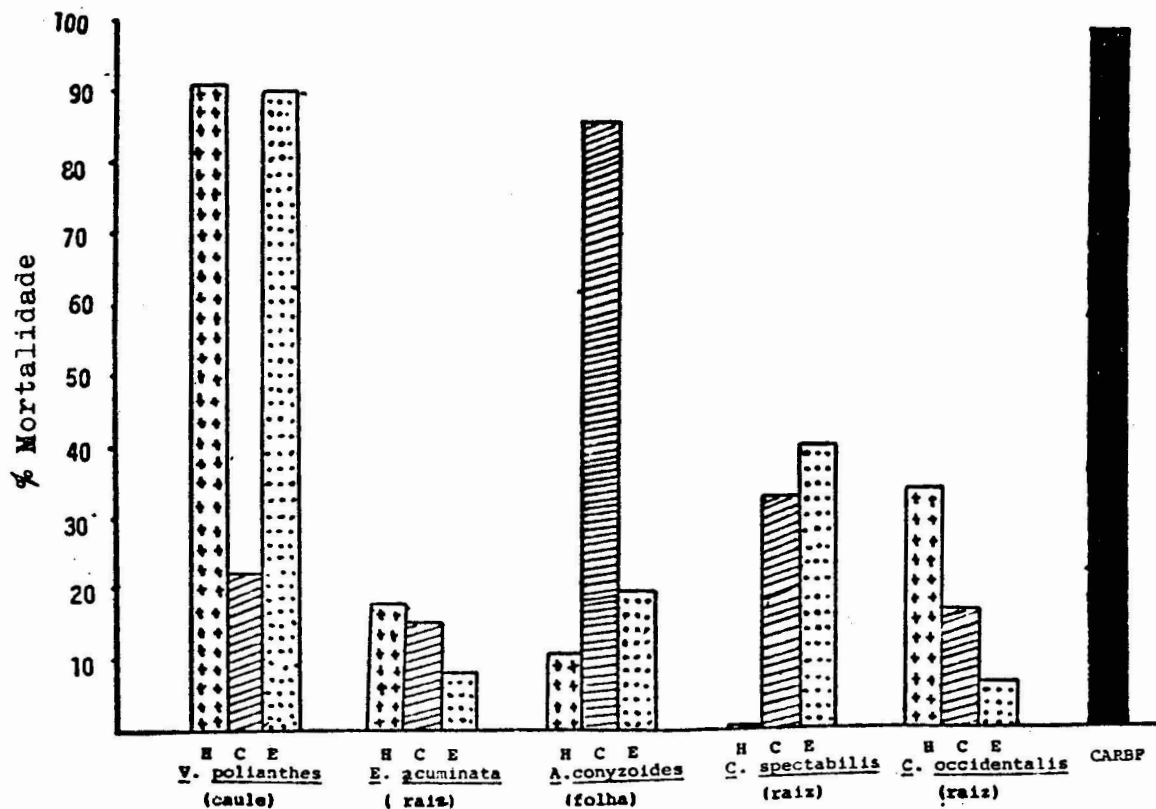


Figura 2. Mortalidade de larvas de 29^o estágio de *M. incognita* aos tratamentos com extratos Hexânico (H), Cloroformico (C) e Etanólico (E) na concentração de 1%, de caule de *Vernonia polyanthes*, raiz de *Eragrostis acuminata*, folha de *Ageratum conyzoides*, raiz de *Crotalaria spectabilis* e *Cassia occidentalis* e Carbofuran (em %).

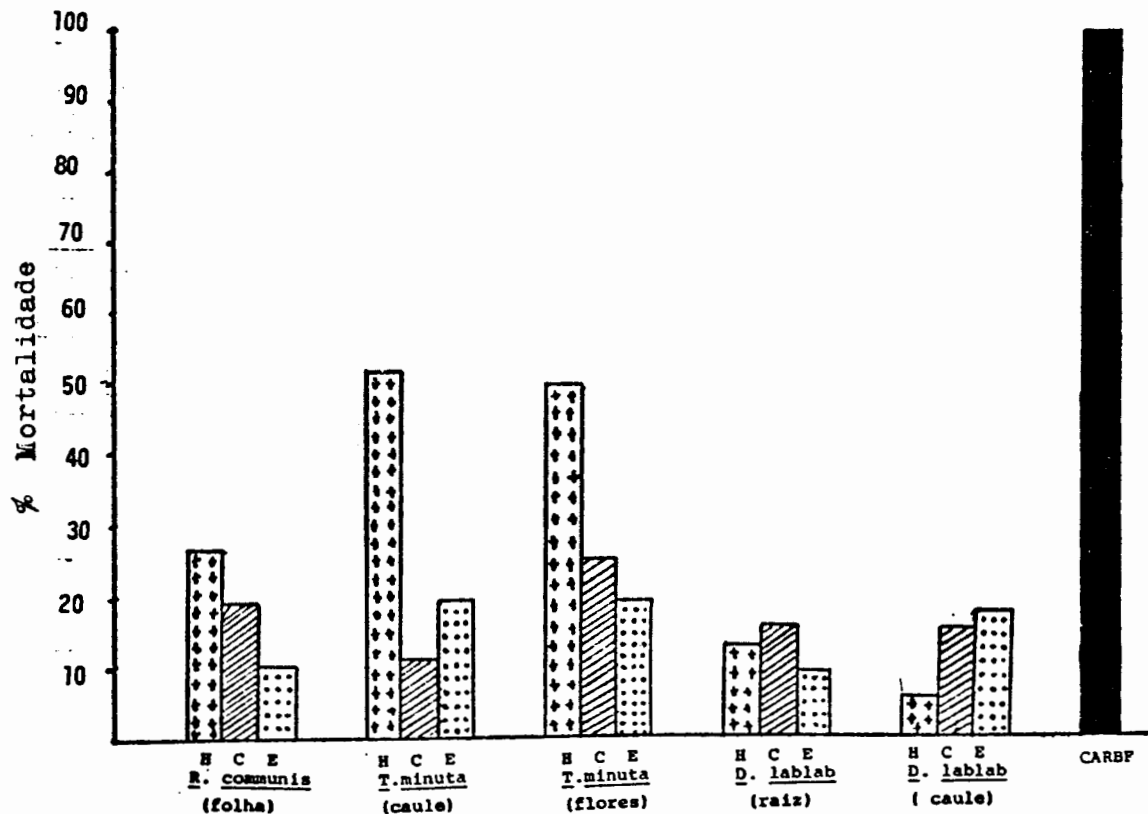


Figura 3. Mortalidade de larvas de 2º estágio de *M. incognita* aos tratamentos com extratos Hexânico (H), Clorofôrmico (C) e Etanólico (E) na concentração de 1%, de folha de *Ricinus communis*, caule de *Tagetes minuta*, flores de *Tagetes minuta*, raiz e caule de *Dolichos lablab* e Carbofuran (em %).

tos avaliados, dez mostraram atividade potencial, sendo: extrato hexânico de folha de *Tagetes minuta*, extrato clorofórmico do caule de *Tagetes patula*, extrato etanólico do fruto de *Cassia occidentalis*, extrato clorofórmico da folha de *Ageratum conyzoides*, extratos hexânico e etanólico do caule de *Vernonia polyanthes*, extratos hexânico e clorofórmico de caule de *Vernonia condensata*, extrato hexânico de flor de *Alomia fastigiata* e extrato hexânico do caule de *Tagetes minuta*.

SUMMARY

NEMATICIDAL ACTION OF FOURTEEN PLANT SPECIES EXTRACTS IN RELATION TO *Meloidogyne incognita* LARVAE

Nematicidal or nematostatical properties of 62 extracts obtained by fractioning different species and plant parts with organic solvents (hexane, chloroform and ethanol) were biologically evaluated, "in vitro", using second stage larvae of *Meloidogyne incognita*. Two evaluation methods were used and the results showed that the Baermann-watch glass technic was more effective than the method proposed by ALAM (1973). Among the sixty-two evaluated extracts, ten of them were potentially active: hexanic extract of leaf of *Tagetes minuta*, chloroformic extract of stem of *Tagetes patula*, ethanolic extract of leaf of *Ageratum conyzoides*, ethanolic and hexanic extracts of stem of *Vernonia polyanthes*, hexanic and chloroformic extracts of stem of *Vernonia condensata*, hexanic extract of flower of *Alomia fastigiata* and hexanic extract of stem of *Tagetes minuta*.

LITERATURA CITADA

- ALAM, M.M.; M.W. KHAN & S.K. SAXENA, 1973. Inhibitory effect of culture filtrates of some rhizosphere of okra on the mortality and larval hatch of certain plant parasitic nematodes. *Indian J. Nematology*, 3: 94-98.
- CHATTERJEE, A. & N.C. SUKUL, 1980. Nematicidal action of three wild plants. *Nematologica*, 26: 500-502.
- COSTA, A.F., 1978. *Farmacognosia* 2ª ed. Lisboa, Fundação Colouste Gulbenkian, vol.2 pp.1032-1076.
- GOMMERS, F.J., 1981. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthological Abstracts. Series B, Plant Nematology*, 50(1): 9-24.
- HOAN, L.T. & R.G. DAVIDE, 1979. Nematicidal properties of root extracts of seventeen plants species on *Meloidogyne incognita*. *Philippine Agriculturist*, 62: 282-295.
- KAWAZU, K.; Y. NISHI; K. ISHII & M. TADA, 1980. A convenient screening method for nematicidal activity. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44(3): 631 - 635.
- KOGIZO, S.; K. WADA & K. MUNAKATA, 1976. Isolation of nematicidal polyacetylened from *Carthamus tinctorius*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 40(10): 2085 - 2089.
- MAHMOOD, I.; A. MASOOD; S.K. SAXENA & S.I. HUSSAIN, 1979. Effect of some plant extracts on the mortality of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. *Acta Botanica Indica*, 7: 129-132.
- MOHAMMAD, H.Y.; S.I. HUSAIN & A.J. AL-ZARARI, 1981. Effect of plant extracts of poisonous plants of Iraq on mortality of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Acta Botanica Indica*, 9: 198-200.
- MUNAKATA, K., 1979. Nematicidal substances from plants. In: GEISSBUHLER, H. *Advances in Pesticides Science*. Oxford, Pergamon Press, v. 2, pp. 295-302.

AGRADECIMENTO

Agradecimento especial ao Pesquisador Dr. João Paulo Feijão Teixeira - Seção de Fitoquímica do I.A.C. - pela permissão do uso dos laboratórios para a execução deste trabalho, bem como pelo apoio técnico e estímulo, durante este período.