

AVALIAÇÃO DE AÇÃO NEMATICIDA DE EXTRATOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DE NEMATÓIDES DAS GALHAS E SUA MANUTENÇÃO *in vitro*.

BIC/CNPq

Ricardo M. Beltrão (BIC-CNPq), Luciana Bavaresco Andrade, Sérgio Echeverrigaray (orientador), Universidade de Caxias do Sul, Instituto de Biotecnologia, Laboratório de Biotecnologia Vegetal e Microbiologia Aplicada. -lordkarras@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* encontram-se dentre as mais importantes pragas agrícolas, afetando um grande número de plantas cultivadas e selvagens. Atualmente as restrições impostas ao uso dos nematicidas tradicionais devido ao seu impacto sobre o meio ambiente tem levado à procura de novas opções, entre as quais o controle biológico e os produtos naturais, principalmente, de origem vegetal. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação nematicida de extratos provenientes diversos vegetais sobre nematóides do gênero *Meloidogyne*. Nas Figuras 1 e 2 mostram uma larva J2 e o aspecto das galhas radiculares formadas por estes nematóides.



Fig.1: Larva infectante (J2)



Fig.2: Galhas, sintoma característico da meloidoginose.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção de populações de nematóides e obtenção de suspensões de ovos- Os nematóides (*Meloidogyne* spp.) foram mantidos sobre plantas de *Lycopersicon esculentum*. Para obtenção de suspensão de ovos foi utilizado o método descrito por (Hussey & Barker, 1973), modificada por Boneti & Ferraz (1981) o qual envolve: retirada de raízes com galhas, maceração, e separação com peneiras de distintas malhas.

Obtenção de extratos aquosos- Os extratos vegetais foram obtidos por infusão por 30 min. de 10g de material fresco em 200ml de água destilada a 100°C. Os extratos avaliados foram: *Tagetes patula* (folhas), *Eucalyptus* sp. (folhas), *Lantana montevidensis* (folhas), *Lantana camara* (folhas), *Senecio brasiliensis* (capítulos), *Chrysanthemum coronarium* (brotos), *Solanum americanum* (folhas), *Solanum pseudocarpicum* (folhas), *Solanum paniculatum* (folhas), *Hovenia dulcis* (folhas), *Melia azedarach* (folhas), *Butia eriostapha* (folhas), *Schinus terebinthifolius* (folhas) e *Cinnamomum camphora* (folhas).

Avaliação de meloidoginose *in vivo*- Em casa de vegetação, em 1,2 kg de terra auto-clavada, foram introduzidos cerca de 3.200 ovos e juvenis de *Meloidogyne* spp, retirados das galhas de *Impatiens balsamina*. Na sequência com 15 ml de extratos vegetais aquosos brutos (5 %). Os extratos vegetais, a partir do extrato bruto, foram diluídos a 1% e irrigados semanalmente 5 ml de extrato em torno das raízes. As plantas forma mantidas em casa de vegetação por 45 dias. Sendo avaliada a quantidade de galhas por planta.

Avaliação de ação de extratos vegetais sobre a mobilidade de larvas J2 de *M. javanica*- Juvenis J2, foram retiradas assepticamente de posturas em galhas de *Cucumis sativus*, mediante solução de NaOH 0.5 %, posteriormente diluída 20 vezes com água destilada autoclavada. Aproximadamente 300 ovos foram inoculados por extrato em placas crescimento num volume final de 2,25 ml de solução de ovos. Após dois dias, as larvas J2 que apresentaram imobilidade foram descartadas. No oitavo dia, as larvas J2 que eclodiram e constaram-se ativas foram selecionadas para o ensaio numa média de 90 larvas por ensaio. Assim 2.25 ul de água com larvas J2, foi adicionado a 2.25 ul de extrato vegetal 5 % nas três repetições por extrato vegetal.

Avaliação de efeito de extratos vegetais sobre a eclosão de ovos de *M. incognita*- Em placas de crescimento com cerca de 100 ovos retirados assepticamente de galhas de plântulas de *Lycopersicon esculentum* mantidas *in vitro*, em volume 1:1 com 750ul (extrato: solução de ovos), procedeu-se o ensaio com extratos aquosos obtidos como descrito anteriormente de espécies vegetais de distintas famílias botânicas.



Fig. 3: Manutenção *in vitro* de nematóides.



Fig. 4 Manutenção de nematóides por propagação de raízes *in vitro*.

Manutenção de nematóides *in vitro* em plântulas de tomateiro- Foi avaliada a multiplicação de *M. incognita* sobre plantas de *Lycopersicon esculentum* mantidas *in vitro* em casca de arroz queimada suplementada com meio MS (Murashige & Skoog, 1962) líquido nas concentrações de: 2; 2.5; 3 e 5 mL/10g.(Fig. 3). Os recipientes foram inoculados com 200, 150 e 100 ovos/10g.

Manutenção de nematóides *in vitro* de raízes transformantes- Foi avaliada a manutenção *in vitro* de *M. incognita* em raízes de *L. esculentum* obtidas pela transformação com *Agrobacterium rhizogenes* (Fig. 4). As raízes foram mantidas em meio MS sólido. Três dias após o repique de fragmentos de raízes em pleno crescimento para meio MS ¼, foram introduzidos cerca de 80 ovos sobre a zona de alongação das raízes, que foram mantidas no escuro em temperatura constante de 26°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o controle da meloidoginose, foi testado *in vitro* a eficiência de extratos vegetais brutos sobre a mobilidade de juvenis J2. Como pode ser apreciado na Fig. 5 A, o extrato de *Senecio brasiliensis* provocou 100% de imobilidade de larvas J2 no segundo dia, seguindo pelos extratos de *Lantana camara* no quinto dia e os de *Chrysanthemum* no oitavo dia. A motilidade de J2 pode ser considerado como indicativo da atividade nematicida. No que diz respeito à eclosão de ovo (Fig. 5 B), os extratos mais eficientes foram aqueles de *Lantana* e *T. patula*, inibindo aproximadamente 80% da eclosão.

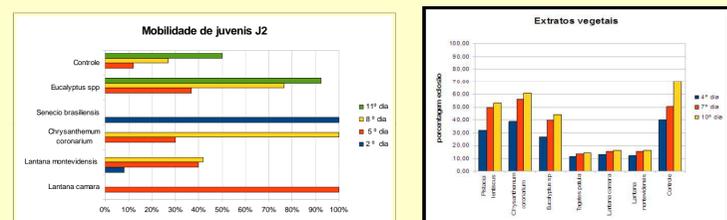


Fig. 5 – Inibição da mobilidade de juvenis J2 (A) e eclosão de ovos (B).

De acordo com a escala de Taylor & Sasser (1998), todos os extratos mostraram efeito inibitório sobre a formação de galhas com posturas de ovo (Tabela 1), indicando efeito dos mesmos sobre ovos, larvas ou ciclo destes nematóides. Dentre os extratos testados, o mais eficiente na redução do número de galhas foi aquele obtido de capítulos florais de *Senecio brasiliensis*.

Tabela 1- Efeito de extratos vegetais sobre a formação de galhas em tomateiros.

Extrato	Nº de galhas p. planta	Padrão escala
<i>Senecio brasiliensis</i>	01	01
<i>Lantana camara</i>	03	02
<i>Lantana montevidensis</i>	06	02
<i>Eucalyptus</i> sp	04	02
<i>Tagetes patula</i>	04	02
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	06	02
Controle	48	04

Na sequência foi avaliado o efeito de outros extratos vegetais sobre a eclosão de ovos. Como pode ser observado na Fig.6, todos os extratos analisados inibiram a eclosão de ovos sendo a maior eficiência obtida com extratos de *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum camphora*, com eclosão inferior a 20% .

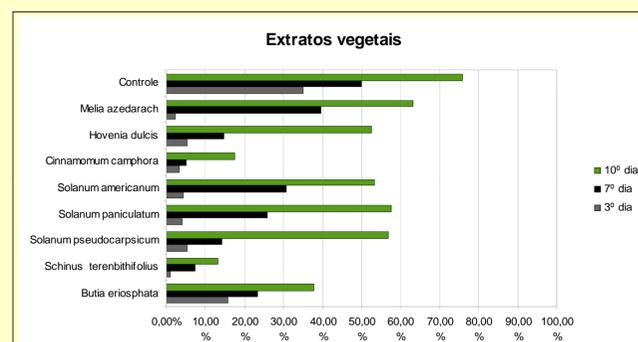


Fig. 6- Inibição da eclosão de ovos

A manutenção de nematóides *in vitro* obteve maior êxito na concentração de 2.5 e 2 ml/10g com 200 ovos apresentando maior aparecimento de galhas com posturas após 40 dias (Fig. 3), além disso, baixos volumes de meio de cultivo levaram a menor crescimento das plântulas e consequentemente, melhor comportamento *in vitro*. Não foi observada relação entre o número de galhas obtidas e o número de ovos inoculados.

INOCULAÇÃO	GALHAS/POSTURAS
200 ovos	36
150 ovos	18
100 ovos	10

Fig :8: Galhas com posturas em cultura *in vitro*.



Com uma média de 05 galhas e 03 posturas por placa, a manutenção de nematóides em placas petri com meio MS ¼, apresentou um ínfimo resultado quanto a seu desenvolvimento *in vitro*, não apresentando-se como meio viável de cultura de nematóides do gênero *Meloidogyne* spp.

Apoio:

