



**CURSO BACHARELADO EM AGRONOMIA**

**Controle alternativo de *Meloidogyne enterolobii* mediante a utilização de extratos de cravo-de-defunto (*Tagetes patula* e *Tagetes erecta*)**

**Lucas Clemente Dias**

**Morrinhos, GO**

**Dezembro, 2022**

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA**  
**INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS MORRINHOS**  
**CURSO BACHARELADO EM AGRONOMIA**

**Controle alternativo de *Meloidogyne enterolobii* mediante a utilização de extratos de cravo-de-defunto (*Tagetes patula* e *Tagetes erecta*)**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Bacharel em Agronomia.**

**Orientador:** Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva

**Morrinhos, GO**  
**Dezembro, 2022**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos**

D541c Dias, Lucas Clemente.

Controle alternativo de *Meloidogyne enterobii* mediante a utilização de extratos de cravo-de-defunto (*Tagetes spp.*). / Lucas Clemente Dias. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2022.

23 f. : il. color.

Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Bacharelado em Agronomia, 2022.

1. Pragas agrícolas - Controle biológico. 2. Nematoda. 3. Nematóide de Galhas. I. Silva, Rodrigo Vieira da. II. Instituto Federal Goiano. III. Título.

CDU 633.491

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

### IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- Tese (doutorado)  
 Dissertação (mestrado)  
 Monografia (especialização)  
 TCC (graduação)

- Artigo científico  
 Capítulo de livro  
 Livro  
 Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Lucas Clemente Dias

Matrícula:

2018104220210201

Título do trabalho:

Controle alternativo de *Meloidogyne enterolobii* mediante a utilização de extratos de cravo-de-defunto (*Tagetes patula* e *Tagetes erecta*)

### RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

gov.br Documento assinado digitalmente  
LUCAS CLEMENTE DIAS  
Data: 20/01/2023 19:59:26-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Morrinhos

Local

20 / 01 / 2023

Data

Ciente e de acordo:

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

RODRIGO VIEIRA DA  
SILVA:02950589600

Assinado de forma digital por RODRIGO VIEIRA  
DA SILVA:02950589600  
Dados: 2023.01.23 16:57:06 -03'00'

Assinatura do(a) orientador(a)

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pela minha vida, saúde e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo desta jornada.

Aos meus pais, Celia Ângela Clemente Dias e Sivaldo Dias de Moraes, que me apoiaram e me deram suporte em todos os momentos necessários.

Agradeço ao Professor Dr. Rodrigo Vieira da Silva, pela orientação e todo conhecimento agregado a mim. As pessoas que me prestaram apoio e incentivo desde o início, faço questão de destacar Edson Clemente de Jesus.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos e todos seus representantes, pela qualidade do trabalho prestado.

## SUMÁRIO

Lista de tabelas-----	5
Lista de figuras-----	6
Resumo-----	7
Abstract-----	8
Introdução-----	9
Objetivo geral-----	12
Objetivos específicos-----	12
Material e métodos-----	12
Obtenção e multiplicação do inóculo de <i>M. enterolobii</i> -----	12
Obtenção dos extratos de <i>Tagetes</i> -----	13
Instalação do ensaio <i>in vitro</i> -----	14
Delineamento experimental-----	15
Avaliação do ensaio de mortalidade-----	15
Resultados e discussão-----	16
Conclusão-----	20
Referências bibliográficas-----	20
Anexos-----	23

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Tratamentos e concentrações para análise com extratos aquosos de cravo –de-defunto *Tagetes patula* e *T. erecta*.

**Tabela 2.** Valores médios de eclosão de *Meloidogyne enterolobii* no teste *in vitro* com aplicação de diferentes doses de extratos de *Tagetes patula* e *T. erecta*, após cinco dias de incubação.

**Tabela 3.** Resumo ANOVA da variável juvenil de segundo estágio (J2) mortos no ensaio *in vitro* com aplicação de extratos de *Tagetes patula* e *T. erecta*, após cinco dias de incubação, realizado no Laboratório de Nematologia Agrícola.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Ciclo de vida do fitonematoide do gênero *Meloidogyne*.

**Figura 2.** Inóculo de *M. enterolobii* em muda de jiloeiro.

**Figura 3.** A. Material vegetal da parte aérea de *T. erecta*. B. Material vegetal da parte aérea de *T. patula* secos em estufa. C. Extratos etanólico das duas espécies de plantas.  
Fonte: Dias, 2022.

**Figura 4.** A. Dosagem com pipeta automática do extrato de *T. erecta*. B. Dosagem com pipeta automática do extrato de *T. patula*. C. Montagem do experimento adicionando as concentrações no tubo falcon.

**Figura 5.** Tubos de falcon onde foi realizado o ensaio de eclosão *in vitro* de *Meloidogyne enterolobii* e os respectivos tratamentos.

**Figura 6.** Quantificação dos nematoides em microscópio fotônico na ampliação de 100 x. Contagem de ovos (seta azul) e J2 viáveis e mortos (seta vermelha).

**Figura 7.** Regressão linear referente aos valores do percentual de redução de eclosão em função dos tratamentos utilizados.

**Figura 8.** A. Planta de *Tagetes patula*. B. Planta de *Tagetes erecta*.

## RESUMO

Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne* são os mais importantes na agricultura mundial. A espécie *M. enterolobii* é considerada preocupante por ser emergente e apresentar alta capacidade reprodutiva e agressividade. Portanto, necessita-se de estudos de métodos de controle eficazes para controlar esse patógeno. Logo, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eclosão de juvenis de segundo estágio de *M. enterolobii* mediante a utilização de extrato de folhas e flores de *Tagetes patula* e *T. erecta*. O experimento foi realizado em condições de laboratório utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos e cinco repetições. O ensaio foi realizado em tubos de ensaio contendo 350 ovos mL<sup>-1</sup> de *M. enterolobii* e foram utilizados os extratos de folhas e flores de *Tagetes patula* e *T. erecta* nas concentrações de 0,16, 32, 64, 80 e 100 µL<sup>-1</sup>. Os juvenis eclodidos (J2) e os ovos remanescentes foram quantificados após cinco dias de incubação, com o auxílio de um microscópio fotônico, no aumento de 100 X. As análises dos dados foram realizadas no programa Sisvar pelo Teste de Scott- knott a 5% de probabilidade. As concentrações do extrato de *T. patula* de maior destaque foram as de 100 e 16 µL<sup>-1</sup> causando redução da taxa de eclosão 53,06 e 48,97%, respectivamente. Em relação ao extrato de *T. erecta* as melhores concentrações foram as de 64 e 80 µL<sup>-1</sup>, reduzindo a eclosão em 71,42 e 61,22%, respectivamente. Com base nos resultados verificou-se que ambos os extratos de *T. patula* e *T. erecta* possuem potencial para serem utilizados como nematicidas para o controle de *M. enterolobii*.

**Palavras-Chave:** nematoide de galhas; controle alternativo; nematicida, fitonematoide;

## ABSTRACT

The phytonematodes of the genus *Meloidogyne* are the most important in world agriculture. The species *M. enterolobii* is considered worrying because it is emergent and has high reproductive capacity and aggressiveness. Therefore, studies of effective control methods are needed to control this pathogen. Therefore, the objective of this work was to evaluate the hatching of second-stage juveniles of *M. enterolobii* using leaf and flower extracts of *Tagetes patula* and *T. erecta*. The experiment was carried out at the Agricultural Nematology laboratory of the Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, using a completely randomized design, with ten treatments and five replications. The assay was carried out in test tubes containing 350 eggs mL<sup>-1</sup> of *M. enterolobii* and leaf and flower extracts of *Tagetes patula* and *T. erecta* were used at concentrations of 0.16, 32, 64, 80 and 100 µL<sup>-1</sup>. The hatched juveniles (J2) and the remaining eggs were quantified after five days of incubation, with the aid of a photonic microscope, at a magnification of 100X. Data analysis was performed using the Sisvar program by the Scott-Knott Test at 5 % probability. The most prominent concentrations of the *T. patula* extract were 100 and 16 µL<sup>-1</sup>, causing a reduction in the hatching rate of 53.06 and 48.97%, respectively. Regarding the *T. erecta* extract, the highlighted concentrations were 64 and 80 µL<sup>-1</sup>, reducing hatching by 71.42 and 61.22%, respectively. Based on the results, it was verified that both *T. patula* and *T. erecta* extracts have the potential to be used as nematicides to control *M. enterolobii*.

**Keywords:** root-knot nematodes; alternative control; fitonematode.

## INTRODUÇÃO

Os nematoides são animais invertebrados capazes de sobreviver em diversos habitats, principalmente em locais úmidos e aquáticos. Esses vermes cilíndricos e filiformes pertencem ao filo Nematoda. Possuem coloração praticamente transparente e se locomovem contraindo e expandindo o corpo de modo serpentiforme. Quanto a sua classificação ocorre de acordo com os hábitos alimentares e são divididos em nematoides de vida livre e parasitas de animais e plantas (ZHANG et al., 2020; CONCEIÇÃO, 2019).

Os nematoides adaptados em parasitar plantas são chamados de fitonematoides e correspondem a cerca de 10% do filo. Estes apresentam o tamanho de 0,2 a 3mm de comprimento e a principal característica que diferencia o fitonematoide dos demais é a presença do estilete, órgão responsável pelo parasitismo das plantas. Os mesmos causam bastante prejuízos na agricultura mundial, pois parasitam raízes de plantas, caules, parte aérea, frutos e sementes, reduzindo a qualidade e produtividade dos produtos (VIEIRA & GLEASON, 2019).

Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne* representam o grupo de maior importância na agricultura mundial (SAUCET et al., 2016). O gênero *Meloidogyne* foi descrito por Emílio Goeldi em 1887 e faz parte da classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina e família Meloidogynidae. Foi observado pela primeira vez como causa de prejuízo econômico no Brasil em 1877 por C. Jobert, ao observar uma grave doença que causava o engrossamento de raízes de cafeeiro e declínio de produtividade, no estado do Rio de Janeiro (FERRAZ & MONTEIRO, 1995).

Os nematoides de galhas são caracterizados por terem ampla disseminação e distribuição no mundo, devido sua alta capacidade de adaptação em diversos tipos de clima e solo. O gênero *Meloidogyne* parasita plantas anuais, perenes, monocotiledôneas e dicotiledôneas. Além disso, podem causar queda de produção em espécies de grande importância agrônômica como grãos, frutíferas, hortaliças e plantas ornamentais (MATTOS et al., 2017).

Eles são responsáveis por causar tumores em raízes, ou seja, galhas radiculares, causando prejuízo em muitas plantas cultivadas. Devido ao seu sintoma, eles são chamados popularmente por nematoide de galhas e as espécies mais prejudiciais no Brasil são *M. javanica*, *M. incognita* e *M. enterolobii* (SAUCET et al., 2016).

Quanto ao seu ciclo de vida, este se inicia quando a fêmea deposita seus ovos em uma matriz gelatinosa que os protege. A seguir, inicia-se o desenvolvimento do ovo, formando o juvenil em seu interior, fase denominada de primeiro estágio juvenil (J1). A

primeira ecdise ocorre dentro do ovo e o juvenil de segundo estágio J2 emerge. O J2 é responsável por infectar a planta, pois é atraído por exsudatos radiculares das raízes. Quando o J2 penetra nas raízes, se locomove entre as células indiferenciadas e se fixa para se alimentar, puncionando seu estilete sobre a parede celular e injetando secreções de suas glândulas esofagianas. Isso promove o aumento das taxas de divisão celular causando o aumento das células, originando as galhas (XIANG; LAWRENCE; DONALD, 2018).



**Figura 1.** Ciclo de vida do fitonematoide do gênero *Meloidogyne*. Fonte: Lopes (2017).

A espécie *M. enterolobii* foi relatada pela primeira vez no início do século XXI, causando prejuízos em goiabeira no estado da Bahia, (CARNEIRO et al., 2001). Posteriormente, esta espécie foi diagnosticada em várias regiões do Brasil, causando grandes prejuízos em frutíferas e hortaliças cultivadas. Seu parasitismo causa grandes distúrbios fisiológicos nas plantas, prejudicando o transporte de água e nutrientes na parte aérea. Quando ocorre a infecção de *M. enterolobii* na planta há a formação de galhas, consequência da hiperplasia e hipertrofia nas células, ocasionando plantas raquíticas, amareladas e menos produtivas (PINHEIRO et al., 2018). Essa espécie é considerada preocupante quando comparada com as demais espécies de *Meloidogyne*, por apresentar

maior capacidade reprodutiva e ser mais agressiva. Esta espécie também apresenta virulência contra diversas fontes de resistência utilizadas no melhoramento genético contra nematoides de galhas (BRITO et al., 2007).

Para controlar *Meloidogyne* geralmente utiliza-se o controle químico. Porém, esse método de controle tem se tornado reduzido devido aos riscos causados ao homem e ao meio ambiente por contaminação. Logo, tem se tornado cada vez mais frequente a busca por medidas de controle alternativas para diminuir e suprimir a população desses patógenos no solo (GONÇALVES et al., 2016).

Uma das maneiras mais eficazes em reduzir e controlar fitonematoides é a prevenção, para evitar a entrada desses patógenos nas áreas de cultivo. Essa forma de manejo é importante, pois após a entrada na área é muito difícil erradicar completamente os nematoides de galhas. Assim, tem-se buscado realizar pesquisas de novos métodos de controle para causar a supressão da densidade populacional desses nematoides na área (MOREIRA; FERREIRA, 2015).

Buscando novas alternativas de controle, o extrato de plantas tem se tornado uma ferramenta para o manejo integrado de nematoides. Eles são eficientes para reduzir os nematoides e são uma ótima opção para os produtores rurais e horticultores que possuem pouco acesso a tecnologias. As plantas antagonistas apresentam-se como aliadas no controle de fitonematoides e são muito utilizadas em rotação de cultura e também possuem grande potencial para serem utilizadas como extrato de plantas (GUIMARÃES et al., 2021).

O *Tagetes*, popularmente conhecido como cravo-de-defunto ou calêndula, tem sido muito utilizado em rotação de culturas, consórcio e aplicação de extratos aquosos no controle de nematoides. As espécies mais utilizadas são *Tagetes patula*, *T. erecta* e *T. minuta*. Sua forma de controle sobre os fitonematoides podem ocorrer de diversas formas. Essa planta é capaz de produzir substâncias tóxicas de efeito nematicida e podem liberar exsudatos pelas raízes que são capazes de inibir a eclosão e afetar a mobilidade dos fitonematoides no solo (CRUZ et al., 2021).

Devido à importância do *M. enterolobii* na agricultura e a dificuldade de controle, são necessários novos estudos sobre estratégias para mitigar os prejuízos causados por este fitonematoide. Em razão do *Tagetes* spp. apresentar grande potencial nematicida, a principal finalidade deste trabalho foi buscar alternativas de controle utilizando o extrato dessa planta para inibir a eclosão de juvenis de segundo estágio de *M. enterolobii*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente de trabalho foi avaliar *in vitro* o controle alternativo de *Meloidogyne enterolobii* mediante a utilização de extrato de cravo-de-defunto (*Tagetes patula* e *T. erecta*).

### 2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Analisar o efeito de *T. patula* e *T. erecta* sobre a eclosão de *M. enterolobii in vitro*.
- ✓ Selecionar a espécie de *Tagetes* e concentrações mais efetivas para o controle do nematoide.
- ✓ Gerar informações técnicas para orientar futuros estudos *in vivo* para o controle de *M. enterolobii* com o cravo de defunto.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de fitonematologia no Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos.

### 3.1. Obtenção e multiplicação do inóculo de *M. enterolobii*

A população de *M. enterolobii* utilizada nos experimentos foi obtida a partir de uma única massa de ovos e multiplicação do nematoide em mudas de jiloeiro (*Solanum gilo*), em casa de vegetação durante 60 dias. Após este período, os ovos foram extraídos segundo o método de Boneti & Ferraz (1981), que consiste no corte das raízes em fragmentos de 1 centímetros, seguido da sua trituração no liquidificador com 200 mL de solução de NaOcl 0,5 % durante 20 segundos, e depois passar pelas peneiras de 200 e 500 mesh, respectivamente. A concentração do inóculo será calibrada para 1.000 ovos/mL com auxílio de câmara de Peter sob microscópio fotônico no aumento de 100 X.



**Figura 2.** Muda de jiloeiro onde foi multiplicado o inóculo de *Meloidogyne enterolobii*. Fonte: Dias, 2022.

### 3.2. Obtenção dos extratos de *Tagetes*

O material vegetal, folhas e flores de duas espécies: *Tagetes erecta* e *T. patula* foi levado para o laboratório de Nematologia e realizado a higienização e separação das espécies para adicionar na estufa. Em seguida foi colocado em estufa de circulação forçada de ar para secagem das amostras por 48 horas, a uma temperatura de 40°C. O material seco foi triturado em um moinho de facas e armazenado em saquinhos plásticos devidamente identificados. Para obtenção dos extratos, o pó vegetal foi vertido em um Erlenmeyer com capacidade para 1 litro e adicionado 500 mL de etanol 95% e mantido em descanso por sete dias (FERRIS & ZENG 1999). Após esse período, a solução foi filtrada e vertida em um balão de vidro e transferida para um evaporador rotativo à temperatura de 55 °C com etanol e, por fim, acondicionado em tubo de vidro por mais sete dias até a evaporação total do etanol.



**Figura 3.** A. Material vegetal da parte aérea de *T. erecta*. B. Material vegetal da parte aérea de *T. patula* secos em estufa. C. Extratos etanólico das duas espécies de plantas. Fonte: Dias, 2022.

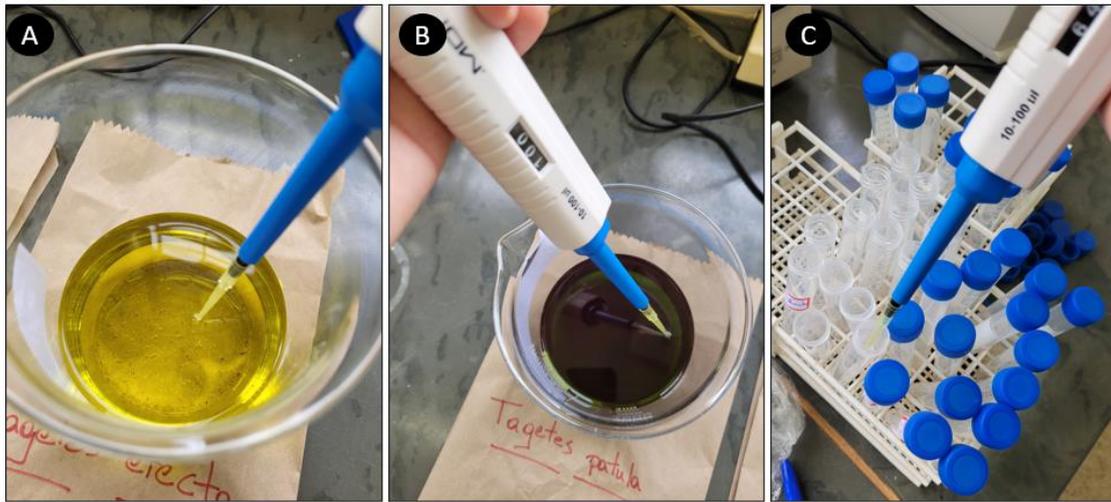
### 3.3. Instalação do ensaio *in vitro*

Para as análises *in vitro*, foram utilizados os extratos etanólicos das duas espécies de *Tagetes* nas concentrações de 16, 32, 64, 80 e 100  $\mu\text{L}^{-1}$  (Tabela 1). Para determinação das doses utilizadas no experimento foram realizados pré-teste.

Mediante a utilização de uma micropipeta, as concentrações de extrato aquoso de cravo-de-defunto, foi calibrada uma suspensão para 350 ovos  $\text{mL}^{-1}$  e posteriormente, a mesma foi colocada em tubos de ensaio (15mL). Logo após, os tubos foram armazenados na incubadora B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a uma temperatura de 26°C, por um período de cinco dias.

**Tabela 1.** Descrição dos tratamentos e concentrações para a avaliação dos extratos aquosos de cravo-de-defunto *Tagetes patula* e *T. erecta*.

Tratamentos	concentração dos extratos
T0	Controle (água)
T1	16 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>
T2	32 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>
T3	64 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>
T4	80 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>
T5	100 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>
T6	16 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes erecta</i>
T7	32 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes erecta</i>
T8	64 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes erecta</i>
T9	80 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes erecta</i>
T10	100 $\mu\text{L}^{-1}$ de extrato aquoso de <i>Tagetes erecta</i>



**Figura 4:** A. Dosagem com pipeta automática do extrato de *T. erecta*. B. Dosagem com pipeta automática do extrato de *T. patula*. C. Montagem do experimento adicionando as concentrações no tubo falcon. Fonte: Dias, 2022.

### 3.4. Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 10 tratamentos e cinco repetições. As análises dos dados foram realizadas pelo uso do Teste de Scott- Knot a 5% de probabilidade com auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

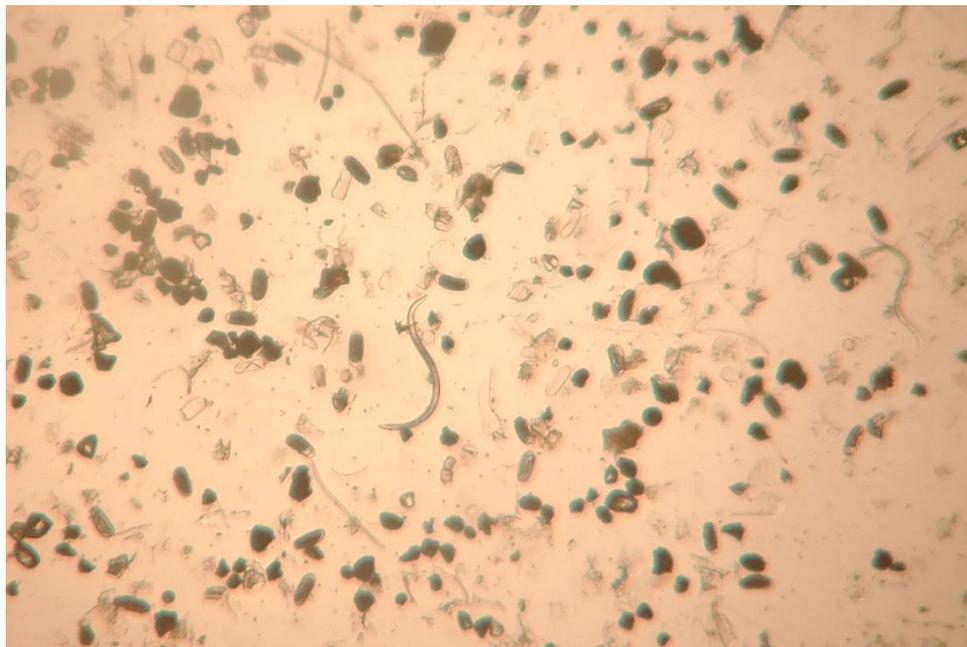


**Figura 5.** Tubos de falcon onde foi realizado o ensaio de eclosão *in vitro* de *Meloidogyne enterolobii* e os respectivos tratamentos. Fonte: Dias, 2022.

### 3.5. Avaliação do ensaio de mortalidade

Os juvenis eclodidos e os ovos de *M. enterolobii* remanescentes foram quantificados em uma câmara de Peters com o auxílio de um microscópio fotônico a um aumento de 100 X, após cinco dias de incubação. Foram considerados os J2 que permaneceram que eclodiram mortos e viáveis. A taxa de redução de eclosão dos J2 de *M. enterolobii* foi determinada utilizando a seguinte equação:

- $N^{\circ}$  de J2 mortos (tratamento) / J2 mortos do controle x 100



**Figura 6.** Quantificação dos nematoides em microscópio fotônico na ampliação de 100 x. Contagem de ovos (seta azul) e J2 viáveis e mortos (seta vermelha). Fonte: Dias, 2022.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

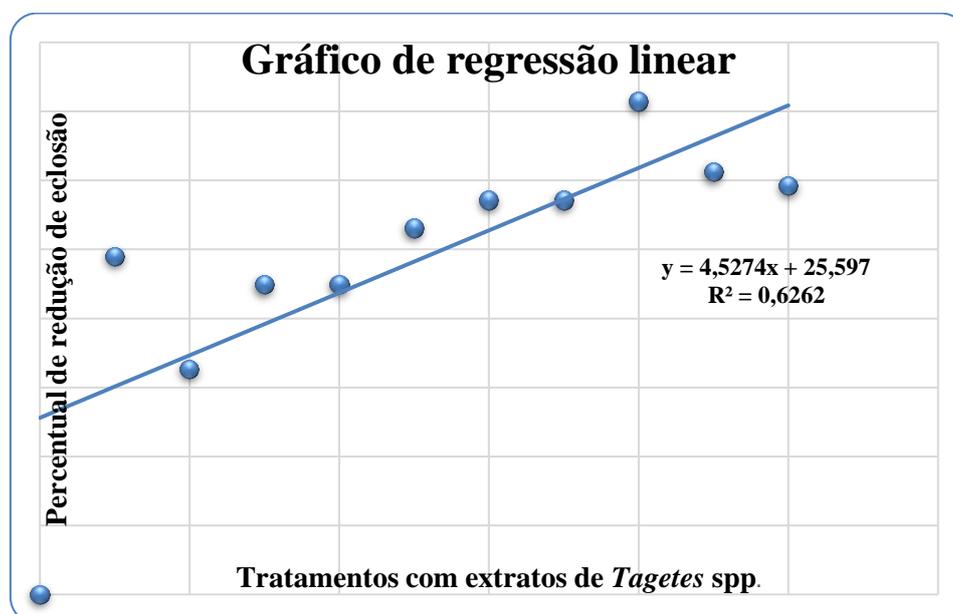
A análise de variância foi significativa indicando diferenças entre os tratamentos, assim foi aplicado o teste de médias de Scott-knott 5% de significância. Os valores médios da taxa de eclosão dos juvenis de segundo estágio (J2) de *M. enterolobii* e cálculo de redução de eclosão estão descritos na tabela 2. Por meio da análise de dados, foi possível verificar que as concentrações de extrato de *T. patula* e *T. erecta* (16, 32, 64, 80 e 100  $\mu\text{L}^{-1}$ ) apresentaram efeito positivo, reduzindo a taxa de eclosão dos J2, quando comparadas com o tratamento controle (água destilada). Também ocorreu diferença estatística entre os extratos de *T. erecta* em todas as concentrações, onde foram observadas maiores médias quando comparado com os extratos de *T. patula*.

Quanto ao extrato da espécie *T. patula*, as concentrações de maior destaque foram as de 100 e 16  $\mu\text{L}^{-1}$  causando redução da taxa de eclosão 53,06 e 48,97%, respectivamente. Em relação ao extrato de *T. erecta* as concentrações destaques foram as de 64 e 80  $\mu\text{L}^{-1}$ , reduzindo a eclosão em 71,42 e 61,22%, respectivamente.

**Tabela 2.** Valores médios de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne enterolobii* *in vitro* com aplicação de diferentes concentrações de extratos de *Tagetes patula* e *T. erecta*, após cinco dias de incubação.

Tratamentos	Médias de eclosão %	% Redução de eclosão
T0 Controle (água destilada)	39,20c	0%
T1 (16 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. patula</i> )	20,00b	48,97%
T2 (32 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. patula</i> )	26,40b	32,65%
T3 (64 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. patula</i> )	21,60b	44,89%
T4 (80 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. patula</i> )	21,60b	44,89%
T5 (100 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. patula</i> )	20,80b	53,06%
T6 (16 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. erecta</i> )	16,80a	57,14%
T7 (32 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. erecta</i> )	16,80a	57,14%
T8 (64 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. erecta</i> )	11,20a	71,42%
T9 (80 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. erecta</i> )	15,20a	61,22%
T10 (100 $\mu\text{L}^{-1}$ <i>T. erecta</i> )	16,00a	59,19%
CV (%)	31,38%	-

CV = Coeficiente de Variação. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-knott.



**Figura 7.** Regressão linear referente aos valores do percentual de redução de eclosão em função dos tratamentos utilizados.

Por meio da análise do gráfico 1, de regressão linear, verificou-se uma relação positiva entre as variáveis analisadas. É possível observar que nos tratamentos com *T. erecta* houve um maior percentual de redução de eclosão, independentemente da dose utilizada, quando comparada com o extrato de *T. patula*, que obteve um menor percentual de redução de eclosão.

No tratamento controle contendo apenas água destilada, não houve eclosão de todos os J2, mesmo não contendo nenhum composto para causar redução da eclosão. A não eclosão de todos os juvenis do tratamento controle com apenas água é normal, uma vez que nem todos os juvenis eclodem, mesmo em condição ideal. Além disso, pode ter relação provavelmente com a alteração do ambiente, temperatura e mudança de habitat natural, deixando-os com baixa atividade metabólica e levando mais tempo para que ocorra a eclosão (SILVA, 2020).

Os extratos etanólicos de folhas e flores das duas espécies de *Tagetes* estudadas no presente trabalho apresentaram resultados positivos em reduzir a taxa de eclosão de *M. enterolobii*. Tal fato provavelmente está relacionado aos compostos com atividade nematicida presentes nas plantas. Há relatos de que *Tagetes* produz um metabólito secundário denominado de alfa-terteinil, responsável por causar a redução de fitonematoides e inibir da eclosão dos juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. (DUTTA; KHAN; PHANI, 2019). Segundo Moreira e Ferreira (2015) a presença de princípios ativos com ação nematicida contida na parte aérea *Tagetes* spp. podem acelerar o processo de inibição de eclosão e acelerar a morte de juvenis.

Os tratamentos com extratos de *T. patula* se mostraram promissores quanto à inibição de eclosão. Em pesquisa realizada por Franzener et al. (2007), foi observado que o extrato aquoso de *T. patula* reduziu em 62,2% o número de galhas, 61,5% o número de juvenis no solo e 52,8% o número de ovos de *M. incognita* nas raízes em plantas de tomateiro. Tais resultados corroboram com essa pesquisa, pois demonstram que o extrato na concentração de 100  $\mu\text{L}^{-1}$  possui resultado positivo para redução de eclosão de juvenis de *Meloidogyne enterolobii* reduzindo em 53,06%.

O tratamento com extrato *T. erecta* na concentração de 64  $\mu\text{L}^{-1}$  apresentou efeito positivo na inibição de eclosão de *M. enterolobii*, reduzindo em 71,42% a eclosão dos J2. Estes resultados podem estar relacionados à substância presente nas flores, caules e folhas de *T. erecta*, denominada de tiofeno, que é um importante larvicida, nematicida e inseticida (VEDAM; XAVIER; DAVID, 2019).

Os resultados positivos para o extrato de *T. erecta*, demonstram que essa espécie possui alto potencial como substância nematicida. Em estudo realizado por Ali, El-Ashry e Ramadan (2018), o extrato de *T. erecta* na concentração de 100  $\mu\text{L}^{-1}$  foi capaz de reduzir em 91,43% a taxa de eclosão de J2 de *M. incognita*, após cinco dias de incubação. Além disso, os autores ressaltam que o extrato de *T. erecta* na mesma concentração, causa a mortalidade de J2 em 75,60%. Esses resultados corroboram com os encontrados no presente trabalho, indicando a eficácia do extrato de *T. erecta* na inibição de eclosão e J2 do gênero *Meloidogyne*.

As espécies mais utilizadas no controle de nematoides são *Tagetes patula* e *T. erecta*. Esse mesmo estudo diz que o *T. patula* apresenta melhor controle de nematoides quando comparada com as outras espécies (GRUBISIC et al., 2018). Essa afirmação diverge dos encontrados nesse trabalho, porque o *T. erecta* apresentou redução de 71,42% na eclosão de juvenis de *M. javanica*. Esse fato pode ser explicado devido ao *Tagetes* poder ser utilizado de diversas formas, tendo diferentes efeitos de acordo da parte da planta ou a forma que esta foi utilizada.

Segundo Grubisic et al. (2018) a espécie *T. patula* quando utilizado em rotação de cultura ou em consórcio é considerado bastante eficaz em suprimir *Pratylenchus pratensis*, *Pratylenchus penetrans*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*. Por outro lado, o *T. erecta* não deixa que os juvenis de *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* se desenvolverem completamente nas raízes. Essas informações possuem relação com os resultados apresentados neste trabalho, pois confirmam que as plantas de *T. patula* e *T. erecta* podem apresentar diferentes resultados dependendo da espécie de fitonematoide em questão. Portanto, são necessários estudos do efeito nematicida dessa planta em *M. enterolobii*. Além disso, um problema enfrentado com *Tagetes* é o alto valor das sementes e quando semeada como planta de cobertura pode se tornar uma futura planta daninha em plantios futuros, devido a isso têm-se indicado aplicar os extratos de *T. erecta* para evitar a competição dessa planta com a cultura (NATARAJAN et al., 2006).

Além da substância nematicida de alfa-terteinil contida na planta de *Tagetes*, estudo da análise fitoquímica de extrato vegetal dessa planta, também foi verificado alto teor de alcaloides, terpenoides, flavonoides, fenóis, saponinas, taninos e coumarinas, substâncias essas que conhecidas por possuir atividade nematicida (ALI; EL-ASHRY; RAMADAN, 2018). Essas substâncias também são encontradas em plantas do cerrado brasileiro que possuem potencial como nematicidas., a exemplo o marmelinho (*Cordia*

*sessilis*) que em teste *in vitro* causou 95% de mortalidade de J2 de *M. javanica*. Estes resultados deste trabalho corroboram com os resultados encontrados em nosso trabalho, devido a presença de substâncias com potencial nematicida.

As plantas do gênero *Tagetes* spp., ou simplesmente cravo-de-defunto, são um dos gêneros vegetais mais estudados devido ao seu potencial alelopático contra fitonematoides. O impacto negativo sobre a reprodução os nematoides dos cravos-de-defunto têm sido documentados desde a década de 30 do século passado (STEINER, 1941). Trabalho realizado por Tyler (1938) relatou que 29 variedades de cravo-de-defunto eram resistentes aos nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. No entanto, sobre *M. enterolobii* as pesquisas com esta planta ainda são escassas. Portanto, o presente trabalho traz as primeiras informações sobre o efeito de *Tagetes* spp. na eclosão de *M. enterolobii*. Vale ressaltar que este se destaca por ser um importante nematoide que é emergente no Brasil e em várias partes do mundo.

As informações geradas neste trabalho servirão de base para estudos *in vivo* envolvendo o uso de *Tagetes* no controle de *M. enterolobii*. Estes estudos estão sendo realizados no Laboratório de Nematologia Agrícola do IF Goiano – Campus Morrinhos sob a orientação do professor Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

## 5. CONCLUSÃO

Verificou-se que ambos os extratos de *T. patula* e *T. erecta* possuem potencial para serem utilizados como nematicidas em *Meloidogyne enterolobii*. A concentração de  $64 \mu\text{L}^{-1}$  *T. erecta* obteve destaque, reduzindo em 71,42% a eclosão de *M. enterolobii*.

Estudos em condições *in vivo* em casa de vegetação serão realizados para comprovar a eficiência de *Tagetes* em controlar *M. enterolobii*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, A. A.; EL-ASHRY, R. M.; RAMADAN, M. M. Análise fitoquímica de alguns extratos aquosos de folhas e sua atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita* em pimenta. **Jornal Acadêmico Egípcio de Ciências Biológicas, F. Toxicologia e Controle de Pragas**, 2: 133-151, 2018.

BRITO, J.A.; STANLEY, J.D.; KAUR R.; CETINTAS, R.; DI VITO, M.; THIES, J.A.; DICKSON, D.W. Efeitos dos genes *Mi-1*, *N* e *Tabasco* na infecção e reprodução de *Meloidogyne mayaguensis* em genótipos de tomate e pimentão. **Revista de Nematologia**, 39 :327-332, 2007.

CARNEIRO, RG; MOREIRA, WA; ALMEIDA, MRA; GOMES, ACMM. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, 25:223-228, 2001.

CONCEIÇÃO, A. D. P. **Ação de extratos vegetais no controle in vitro de nematoides das galhas**. 1-39, 2019.

CRUZ, A. S. et al. **Desenvolvimento de compostos orgânicos supressivos aos nematoides**. 1-36, 2021.

DUTTA, T. K.; KHAN, M. R.; FANI, V. Manejo de nematoides fitoparasitários via biofumigação usando plantas brássicas e não-brássicas: Situação atual e perspectivas futuras. **Atual biologia vegetal**, 17: 17-32, 2019.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A.S.; STANGARLIN, J.R.; FURLANETTO, C.; SCHWANESTRADA, K.R.F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, 31: 1, 27-36, 2007.

FERRAZ, L. C. C. B. AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; ERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda, 1: 194 – 214, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**, 38: 2, 109-112, 2011.

GONÇALVES, F. J. T. et al. Atividade antagonista do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 18: 149-156, 2016.

GRUBISIC, D. et al. Controle de nematóides pelo uso de plantas antagonistas. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, 83: 4, 269-275, 2018.

GUIMARÃES, N. N. et al. Potencial de extratos de plantas e manipueira no controle de *Meloidogyne javanica* em jiloeiro. **Holos**, 8: 1-15, 2021.

MATTOS, V.D.S. et al. Caracterização de um Complexo de Espécies do Nematóide das Galhas Parasitando Arroz Irrigado na Região Sul do Brasil. **Embrapa, Boletim de pesquisa e desenvolvimento** 331: 1-30, 2017.

MINHO, A. P.; GASPAR, E. B.; DOMINGUES, R. Guia prático para determinação de curva dose-resposta e concentração letal em bioensaios com extratos vegetais. **EMBRAPA**, 1-9, 2016.

Moreira, FJC, & Ferreira, ACS. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne enterolobii*) com cravo defunto (*Tagetes patula* L.), incorporado ao solo. **Holos**, 31: 99-110, 2015.

NATARAJAN N., CORK A., BOOMATHI N., PANDI R., VELAVAN S., DHAKSHNAMOORTHY G. Extratos aquosos frios de calêndula africana, *Tagetes erecta* para controle do nematoide das galhas da raiz do tomateiro, *Meloidogyne incognita*. **Journal of Crop Protection**, 25: 1210-1213, 2006.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A.; COSTA, J. E. B.; VILELA, L. C.; PACOTTE, M. R. (Coord.). **Mapeamento e quantificação da cadeia produtiva das hortaliças**. 1-79, 2017.

SAUCET, S.B., VAN GHELDER, C., ABAD, P., DUVAL, H. ESMENJAUD, D. Resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in woody plants. **The New Phytologist**, 211: 1, 41-56, 2016.

SILVA, J. V. C. L. **Efeito do uso do solo, propriedades do solo e variáveis climáticas sobre a estrutura da comunidade e funções ecossistêmicas dos nematoides na catinga**. Tese de doutorado, 1-105, 2020.

SILVA, R. V. et al. ATIVIDADE NEMATICIDA DOS EXTRATOS DE MARMELINHO (*CORDIERA SESSILIS*) NO CONTROLE *MELOIDOGYNE JAVANICA* EM TOMATEIRO. **Revista Contemporânea**, 2: 5, 775-790, 2022.

VEDAM V. V.; XAVIER, A. S.; DAVID, Q. C. Avaliação *in vitro* das propriedades antifúngicas e anticancerígenas do extrato de pétala de *Tagetes erecta*. **Revista Biomédica e Farmacologia**, 12: 2, 815-823, 2019.

VIEIRA, P.; GLEASON, C. Efeitores de nematoides parasitas de plantas - insights sobre sua diversidade e novas ferramentas para sua identificação. **Opinião atual em biologia vegetal**, 50: 37-43, 2019.

XIANG, N.; LAWRENCE, Kathy S.; DONALD, P. A. Potencial de controle biológico da supressão de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de *Meloidogyne incognita* em algodão e *Heterodera glycines* em soja: Uma revisão. **Journal of Phytopathology**, 166: 449-458, 2018.

ZHANG, Ying e cols. Interações fungos-nematoides: diversidade, ecologia e perspectivas de biocontrole na agricultura. **Journal of Fungi**, 6: 4, 206, 2020.

## 7. ANEXOS

**Tabela 3.** Resumo ANOVA da variável juvenis de segundo estágio J2 de *Meloidogyne enterolobii* mortos no ensaio *in vitro* com aplicação de extratos de *Tagetes*, realizado no Laboratório de Nematologia Agrícola.

Fatores de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	10	2747.34	274.73	6.63	0.00
Erro	44	1822.40	41.41		
Total	54	45.74			
CV (%)	31.38				
Média geral	20.51				

Teste Scott-Knott (1974) 5%. GL - Grau de Liberdade; CV - Coeficiente de Variação; SQ - Soma dos quadrados; QM - quadrado médio.



**Figura 8.** A. Planta de *Tagetes patula*. B. Planta de *Tagetes erecta*. Fonte: Terra & Vieira (2021); Singh & Kannoja, 2020.