

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**HOSPEDABILIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE FITONEMATÓIDES EM  
VINAGREIRA (*Hibiscus sabdariffa*)**

**NÁDIA PAULA FERREIRA**

**MARIA AMELIA DOS SANTOS**  
(Orientadora)

Monografia apresentada ao Curso de  
Agronomia da Universidade Federal de  
Uberlândia, para obtenção do grau de  
Engenheira Agrônoma.

Uberlândia – MG  
Junho – 2004

**HOSPEDABILIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE FITONEMATÓIDES EM  
VINAGREIRA (*Hibiscus sabdariffa*)**

APROVADO PELA BANCA EXAMINADORA 16 / 06 / 2004

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Amelia dos Santos  
(Orientadora)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Alice Vieira  
(Membro da Banca)

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. José Magno Queiroz Luz  
(Membro da Banca)

Uberlândia - MG  
Junho - 2004

## ÍNDICE

<b>RESUMO</b> .....	3
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	6
2.1.A espécie vegetal estudada.....	6
2.2.Os fitonematóides .....	8
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
3.1.Preparo do inóculo.....	11
3.1.1. <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne exigua</i> .....	11
3.1.2.- <i>Rotylenchulus reniformis</i> .....	11
3.1.3. <i>Heterodera glycines</i> .....	12
3.2- Instalação e condução do experimento.....	12
3.3- Características avaliadas.....	13
3.4. Análise estatística.....	14
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	15
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	17
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	18

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar a reprodução de espécies de importantes fitonematóides em *Hibiscus sabdariffa*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e dez repetições, sendo cada parcela constituída por um vaso com uma planta de *Hibiscus sabdariffa*. Os fitonematóides estudados foram *Meloidogyne incognita*, *M. exigua*, *Heterodera glycines* e *Rotylenchulus reniformis*. A inoculação foi realizada adicionando-se uma suspensão de 10 mL contendo, respectivamente, 4.000 ovos, 3.000 ovos, 2.000 juvenis e/ou adultos e 4.000 ovos de *M. incognita*, *M. exigua*, *R. reniformis* e *Heterodera glycines* em três orifícios no solo do vaso. Após 60 dias da inoculação, a parte aérea foi cortada rente ao solo e o sistema radicular foi separado do solo. O sistema radicular foi pesado para todos os tratamentos. Para os fitonematóides estudados, realizaram as técnicas de extração e determinaram-se as populações no solo e nas raízes. Os resultados demonstraram que quanto ao peso do sistema radicular fresco de *Hibiscus sabdariffa*, *Heterodera glycines* apresentou significativamente peso maior. Isto pode representar uma reação da planta à infecção, fazendo com que seu sistema radicular crescesse mais que o normal para compensar as perdas causadas pelo fitonematóide. *Hibiscus sabdariffa* não foi boa hospedeira para *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis*. No entanto para *Heterodera glycines* a vinagreira permitiu o desenvolvimento do nematóide com formação de cistos e em número significativo.

## 1- INTRODUÇÃO

A vinagreira, *Hibiscus sabdariffa* L., é uma malvácea de origem africana, introduzida no Brasil, possivelmente, pelos escravos. Rica em vitaminas e sais minerais, suas folhas são utilizadas tanto na culinária como na medicina popular, podendo, ainda, seus cálices serem empregados no preparo de geléias, xaropes e vinhos. Essa planta vem despertando, também, o interesse na indústria de alimentos e bebidas, como fonte de um corante vermelho aromático.

É uma hortaliça de folha mais cultivada no interior do Maranhão, sendo também comum no Sudeste e parte sul do Brasil. No Maranhão, as folhas maduras e cozidas são consumidas num prato típico regional, chamado de cuxá. No Sudeste e no Sul, aproveitam-se usualmente os cálices, como pickles (umê), pela população de origem japonesa; em doces, chá e sopas, pela população de origem alemã; e ainda em sucos, no interior de São Paulo e Paraná. As sementes podem ser aproveitadas para alimentação de aves.

Planta do trópico úmido, produz folhas no período quente e chuvoso, quando a produção de outras hortaliças folhosas é difícil. Por preconceito, desconhecimento ou simples falta de interesse, esses recursos alimentares fáceis de cultivar e versáteis estão sendo desperdiçados, como várias outras espécies presentes nas dietas tradicionais das populações rurais e bem adaptadas ao clima e solo do país. Trata-se de um patrimônio

genético (as plantas em si) e cultural (como aproveitá-las) desenvolvido ao longo de séculos, cuja recuperação e manutenção são urgentes para o aprimoramento dos sistemas agrícolas e da alimentação no Brasil (Khatounian, 2001).

A vinagreira apresenta como problemas fitossanitários os fungos *Phytophthora parasitica* var. *sabdariffae*, causador do mal do pé e da haste, e *Oidium*, que pode ocorrer durante a estação fria e seca. Os nematóides do gênero *Meloidogyne* podem representar problema para a vinagreira. Existem variedades suscetíveis aos nematóides de galha (*Meloidogyne* spp), mas de maneira geral, as plantas de vinagreira são resistentes.

Este trabalho teve como objetivo estudar a reprodução de espécies de importantes fitonematóides em *Hibiscus sabdariffa*.

## **2- REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 – A espécie vegetal estudada**

A vinagreira, também conhecida como rosela, caruru azedo, quiabo roxo, entre outros, pertence à família das Malváceas. É um arbusto que cresce entre 1,5 a 3 m de altura, com o caule avermelhado ou verde. As folhas superiores são lobadas e denteadas, e as inferiores ovaladas e inteiras. As flores são rosadas ou púrpuras, com o cálice vermelho e succulento, considerado popularmente como o fruto. O fruto mesmo é uma cápsula vermelha.

É boa fonte de vitaminas A, B e C, cálcio, ferro, fósforo e proteínas, podendo substituir a proteína da carne. O fruto é a parte mais valiosa da planta, servindo para o preparo de geléias, doces, pastas, xaropes e vinhos. Seus resíduos são usados para a produção de vinagre. As folhas maduras são consumidas refogadas ou apenas cozidas, em diversos pratos. As folhas tenras, cruas, podem ser preparadas em saladas, picadas finamente como couve. Na medicina caseira, as folhas são consideradas como emolientes aliviando os processos inflamatórios e como estimulantes do estômago. As sementes, consumidas torradas, estimulam o bom funcionamento dos rins. Em contraste com outras folhosas consumidas cozidas, cujo sabor é pouco acentuado, a vinagreira tem distinto sabor ácido, capaz de quebrar a monotonia de dietas pouco variadas.

A vinagreira produz bem em solos de fertilidade mediana, desde que bem drenados e não compactados. Para uma produção abundante de folhas, convém realizar coberturas com esterco bem curtido ou produto semelhante após cada corte. Por segurança, recomenda-se não chegar o esterco ao colo da planta, devido à suscetibilidade à podridão do colo e das hastes, causada por *Phytophthora*.

Pode ser multiplicada por estacas ou sementes. No caso de estacas, devem ser evitadas aquelas com estruturas reprodutivas cujo enraizamento é comprometido. Por isso as estacas devem ser retiradas bem antes do florescimento, usando-se ponteiros com aproximadamente 40 cm de comprimento. Nestes deixam-se apenas as folhas apicais.

As sementes apresentam germinação lenta e desuniforme. Para homogeneizar a emergência, são deixadas em água até que estejam intumescidas o suficiente para germinar. Convém trocar a água de embebedimento a cada 10 ou 12 h, para desacelerar o desenvolvimento de microrganismos. Procura-se semear logo que a primavera se tenha caracterizado, por que à medida que se retarda a instalação há perdas na produção de folhas. A planta responde ao fotoperíodo, florescendo quando os dias encurtam. Por essa razão, o desenvolvimento vegetativo se reduz à medida que se retarda a semeadura. Quando os cálices são o objetivo principal, é possível semear mais tarde. Para a produção de folhas, semeia-se em linhas distanciadas de 1 m com 0,5 m entre covas na mesma linha e 5 a 10 sementes por cova. Para produção de cálices, pode-se utilizar 1,2 m entre linhas e 0,7 m entre covas. Raleia-se quando as plantas estiverem com 5 a 10 cm de altura, deixando-se 2 a 4 plantas por cova. No plantio por estacas, os espaçamentos são os mesmos que para sementes, colocando-se, por segurança, 2 a 3 estacas por cova.

A planta desenvolve-se bem apenas com as precipitações normais, entretanto, em casos de veranicos longos ou produção muito intensiva, convém irrigar.

Quando as plantas atingem 0,7 a 0,8 m de altura, pode-se começar a colher. Cortam-se os 30 a 40 cm terminais de cada haste para aproveitamento das folhas. Novos cortes devem ser feitos 10 cm acima dos anteriores. Para a produção de cálices, usualmente inicia-se a colheita cerca de 20 dias após a abertura da flor. Os frutos em formação são colhidos um a um, com uma torção lateral. Evita-se puxar para baixo, para não danificar as hastes. Colhidos os frutos, separam-se os cálices que os envolvem, que são os produtos para sucos, geléias, e outros (HIBISCUS, 2003).

Os cultivos com finalidade de obtenção de folhas ou cálices podem ser aproveitados para a produção de sementes, deixando-se os frutos se desenvolverem naturalmente até a maturação. Os frutos maduros devem terminar a secagem em local abrigado, separando-se e acondicionando-se as sementes a seguir. Uma vez em recipiente hermético, conserva-se em local fresco e seco. Como as flores se auto polinizam, são normalmente desnecessários cuidados para evitar cruzamentos (CASTRO, 1980; PIMENTEL, 1985; KHATOUNIAN, 1994).

## **2.2. Os fitonematóides**

Manso et al. (1994), relatam em seu catálogo de nematóides fitoparasitos encontrados associados a diferentes tipos de plantas no Brasil, a ocorrência de *Aorolaimus holdemani* e *Pratylenchus* em vinagreira.

No município de São José de Ribamar, Maranhão, foram encontradas plantas de vinagreira com numerosas galhas no sistema radicular. As plantas parasitadas apresentavam, quando novas, clorose foliar e lento desenvolvimento. Plantas adultas não

mostravam sintomas da doença, embora seu sistema radicular estivesse altamente infestado, caracterizando uma reação de tolerância ao patógeno (Silva, 1994).

O exame dos tecidos hipertrofiados revelou a presença de numerosas fêmeas e massas de ovos de *Meloidogyne incognita*. Pelo teste de hospedeiros diferenciadores, verificou-se tratar da raça 3. Não obstante de ser conhecida como suscetível aos nematóides das galhas em outros países (Saka & Carter, 1987 apud Silva, 1994), a vinagreira não figura na literatura nacional pertinente (Ponte, 1977; Tenente et al., 1981 apud Silva, 1994) como hospedeira de *M. incognita*, acreditando-se ser este o primeiro relato a respeito, (Silva, 1994).

### **3- MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi conduzido em casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, no período de junho a agosto de 2003.

As sementes de vinagreira foram obtidas do Setor de Genética da Universidade Federal de Uberlândia. Antes da semeadura, as sementes passaram por um processo de embebição durante 24 h a temperatura ambiente, para que houvesse a quebra da dormência. Após esse procedimento, foram semeadas em número de cinco por vaso. Como a sua germinação foi desuniforme, à medida que as plântulas emergiam realizava-se o desbaste para que ao final restasse apenas uma planta por vaso.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos (quatro fitonematóides + testemunha sem fitonematóides) e dez repetições, sendo cada parcela constituída por um vaso com uma planta de *Hibiscus sabdariffa*. Os fitonematóides estudados foram *Meloidogyne incognita*, *M. exigua*, *Heterodera glycines* e *Rotylenchulus reniformis*.

#### **3.1- Preparo do inóculo**

##### **3.1.1- *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne exigua***

Raízes de tomateiro infectadas por *M. incognita* e de cafeeiro infectadas por *M. exigua* foram processadas pela técnica de Boneti e Ferraz (1981). As raízes foram lavadas cuidadosamente em água corrente, fragmentadas em pedaços de 2 cm e colocadas em um copo de liquidificador doméstico contendo solução de hipoclorito de sódio a 0,5% para trituração na menor rotação pelo tempo de 20 s. A suspensão obtida foi vertida na peneira de 200 mesh sobreposta a de 500 mesh. O resíduo da peneira de 500 mesh foi recolhido com jatos de água de uma pisseta para um copo de Becker. A suspensão de ovos foi calibrada com auxílio da câmara de contagem de Peters para conter 300 ovos/mL e 400 ovos/mL de *M. exigua* e *M. incognita*, respectivamente.

### **3.1.2-Rotylechulus reniformis**

Solo proveniente de área com bananal infectado pelo nematóide reniforme foi processado pela técnica de Jenkins (1964). Alíquota de 150 cm<sup>3</sup> de solo foi colocada em um recipiente contendo 2L de água. Os torrões foram desmanchados e a suspensão após homogeneização permaneceu em repouso por 15 s. Após esse período, a suspensão foi vertida na peneira de 20 mesh sobreposta a de 400 mesh. O resíduo da peneira de 400 mesh foi recolhido e distribuído em tubos de centrífuga que foram balanceados e colocados na centrífuga. A centrifugação ocorreu por 5 min a 650 gravidades. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e ao resíduo foi adicionada solução de sacarose (454 g de açúcar cristal/1L de água). Os tubos foram centrifugados novamente na mesma velocidade por 1 min. O sobrenadante foi vertido na peneira de 500 mesh. O resíduo da peneira de 500 mesh foi recolhido com auxílio de jatos de água de uma pisseta para um copo de Becker. Esse procedimento foi repetido várias vezes para a obtenção da quantidade suficiente de nematóides para montar o ensaio. O número de nematóides na suspensão final foi calibrado

com auxílio da câmara de contagem de Peters para conter 200 juvenis e/ou adultos/mL de *R. reniformis*.

### **3.1.3- *Heterodera glycines***

Solo de vaso cultivado com soja para multiplicação de *H. glycines* foi utilizado para extração de cistos. Alíquota de 150 cm<sup>3</sup> de solo foi colocada em um recipiente contendo 2L de água. Os torrões foram desmanchados e a suspensão após homogeneização permaneceu em repouso por 15 s. Após esse período, a suspensão foi vertida passando pelas peneiras sobrepostas de 20 e 100 mesh. O resíduo da peneira de 100 mesh foi recolhido com auxílio de jatos de uma pisseta para um copo de Becker. Essa suspensão foi vertida para um funil contendo papel de filtro dobrado na forma cônica. Após a passagem de todo o líquido, o papel de filtro é aberto para retirada de cistos viáveis (cistos contendo ovos do nematóide). Os cistos viáveis separados foram colocados em uma peneira de 100 mesh e esmagados com o fundo do tubo de ensaio. Conforme ocorreu o esmagamento, jatos de água de uma pisseta foram despejados para que os ovos liberados dos cistos passassem para a peneira de 500 mesh que estava abaixo da de 100 mesh. Após todo o esmagamento, o resíduo da peneira de 500 mesh foi recolhido para um copo de Becker. A suspensão de ovos foi calibrada com o auxílio da câmara de Peters para conter 400 ovos/mL.

### **3.2- Instalação e condução do experimento**

A inoculação foi realizada aplicando-se 10 mL de suspensão de ovos em três orifícios no solo distanciados de 2 cm do caule da planta e a uma profundidade de 2 cm. Portanto, a população inicial foi de, respectivamente, 4.000 ovos, 3.000 ovos, 2.000 juvenis e/ou adultos e 4.000 ovos para *M. incognita*, *M. exigua*, *R. reniformis* e *Heterodera*

*glycines*. Quinzenalmente foi aplicada solução nutritiva ao solo de cada vaso (TUIITE, 1969).

### **3.3- Características avaliadas**

Após 60 dias da inoculação dos fitonematóides, a parte aérea foi cortada rente ao solo e o sistema radicular foi separado do solo. O sistema radicular foi pesado para todos os tratamentos. Para os fitonematóides estudados, excetuando-se *H. glycines*, o sistema radicular foi processado pela técnica de Boneti e Ferraz (1981) descrita anteriormente no item 3.2. O solo foi processado pela técnica de Jenkins (1964) conforme descrito anteriormente no item 3.2.1.

O número de nematóides na suspensão foi determinado com o auxílio da câmara de contagem de Peters, tanto para o processamento do solo como das raízes. A população final foi a somatória dos números obtidos das suspensões do solo e das raízes. O fator de reprodução (FR) foi calculado pela razão entre a população final e a população inicial. Com o FR maior ou igual a 1,0 a planta foi considerada como boa hospedeira. A planta má hospedeira foi aquela com FR menor que 1,0.

Para *Heterodera glycines*, o sistema radicular foi lavado e alisado com os dedos da mão para que se soltassem da raiz e caíssem passando pela peneira de 20 mesh que estava acima da peneira de 100 mesh e fossem retidas na peneira de 100 mesh. As fêmeas retidas nessa peneira foram recolhidas com o auxílio de jatos de água de uma pisseta para um copo. A suspensão foi passada para um funil contendo papel de filtro, após a passagem de todo líquido, o papel de filtro foi aberto e colocado sob lupa para contagem de fêmeas.

Uma alíquota de 150 cm de solo foi colocada em um recipiente contendo 2 L de água. Os torrões foram desmanchados e a suspensão após homogeneização permaneceu em

repouso por 15 s. Após esse período, a suspensão foi vertida passando pelas peneiras sobrepostas de 20 e 100 mesh. O resíduo da peneira de 100 mesh foi recolhido com o auxílio de jatos de água de uma pisseta para um copo de Becker. Essa suspensão foi vertida para um funil contendo papel de filtro dobrado na forma cônica. Após a passagem de todo o líquido, o papel de filtro foi retirado do funil e aberto para observação e contagem do número de cistos de *Heterodera glycines* no microscópio estereoscópio (lupa).

### **3.4– Análise estatística**

As análises foram realizadas pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000), realizando-se análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade para os valores de peso de raiz.

#### 4 –RESULTADOS E DISCUSSÃO

A vinagreira não foi boa hospedeira para os fitonematóides estudados, excetuando-se, *Heterodera glycines* (Tabela 1).

**TABELA 1**– Peso de sistema radicular fresco de *Hibiscus sabdariffa* com e sem nematóide e a população final e fator de reprodução dos fitonematóides após 60 dias da inoculação em vinagreira UFU, Uberlândia, 2003.

Tratamentos	Peso sistema radicular(g)	População final*	Fator de reprodução**
Testemunha (sem nematóide)	0,375 b***	-----	-----
<i>Heterodera glycines</i>	0,731 a	24,0	-----
<i>Meloidogyne exigua</i>	0,395 b	129,8	0,043
<i>Meloidogyne incognita</i>	0,331 b	255,3	0,064
<i>Rotylenchulus reniformis</i>	0,292 b	24,0	0,012
C.V.(%)	39,51	194,31	

\* Para *Heterodera glycines* refere-se ao nº de cistos no solo; para *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne exigua*, ao nº de ovos e juvenis de 2º estágio no solo e no sistema radicular; e para *Rotylenchulus reniformis*, ao nº de ovos, juvenis e adultos no solo e no sistema radicular.

\*\* Fator de reprodução = População final (Pf) / População inicial (Pi), onde Pi foi de 3000 ovos, 4000 ovos e 2000 juvenis e/ou adultos de *M. exigua*, *M. incognita* e *R. reniformis*, respectivamente.

\*\*\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O valor de peso radicular fresco maior foi encontrado para *Heterodera glycines*. Isto pode representar um mecanismo de defesa da planta, estimulando seu sistema radicular a

crescer mais que o normal e assim compensar a perda causada pelo parasitismo do fitonematóide.

## 5 – CONCLUSÕES

*Hibiscus sabdariffa* não foi boa hospedeira para *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis*. No entanto, para *Heterodera glycines* a vinagreira permitiu o desenvolvimento desse nematóide com formação de cistos.

## 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONETI, J. I. S. & S. FERRAZ. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, n.3, p. 553, 1981.

CASTRO, J. De. **Geografia da Fome**. 10 ed., Rio de Janeiro, Antares Achlamé, 1980.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0**. In: 45ª Reuniao Anual da Regiao Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCar, SP, julho, 2000. p.255-258.

HIBISCUS sabdariffa. Descrição da planta. Disponível em:< <http://www.plantamed.com.br/PG/FOTOS/Hibiscus-sabdariffa.htm>>. Acesso em: 15 set. 2003.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, n.9, p. 692, sept., 1964.

KHATOUNIAN, C. A **Produção de alimentos para consumo doméstico no Paraná: caracterização de culturas alternativas**. Londrina: IAPAR, 1994.

KHATOUNIAN, C. A. A **reconstrução ecológica da agricultura**. Botucatu: Agroecológica, 2001.

MANSO, E. C.; TENENTE, R. C. V.; FERRAZ, L. C. B.; OLIVEIRA, R. S.; MESQUITA, R. **Catálogo de nematóides fitoparasitos encontrados associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 488p.

PIMENTEL, A A M. P. **Olericultura no trópico úmido: hortaliças na Amazônia.** São Paulo, Agronômica Ceres, 1985.

SILVA, G. S. da. Vinagreira, um novo hospedeiro de *Meloidogyne incognita* raça 3. **Nematologia Brasileira**, v. 18, p.106-107, 1994.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada.** Jaboticabal, FUNEP, 2000, 2 ed. rev. amp. 473p.

TUITE, J. **Plant pathological methods.** Minneapolis: Burgess Pub. Company, 1969. 239 p.