

Extratos de Piper no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canéfora*

Os nematoides-das-galhas são mundialmente conhecidos por causar elevados prejuízos à agricultura. No Brasil, as espécies do gênero *Meloidogyne* são responsáveis por perdas na produção de diversas culturas distribuídas por todo o país. Diante da dificuldade encontrada no controle desses nematoides, várias estratégias vêm sendo estudadas, e dentre elas, o uso de extratos vegetais representa uma alternativa de baixo custo e menos agressiva ao meio ambiente. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extratos aquosos de diferentes espécies do gênero *Piper* no controle de *M. incognita* em ensaios in vitro e in vivo em mudas de *Coffea canéfora*. Os estudos foram conduzidos no laboratório de fitopatologia e em casa de vegetação da Embrapa Rondônia, em Porto Velho. Para as avaliações foram utilizadas seis espécies do gênero *Piper*, obtendo-se os extratos aquosos de folhas, talos e inflorescências, usados frescos e secos, na concentração 0,1µg/mL. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 58 tratamentos e seis repetições, além dos controles com água mineral estéril e nematocida (Carbofuran, 20mL.L⁻¹). Para os testes in vitro utilizaram-se placas acrílicas do tipo Elisa como suporte para os microtubos, onde foram colocados separadamente em cada cavidade dos Eppendorfs 100(µL) de extratos e 100(µL) da suspensão contendo 50 ovos do respectivo nematode. Os ovos foram extraídos utilizando a metodologia descrita por Hussey et al. (1973), modificado por Boneti et al. (1981). As placas foram levadas a incubadoras 8.0 D a 25 °C, por 15 dias, no escuro. No décimo sexto dia avulsou-se o número de ovos, juvenis (J2) eclodidos, imóveis e móveis. De todos os extratos de *Piper* testados, dezessete foram capazes de inibir significativamente a eclosão do fitonematode. Destes, destacam-se *P. hispidum* e *P. tuberculatum*, que apresentaram os melhores efeitos inibitórios (ação ovicida + larvicida). A partir daí, escolhendo-se os extratos que apresentaram efeito nos ensaios in vitro, conduziu-se o experimento in vivo em casa de vegetação. Mudas de *C. canéfora* (Clone CPAF-RO C750, susceptível) com seis meses de idade, mantidas em vasos de 8L, foram inoculadas com 5000 ovos de *M. incognita*. Após 24 horas aplicaram-se 720mL dos extratos por vaso. A aplicação dos extratos foi repetida aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação, avaliando-se as mesmas após 150 dias quanto ao fator de reprodução (FR), ao número de galhas por grama de raízes (NGGR) e ao número de ovos por grama de raízes (NOGR). O delineamento experimental tanto in vitro quanto in vivo foi do tipo inteiramente casualizado, com seis repetições. Os dados foram submetidos à Anova e as médias comparadas em teste de Scott-Knott a 1% e 5% respectivamente. Dentre os extratos testados in vivo, dezesseis apresentaram redução significativa em relação à FR, NGGR e NOGR, quando comparados ao controle, destacando-se as espécies *P. carnicornectivum*, *P. tuberculatum* e *P. umbellatum*, por demonstrarem eficiência no controle populacional do nematode-das-galhas, pela redução de FR quando comparados ao controle com nematocida comercial. Conclui-se que os extratos aquosos de *Piper*áceas, apresentam atividade nematocida e podem ser usados no desenvolvimento de futuros métodos de controle químico e cultural, em substituição parcial ou total aos nematocidas convencionais.

Palavras-chave: *Meloidogyne incognita*; Café; Extratos botânicos.

Piper Extracts in Alternative Control of phytonematoids of the genus *Meloidogyne* in *Coffea canephora*

Gall nematodes are known worldwide for causing severe damage to agriculture. In Brazil, species of the genus *Meloidogyne* are responsible for losses in the production of several crops distributed throughout the country. Given the difficulty in controlling these nematodes, several strategies have been studied, and among them, the use of plant extracts represents a low-cost alternative and less aggressive to the environment. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of aqueous extracts of different *Piper* species on the control of *M. incognita* in vitro and in vivo assays on *Coffea canephora* seedlings. The studies were conducted in the phytopathology laboratory and in the greenhouse of Embrapa Rondônia, in Porto Velho. Six species of the *Piper* genus were used for the evaluations, obtaining the aqueous extracts of leaves, stems and inflorescences, used fresh and dry, at a concentration of 0.1µg/mL. The experimental design was completely randomized, with 58 treatments and six repetitions, in addition to controls with sterile mineral water and nematocida (Carbofuran, 20mL.L⁻¹). For in vitro tests, Elisa type acrylic plates were used as support for the microtubes, where they were placed separately in each well of the Eppendorfs 100 (µL) extracts and 100 (µL) of the suspension containing 50 eggs of the respective nematode. Eggs were extracted using the methodology described by Hussey et al. (1973), modified by Boneti et al. (1981). The plates were taken to B.O.D incubators at 25 °C for 15 days in the dark. On the sixteenth day we evaluated the number of eggs, hatched juveniles (J2), immobile and mobile. Of all *Piper* extracts tested, seventeen were able to significantly inhibit phytonematoid outbreaks. Of these, we highlight *P. hispidum* and *P. tuberculatum*, which presented the best inhibitory effects (ovicidal + larvicidal action). From then on, choosing the extracts that showed effect in the in vitro assays, we conducted the in vivo experiment in a greenhouse. Six-month-old *C. canephora* (Clone CPAF-RO C750 susceptible) seedlings, kept in 8L pots, were inoculated with 5000 *M. incognita* eggs. After 24 hours 720mL of extracts were applied per pot. The application of the extracts was repeated at 30, 60 and 90 days after inoculation, being evaluated after 150 days for the reproduction factor (FR), the number of galls per gram of roots (NGGR) and the number of eggs per gram of roots (NOGR). The experimental design in vitro and in vivo was completely randomized with six repetitions. Data were submitted to ANOVA and the means compared in Scott-Knott test at 1% and 5% respectively. Among the extracts tested in vivo, sixteen showed significant reduction in relation to FR, NGGR and NOGR, when compared to the control, highlighting the species *P. carnicornectivum*, *P. tuberculatum* and *P. umbellatum*, as they demonstrated efficiency in population control of gall nematode by reducing FR when compared to control with commercial nematocida. It is concluded that the aqueous extracts of *Piperaceae* have nematocidal activity and can be used in the development of future methods of chemical and cultural control, in partial or total replacement to conventional nematocides.

Keywords: *Meloidogyne incognita*; Coffee; Botanical extracts.


Topic: Desenvolvimento, Sustentabilidade e Meio Ambiente

Received: 11/10/2018

Approved: 11/11/2018

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Simone Carvalho Sangi 
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6013814953613677>
<http://orcid.org/0000-0001-7365-015X>
simonecarvalhosangi@gmail.com

José Roberto Vieira Junior 
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9904275274067824>
<http://orcid.org/0000-0001-7939-8119>
jose-roberto.vieira@embrapa.br

Cléber de Freitas Fernandes
Universidade Federal do Ceará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7426209328649448>
cleber.fernandes@embrapa.br

Jessica Silva Felix Bastos
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0634812827491159>
jessicafelixbio@gmail.com

Alaine Souza da Fonseca 
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0456233723446786>
<http://orcid.org/0000-0002-4019-3412>
alinesouzadafonseca@gmail.com


Tamiris Chaves Freire 
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/4372408393666360>
<http://orcid.org/0000-0002-8938-3751>
tamirischavesfreire@gmail.com

Liliani Ogrodowczyk 
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1320894929836868>
<http://orcid.org/0000-0001-7497-8114>
lili_wczyk@hotmail.com

Jessica Danila Krugel Nunes
Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6857466494203792>
jessica.krugel@ifro.edu.br

Karen Cristina Chaves Oliveira 
Faculdades Integradas Aparício Carvalho, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0113533111049758>
<http://orcid.org/0000-0002-9306-0517>
chavesoliveira.kc@gmail.com

Rodrigo Barros Rocha
Universidade Federal de Viçosa, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/8295625748916004>
rodrigo.rocha@embrapa.br

Fábio da Silva Barbieri 
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3610317820362372>
fabio.barbieri@embrapa.br



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0019

Referencing this:

SANGI, S. C.; VIEIRA JUNIOR, J. R.; FERNANDES, C. F.; BASTOS, J. S. F.; FONSECA, A. S.; FREIRE, T. C.; OGRADOWCZYK, L.; NUNES, J. D. K.; OLIVEIRA, K. C. C.; ROCHA, R. B.; BARBIERI, F. S.. Extratos de Piper no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v.9, n.8, p.212-223, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0019>

INTRODUÇÃO

O café é uma importante *comoditie*, que recebe destaque no mercado mundial, onde é considerado um dos principais produtos agrícolas e agroindustriais de exportação, cultivada em mais de 70 países. Estima-se que o agronegócio do café movimente cerca de US\$55bi anuais em todo mundo (DAMATTA, 2007). O Brasil é o maior produtor e exportador e segundo maior consumidor de café, (tendo nas espécies *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner as principais produtoras), sendo que os maiores Estados produtores são Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná.

A despeito dos avanços na cadeia produtiva do café, o setor ainda sofre com os entraves à produção, como as condições edafoclimáticas locais e uma série de problemas fitossanitários que afetam a cultura. Dentre os patógenos que atacam a cultura do cafeeiro, os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp, podem provocar perdas que variam de 20 a 70% da produção, dependendo das condições locais e manejo empregado (BARBOSA et al., 2004).

Dentre as espécies que são capazes de parasitar o cafeeiro, o *M. incognita* é apontado como uma das mais importantes e prejudiciais, em função de sua ampla disseminação, elevada capacidade de danificar o sistema radicular, sua plasticidade ambiental, elevada capacidade de sobrevivência no solo e à suscetibilidade da maioria das cultivares ao nematoide, tornando o processo de manejo da doença em áreas infestadas um problema de difícil solução e um sério risco à implantação de novas áreas de café (CASTRO et al., 2008).

Levantamentos realizados por Vieira Junior (2008) e Vieira Junior et al. (2015) sobre a disseminação do nematoide das galhas nos municípios produtores de café no estado de Rondônia, confirmaram a presença predominante de *Meloidogyne M. incognita* e *M. exigua* como as espécies de maior ocorrência que foi verificada em quase todos os municípios avaliados, sendo a espécie de *M. incognita* a constitui um fator limitante para a obtenção de alta produtividade em cafeeiros.

Dessa forma, o uso de nematicidas comerciais é um dos métodos de controle mais utilizados. O emprego desses produtos para o controle desses patógenos em algumas áreas de cultivo não tem sido recomendado, dada aos elevados riscos de contaminação ambiental, dos aplicadores e consumidores, além de aumentar os custos da produção. Diante das necessidades novas alternativas que visam preservar o meio ambiente, além do fato de que a relação custo-benefício e novas alternativas precisam ser desenvolvidas para o controle de patógenos do solo (KIMATI et al., 2005; FERRAZ et al., 2010; CARNEIRO et al., 2012; BATISTA et al., 2013).

Nos últimos anos, produtos naturais vêm sendo utilizados na agricultura como fonte de novas moléculas para o controle de pragas e doenças. Um exemplo disto é a utilização de extratos vegetais e óleos essenciais de plantas com propriedades inseticidas e fungicidas (BASTOS et al., 2009; GONÇALVES et al., 2015). Diversos são os trabalhos que demonstram o potencial de plantas como fontes de substâncias nematicidas, como o cravo de defunto, a mostarda, entre outras. Moreira et al. (2015) avaliou o efeito da incorporação da fitomassa de cravo de defunto ao solo após o transplântio (12, 18, 24 e 30 dias). Os

resultados de incorporação da fitomassa de cravo de defunto ao solo se apresentaram eficiente na redução da população do nematoide 30 dias após o transplântio.

Moccellin (2011), testando a biofumigação, no controle de *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermathum* e *Sclerotium rolfsii* confirmou a eficácia da mostarda-da-índia (*Brassica juncea*), repolho (*Brassica oleraceae*) e canola (*Brassica napus*), apresentou controle satisfatório da doença. O ambiente amazônico é rico em sua diversidade de plantas, as quais têm sido estudadas para os mais diferentes fins, sendo os usos cosméticos, alimentícios e medicinais os mais importantes. Dentre essas plantas de elevado potencial de uso pode-se citar as Piperáceas, plantas cujo interesse medicinal tem sido demonstrado por alguns autores, que comprovaram o poder tóxico de alguns extratos e óleos de algumas espécies do contra o desenvolvimento de insetos e fitopatógenos (FAZOLIN et al., 2007; SOUSA, 2011).

Nesse sentido, dada a urgência na busca de soluções alternativas ao uso dos nematicidas comerciais, em especial para uso no tratamento de mudas de café, o objetivo deste estudo foi investigar o potencial dos diferentes extratos de *Piper*; em teste *in vitro* dos extratos aquosos, sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de *M. incógnita* do cafeeiro, bem como seu potencial nematicida quando utilizado em aplicações direcionadas em mudas de *Coffea canephora*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento e obtenção do material vegetal

O trabalho foi conduzido na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia - EMBRAPA - CPAFRO. As avaliações foram realizadas no laboratório de fitopatologia e casa de vegetação, em Porto Velho, Rondônia. Para os ensaios foram usadas seis espécies do gênero *Piper*, sendo elas: *P. carniconnectivum*, *P. hispidum*, *P. tuberculatum*, *P. nigrum* L., *P. umbellatum* e *P. permucronatum*, preparados com materiais secos e frescos, de folhas, talos e inflorescências cultivadas em casa de vegetação e em campo experimental, totalizando cinquenta e oito extratos.

As coletas das plantas foram realizadas após aprovação no SisGen, e registradas sob o código de acesso n. A088959. Estas foram realizadas no período de outubro a dezembro de 2016, dentro do Campo Experimental da Embrapa Rondônia em Porto Velho nas coordenadas geográficas (8º 53'20" de latitude Sul e 63º 06'40" de longitude Oeste de Grw). E os ensaios foram realizados dentro das Casas de Vegetação e laboratórios da Embrapa Rondônia, localizada no município de Porto Velho (RO).

A partir das plantas coletadas a campo, foram produzidas mudas das espécies a partir de estaqueamento e plantio das mesmas em substrato produzido na concentração 2:1:1 (solo:areia:esterco) em vasos plásticos de 10L. Foram produzidas 50 mudas de cada espécie e estas foram identificadas e mantidas separadas dentro das casas-de-vegetação até a coleta do material vegetal para os testes.

Obtenção dos extratos brutos aquosos

O material vegetal das espécies coletadas foi dividido em duas partes iguais. A primeira foi mantida fresca e a segunda parte foi levada à Estufa de Circulação forçada, com temperatura de 45°C, por 15 dias, para a secagem completa. O material foi macerado com auxílio de almofariz e pistilo e ao qual foi adicionado nitrogênio líquido (N₂) e transformado em um pó fino, conforme descrito e adaptado de Ferris et al. (1999).

Posteriormente, pesou-se um grama do pó macerado de cada espécie de planta e estes foram colocados em Erlenmeyer com 10mL de água mineral estéril, tampados e mantidos sob agitação em Incubadora Shaker refrigerada a 100 RPM por 24 horas à 25°C. Todos os extratos obtidos foram filtrados em gaze e pano de nylon, a fim de retirar as partículas sólidas, posteriormente foram mantidos em congelador até serem descongelados para os ensaios.

Multiplicação e preparo do inóculo do nematoide

Os inóculos dos nematoides *M. incognita* usados no experimento foram obtidos a partir de populações puras mantidas em raízes de tomateiro 'Santa Cruz Kada'. Estas populações foram identificadas por Santos (2017) utilizando a técnica de eletroforese, adaptada de Carneiro et al. (2001). Para o presente estudo, essas populações foram multiplicadas em plantas de chicória (*Cichorium endívia*) variedade 'Valença', sendo mantidas em casa-de-vegetação. Raízes foram separadas da parte aérea, fragmentadas em pedaços de três cm, e ovos de *M. incognita*, foram extraídos conforme a metodologia proposta por Hussey e Barker, adaptada por Boneti et al. (1981).

Teste *in vitro*

Todos os extratos aquosos produzidos a partir do material vegetal coletado foram testados na proporção 1:10 (p/v, g/mL). O ensaio *in vitro* foi realizado em Microtubos tipo 'Eppendorf' de 250 microlitros (μL) usando placas acrílicas do tipo Elisa como suporte. Pipetou-se 100μL de extratos + 100μL da suspensão contendo 50 ovos do respectivo nematoide. Como testemunhas foram utilizadas água mineral estéril e nematicida Carbofuran (20mL.^{L-1}).

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 58 tratamentos e seis repetições. Em seguida as placas foram embrulhadas em papel alumínio e levadas à incubadas tipo B.O.D a 25°C por 15 dias. No 16º dia após a incubação, avaliou-se o número de juvenis (J2) eclodidos imóveis e móveis e número de ovos presentes. Foram realizadas três contagens de cada repetição, para o número total de ovos, J2 imóveis e móveis. Para confirmar a mortalidade (J2) foi adicionado em cada lâmina 10μL de Hidróxido de Sódio (NaOH) a 0,1N (CHEN et al., 2000). A unidade experimental foi representada por uma cavidade da placa de Elisa. Os dados foram submetidos à Anova e as médias comparadas em teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade.

Planta hospedeira mudas de cafeeiro

Para instalação do experimento *in vivo*, foram utilizados vasos de polipropileno de 8,0L de capacidade, contendo uma mistura de solo e areia na proporção de 2:1 (v/v), previamente autoclavados por uma hora, em autoclave a 121°C. Mudas de café *Coffea canéfora*, do clone 723 suscetível, foram produzidas em *tubetes de 300mL contendo substrato comercial estéril* no Campo Experimental da Embrapa em Ouro Preto do Oeste.

Teste *in vivo*

Trinta dias depois de transplantadas, estas foram inoculadas uma suspensão contendo 5.000 ovos do respectivo nematoide. No decorrer do experimento, efetuaram-se quatro aplicações dos extratos ao solo, sendo a primeira com 24 horas. As outras aplicações dos extratos foram realizadas com intervalo de 30, 60 e 90 dias após a primeira aplicação. Em cada aplicação utilizou-se 720mL dos respectivos tratamentos por vaso. Os extratos foram aplicados conforme adaptação da metodologia descrita por Gardiano et al. (2009).

Nos tratamentos testemunhas, utilizou-se água e nematicida Carbofuran (20mL^{L⁻¹}.) O nematicida foi aplicado ao solo, somente no tempo de 24 horas após a inoculação da suspensão de ovos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 19 tratamentos e seis repetições. A unidade experimental foi representada por um vaso contendo uma planta de café. Os dados foram submetidos à Anova e as médias comparadas em teste de Scott-Knott a 5%.

Aos cento e cinquenta e dois dias após a inoculação das plantas de café, estas foram retiradas dos vasos com solo, separando-se a parte aérea das raízes. Avaliaram-se os seguintes parâmetros: peso da matéria secadas raízes e da parte aérea, o número de galhas e o número de ovos por grama de raízes além do fator de reprodução. Para tanto, após a contagem das galhas do sistema radicular, foram separadas três gramas de raízes, então as mesmas foram cortadas em pedaços de aproximadamente dois cm para a extração de ovos. Foi utilizada a de Hussey et al. (1973), modificada por Bonetti et al. (1981).

O sistema radicular e folhas remanescentes frescos foram armazenados em saco de papel separadamente elevados à estufa de ventilação forçada a 65°C, durante 48 horas. Depois de retirados da estufa, foi determinado o peso da matéria seca do sistema radicular e parte aérea. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) na qual, foram consideradas as seguintes variáveis, número de galhas por grama de raízes (NG) número de ovos (NO), fator de reprodução (FR) e peso da matéria seca do sistema radicular (PSSR) plantasse da parte aérea e as médias comparadas em teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Potencial *in vitro* de extrato aquosos de espécies de *Piper* sobre *Meloidogyne incognita*

Foram obtidos 58 extratos a partir da solvente água, conforme apresentado no quadro 1. Dos 58 extratos obtidos dezessete demonstraram efeito ovicida, quando comparados ao controle água e o

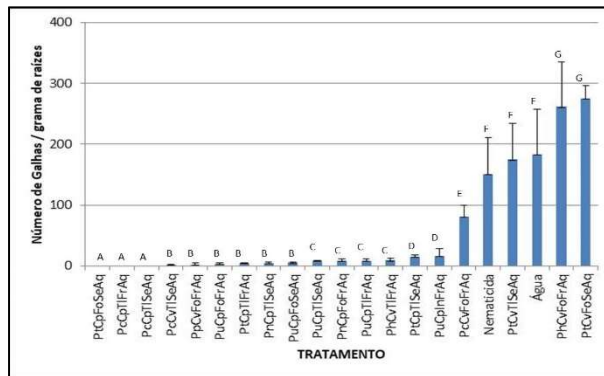


Figura 3: Efeito dos extratos aquosos de *Piper* sobre o número de galhas (NG) de *Meloidogyne incognita* em raízes de cafeeiro em condições de casa de vegetação. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. **Legenda:** Pt: *P. tuberculatum*; Pc: *P. carniconnectivum*; Pp: *P. permucronatum*; Pu: *P. umbellatum*; Pn: *P. nigrum*; Ph: *hispidum*; Cv: Casa de vegetação; Cp: Campo; Tl: talo; Fo: folha; In: Inflorescência; Se: secos; Fr: frescos; Aq: Aquoso.

Borges (2017) trabalhando com extratos de árvore-de-sabão (frutos), pau-de-óleo (folhas), candeia (folhas) e da mistura de extratos de folhas de pau-de-óleo e jatobá-do-cerrado observaram que os extratos causaram maior redução no número de galhas de *M. javanica*. Costa et al. (2016), ao avaliar o potencial de extratos de folhas de *P. hispidum* no controle do crescimento das bactérias *S. aureus* e *B. subtilis*, apresentaram resultados bastante satisfatório quanto à inibição bactérias fitopatogênicas, sendo esta uma técnica promissora para o controle de doenças. Destes, somente os extratos de (PhCvFoFrAq e PcCvFoSeAq) não se mostraram eficientes na redução do número de galhas, comparado com o controle negativo e positivo

Foi possível identificar o controle do nematoide *M. incognita* em casa de vegetação, por meio da aplicação dos extratos aquosos ao solo na concentração de 0,1µg/mL. Os extratos mostraram-se eficientes no controle populacional de *M. incognita*. Isto indica que o uso de extratos contribui no manejo e controle de doenças na cultura, podendo ser oferecidos no controle de *M. incognita* na cultura de cafeeiro para os agricultores tendo em vista uma agricultura mais sustentável e ecológica. Os resultados obtidos sobre efeito dos extratos sobre a redução do número de ovos de *Meloidogyne incognita* por grama de raízes estão apresentados na (figura 4).

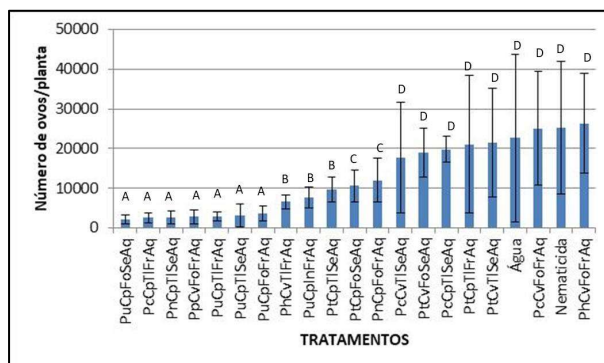


Figura 4: Porcentagem de controle de *M. incognita*, quanto ao número de ovos por planta, em plantas de cafeeiro com 19 tratamentos, aos 150 dias após a inoculação com 5.000 ovos do nematoide. Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. **Legenda:** Pt: *P. tuberculatum*; Pc: *P. carniconnectivum*; Pp: *P. permucronatum*; Pu: *P. umbellatum*; Pn: *P. nigrum*; Ph: *hispidum*; Cv: Casa de vegetação; Cp: Campo; Tl: talo; Fo: folha; In: Inflorescência; Se: secos; Fr: frescos; Aq: Aquoso.

Os extratos das seis espécies vegetais em diferentes formas de preparos ocasionaram uma redução significativa de acordo com o teste Scott Knott à 5% de probabilidade, para os extratos de *P. umbellatum*, *P. carniconnectivum*, *P. nigrum* e *P. permucronatum*, obteve-se inibição na formação de ovos, os quais foram superiores as testemunhas água e o nematicida.

Gardiano et al (2009), testando atividade nematicida de 20 espécies de plantas, pela aplicação ao solo sobre a população de *Meloidogyne javanica* em plantas de tomateiro em casa de vegetação, observaram que extratos aquosos de folhas de hortelã, bardana e mamona, reduziram o número de ovos por sistema radicular em 81,7%, 75,9% e 56,6% e o número de galhas em 75,6%, 65,7% e 54,4%. Esses também foram observados por Corboni et al (2013) que, ao testarem extratos aquosos de amora, eucalipto, erva de Santa Maria e capim limão, pela aplicação ao solo, verificaram que houve efeito no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro, reduzindo o número de galhas e de ovos formados.

De acordo com os resultados obtidos para o fator de reprodução, todos os tratamentos apresentaram valores menores que um (figura 5), podendo ser observado até mesmo nos controles positivo e negativo. Indicando que apesar das plantas de café *Coffea canéfora*, do clone 723 ser suscetíveis ao ataque do nematoide das galhas, após a aplicação de extratos aplicados ao solo, estes fizeram com que eles se comportassem como resistentes. Segundo Campos et al (2006), a redução da infectividade do J2 em raízes, pode estar associada a ação nematicida dos extratos vegetais. Testes de infectividade devem ser repetidos para confirmar os resultados observados.

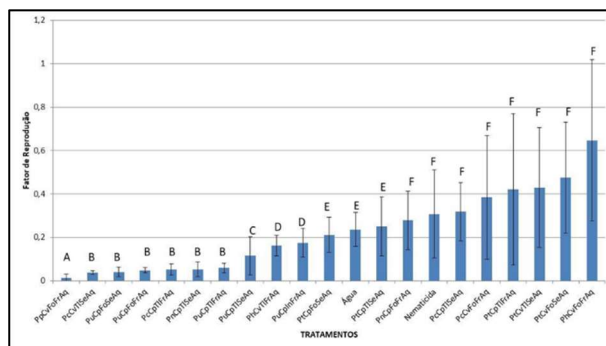


Figura 5: Fator de reprodução (FR) sobre a inibição de *Meloidogyne incognita* em raízes de cafeeiro, submetidos a tratamentos com extratos aquosos de diferentes espécies do gênero *Piper*. Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. **Legenda:** Pt: *P. tuberculatum*; Pc: *P. carniconnectivum*; Pp: *P. permucronatum*; Pu: *P. umbellatum*; Pn: *P. nigrum*; Ph: *hispidum*; Cv: Casa de vegetação; Cp: Campo; Tl: talo; Fo: folha; In: Inflorescência; Se: secos; Fr: frescos; Aq: Aquoso.

Segundo Santos et al. (2013), é importante identificar os produtos que têm efeito sobre a mortalidade de *M. incognita*, pois podem ocasionar redução no número de nematoides que penetram nas raízes e, deste modo reduzindo ou aumentando em outras variáveis nematológicas, influenciando também fatores de reprodução.

Quanto ao peso da matéria seca do sistema radicular (PSSR) do cafeeiro (figura 6), os resultados confirmam o comportamento evolutivo da variável que, em função dos extratos, de *Piper tuberculatum*, *P.*

hispidum, *P. umbellatum*, *P. carniconnectivum*, *P. nigrum* e *P. permucronatum* ao apresentarem um maior desempenho, quando comparados ao controle água.

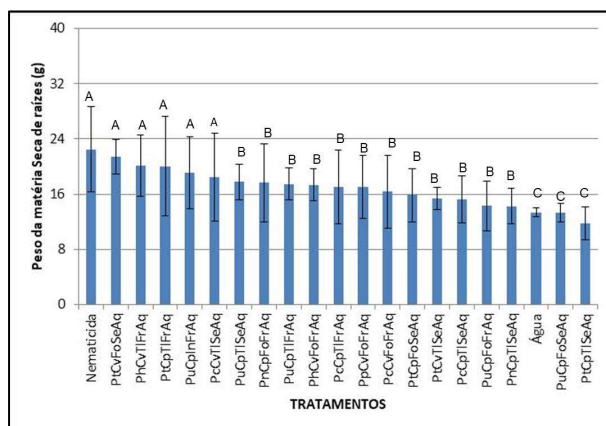


Figura 6: Peso da matéria seca de raízes das plantas de cafeeiros cultivadas sob diferentes tratamentos com extratos inoculadas com nematoide das galhas *M. incognita*. Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. **Legenda:** Pt: *P. tuberculatum*, Pc: *P. carniconnectivum*; Pp: *P. permucronatum*; Pu: *P. umbellatum*; Pn: *P. nigrum*; Ph: *hispidum*; Cv: Casa de vegetação; Cp: Campo; Tl: talo; Fo: folha; In: Inflorescência; Se: secos; Fr: frescos; Aq: Aquoso.

Observa-se, pois, que os extratos testados, independentemente da espécie, parte da planta, ou tipo de processamento não influenciaram negativamente no desenvolvimento das mudas, mas afetaram a colonização radicular pelo patógeno, reduzindo a população de *M. incognita* de forma ampla. Para as plantas mantidas como testemunhas negativas, ou seja, aquelas cultivadas em solo infestado e sem tratamento algum observa-se valor médio do peso. Estes dados mostram efeito inibitório sobre infectividade do nematoide das galhas *M. incognita*.

Estes resultados se assemelham ao de Matos (2015) que, testando com extratos aquosos de diferentes espécies vegetais no controle de *Meloidogyne* em raízes de tomateiro e feijoeiro, observou que as mesmas não afetaram significativamente o peso da matéria seca de raízes, quando comparadas ao controle com água, independentemente da forma de preparo e da parte da planta utilizada nos ensaios.

Ferreira et al. (2013), trabalhando com extratos aquosos de vedélia, erva-de-touro, cravo-de-defunto, girassol mexicano, botão de ouro e zínia sobre *Meloidogyne incognita*, observaram incremento do peso de parte aérea das plantas avaliadas, em relação à testemunha. Este trabalho se difere dos observados neste experimento, no qual os extratos do gênero *Piper* não afetaram significativamente o peso da matéria seca do sistema radicular, quando comparadas ao controle com água.

CONCLUSÕES

De todos os extratos testados *in vitro*, em condições de laboratório vinte extratos apresentaram efeitos inibitórios do patógeno. O extrato de *Piper hispidum* obtido a partir de folhas frescas e extrato *Piper tuberculatum* inflorescência seco, foram capazes de inibir 75% a mais que o nematicida (ação ovicida +larvicida), sendo sua principal ação, ovicida.

Nos testes *in vivo* os extratos *Piper permucronatum*, *P. tuberculatum*, *P. carniconnectivum* e *P. umbellatum* destacaram-se por apresentar maior redução no fator de reprodução, no número de galhas e número de ovos por grama de raiz de *M. incognita*. A utilização de plantas com atividade nematicida se mostrou eficiente sobre o desenvolvimento do patógeno; notadamente sobre a inibição da eclosão de J2 de *M. incognita* em cafeeiro. As diferentes partes das plantas promoveram um efeito nematicida sobre *M. incognita*.

REFERÊNCIAS

- BATISTA, L. C. S. O.; FLORENCIO, C. N.; CID, Y. P.; MAGALHÃES, V. S.; CHAVES, D. S. A.; COUMENDOUROS, K.. Bioprospecção de extratos de Jaborandi contra *Ctenocephalides felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.2, p.113-118, 2013.
- BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S.. 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.
- BORGES, D. F.. **Efeito nematicida de extratos de plantas do cerrado e óleos essenciais**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2017.
- BARBOSA, D. H. S. G.; VIEIRA, H. D.; SOUZA, R. M.; VIANA, A. P.; SILVA, C. P.. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, v.28, n.1, p.49-54, 2004.
- CORBONI, R. Z.; MAZZONETTO, F.. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v.5, n.2, p.61-66, 2013. DOI: <http://doi.org/10.18406/2316-1817v5n22013496>
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.. Efeito do tempo e da temperatura de incubação de juvenis de segundo estágio (J2) no teor de lipídio corporal e no parasitismo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.4, p.387-393, 2006. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-41582006000400009>
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, n.1, v.25, p.35-44, 2001.
- CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; FARIA, N. M. X.; BÚRIGO, A. C.; FREITAS, V. M. T.; GUIDUCCI FILHO, E.. **Dossiê ABRASCO**: Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2012.
- COSTA, G. M.; ENDO, E. H.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, T. U.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.. Antimicrobial effects of *Piper hispidum* extract, fractions and halcones against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. **Journal de Mycologie Médicale**, v.26, p.217-226, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.03.002>
- CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; NAVES, R. L.; ANDRADE JÚNIOR, W. C.; DUTRA, M. R.; COIMBRA, J. L.; MAXIMINIANO, C.; SILVA, J. R. C.. Levantamento de fitonematóides em cafezais do sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, n.1, v.32, p.56-64, 2008.
- CASTRO, M. J. P.; SILVA, P. H. S.; PÁDUA, L. E. M.. Potencial de extratos de frutos frescos e desidratados de *Piper tuberculatum* Jacq. (*Piperaceae*) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho do milho. **Magistra**, Cruz das almas, v.22, n.2, 2010.
- CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W.. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.32, p.117-121.
- DAMATTA, F. M.. Ecophysiology of coffee growth and production: review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.19, n.4, p.485-510, 2007. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1677-04202007000400014>
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.. **Manejo sustentável de fitonematóides**. Viçosa: UFV, 2010.
- FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S.. Efeito de extratos aquosos de espécies de Asteraceae sobre *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v.39, n.1, p.40-44, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-54052013000100007>
- 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.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S.. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC.; *Piper aduncum* L.; e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciências Agrotecnologia**, v.31, n.1, 2007. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1413-70542007000100017>
- GONÇALVES, A. H.; PEREIRA, A. S.; SANTOS, G.; GUIMARÃES, L. G. L.. Fungitoxicity in vitro of essential oils from *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. and their major constituents in the control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.17, n.4, p.1007-1015, 2015.
- GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X.; FREITAS, L. G.. Avaliação de extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre

Meloidogyne javanica (Treub, 1885) Chitwood, 1949
Evaluation of plant aqueous extracts, added into the soil, on *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949.

Revista Tropical: Ciências Agrárias, Londrina, v.30, n.3, p.551-556. 2009. DOI: <http://doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n3p551>

ITO, D. S.; SERA, G. H.; SANTIAGO, D. C.; KANAYAMA, F. S.; GROSSI, L. D.. Progenies de café com resistência a nematoides *Meloidogyne paranaensis* e Raca 2 de *Meloidogyne incognita*. **Coffee Science**, v.3, n.2, p.156-163, 2008. DOI: <http://doi.org/10.25186/cs.v3i2.87>

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.. Manual de Fitopatologia. **Agronômica Ceres**, São Paulo, v.1, 2005.

LOPES, J. J.; MARXA, C.; INGRASSIA, R.; PICADA, J. N.; PEREIRA, P.; FERRAZ, A. B. F.. Neurobehavioral and toxicological activities of twopotentially CNS-acting medicinal plants of Piper genus. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.64, p.9-14, 2012. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.etp.2010.05.012>

MATOS, S. I.. **Estratégias alternativas para o controle de nematoides das galhas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2015.

MOCCELLIN, R.. **Espécies de brássicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

MARQUES, A. M.; VELOZO, L. S.; CARVALHO, M. A.; HONÓRIO, N. A.; KAPLAN, M. A.; MALECK, M. L.. A potencial natural alternative source for mosquito vector control in Brasil. **Journal of Vector Borne Diseases**, v.54, n.1, p.61-68, 2017.

MIORANZA, T. M.; MÜLLER, M. A.; INAGAKI, A. M.; FUCHS, F.; RONCATO, S. C.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.. Potencial nematicida e nematostático do extrato de Curcuma longa sobre *Meloidogyne incognita*. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, v.14, n.1, p.104-109, 2016.

MIRANDA, J. E.; NAVICKIENE, H. M. D.; COUTO, R. H. N.; BORTOLI, S. A.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.. Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Apidologie**, v.34, n.4, p.409-415, 2003. DOI: <http://doi.org/10.1051/apido:2003036>.

MOREIRA, F. J. C.; FERREIRA, A. C. S.. Controle alternativo de nematoide das galhas (*meloidogyne enterolobii*) com cravo de defunto (*tagetes patula* L.), incorporado ao solo. **HOLOS**, v.31, n.1, 2015. DOI: <http://doi.org/10.15628/holos.2015.1600>

SANTOS, M. R. A.; SILVA, A. G.; LIMA, R. A.; LIMA, D. K. S.; SALLET, L. A. P.; TEIXEIRA, C. A. D.; POLLI, A. R.; FACUNDO, V. A.. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, n.2, p.319-324, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-84042010000200012>

SANTOS, M. C. V.; ESTEVES, I.; KERRY, B.; ABRANTES, S.. Biology, growth parameters and enzymatic activity of *Pochonia chlamydosporia* isolated from potato cyst and root-knot nematodes. **Nematology**, Leida, v.15, n.4, p.505-506, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1163/15685411-00002695>

SILVA, F. R. P.; ALMEIDA S. S. M. S.. Análise fitoquímica e microbiológica da atividade do extrato bruto etanólico da Andiroba, *Carapa guianensis* Aubl.. **Biota Amazônia Macapá**, n.4, v.4, p.10-14, 2014. DOI: <http://doi.org/10.18561/2179-5746>

SILVA, P. H. S.; CARVALHO, D. P.; BARRETO, A. L. H.; CASTRO, M. J. P.. Eficiência de doses do óleo essencial de *Piper tuberculatum* JACQ sobre adultos do pulgão-preto-do-feijão-caupi *Aphis craccivora* KOCH. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 3. **Anais**. Recife: 2013.

SOUSA, E. P. S.. **Bioatividade do óleo essencial de piper tuberculatum (jacq.) sobre o percevejo-vermelho-do-caupi crinocerus sanctus (fabr.) (hemiptera: coreidae)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

TRINDADE, F. T. T.; SILVA, A. A.. Avaliação da atividade larvicida dos extratos de *Piper tuberculatum* JACQ. e *Piper alatabaccum* TREL & YUNCKER sobre as larvas de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae). PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. **Anais**. Porto Velho: 2008.

VASCONCELOS, J. N. C.; CARDOSO, N. S. N.; OLIVEIRA, L. M.; SANTANA, J. R. F.; FERNANDEZ, L. G.; OBLITZ, M. G. B.; SILVA, M. L. C.. Indução, caracterização bioquímica e ultra-estrutural de calos de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Revista Brasileira de Planas Mediciniais**, v.14, n.4, p.592-597, 2012. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400004>

VIEIRA JÚNIOR, J. R.. **Levantamento da ocorrência de populações do nematoide-dasgalhas-do-cafeeiro (Meloidogyne sp.) em Rondônia**: primeira atualização. Porto Velho: Embrapa, 2015.

VIEIRA JÚNIOR, J. R.; FERNANDES, C. D. F.; RAMALHO, A.; MARCOLAN, A.; FERNANDES, N. A.; DIOCLECIANO, J.; SILVA, D. G.. **Levantamento da ocorrência de populações do nematoide das galhas do cafeeiro (Meloidogyne sp.) em Rondônia**. Porto Velho: Embrapa, 2008.