

ATIVIDADE NEMATICIDA DE EXTRATOS DE PIPERÁCEAS NO CONTROLE DOS NEMATÓIDES-DAS-GALHAS DO CAFEIRO CANÉFORA

José Roberto Vieira Junior²; Simone Carvalho Sangi³ Cléberson de Freitas Fernandes⁴; Jessica Silva Felix Bastos⁵; Aline Souza da Fonseca⁶; Tamiris Chaves Freire⁷; Liliani Ogrodowczyk⁸; Jéssica Danila Krugel Nunes⁹; Karen Cristina Chaves Oliveira¹⁰; Rodrigo Barros Rocha¹¹.

¹Trabalho financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Consórcio Brasileiro de Pesquisa do Café – FUNAPE E Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);

² Pesquisador, DSc, Embrapa Rondônia, Porto Velho - RO, jose-roberto.vieira@embrapa.br;

³ Doutorado do Programa PPG-Bionorte/Unir- Porto Velho - RO, simonecarvalhosangi@gmail.com;

⁴ Pesquisador, DSc, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza – CE, cleberson.fernandes@embrapa.br;

⁵ Doutorado do Programa PPG-Bionorte/Unir- Porto Velho - RO, jessicafelixbio@gmail.com;

⁶ Doutorado do Programa PPG-Bionorte/Unir- Porto Velho - RO, alinesouzadafonseca@gmail.com;

⁷ Doutorado do Programa PPG-Bionorte/Unir- Porto Velho - RO, tamirischavesfreire@gmail.com;

⁸ Mestre do Programa PGCA, UNIR/ Porto Velho – RO, lili_wczyk@hotmail.com;

⁹ Mestre do Programa PGCA, UNIR/ Porto Velho – RO, jessica.krugel@ifro.edu.br;

¹⁰ Graduada em Agronomia, Bolsista Consórcio Pesquisa Café, FUNAPE chavesoliveira.kc@gmail.com;

¹¹ Pesquisador, DSc, Embrapa Rondônia, Porto Velho - RO, rodrigo.rocha@embrapa.br.

RESUMO: Os nematoides-das-galhas, do gênero *Meloidogyne*, estão entre as doenças mais importantes na agricultura, ocasionando elevados prejuízos para os agricultores. Extratos vegetais com potencial nematicida se destacam como um método alternativo no manejo e controle de fitonematóides. O presente trabalho teve como objetivo averiguar a atividade nematicida de extratos de piperáceas no controle dos nematoides-das-galhas do cafeeiro *in vivo*. Foram preparados extratos de seis espécies de *Piper*: *P. carniconnectivum*, *P. umbellatum*, *P. tuberculatum*, *P. hispidum*, *P. nigrum*, *P. permucronatum*, usando folha, talo e inflorescência, frescos e secos todos na proporção 0,1 µg/ml. Como controle positivo nematicida Carbofuran. e negativo água mineral estéril. Os testes *in vivo* foram realizados em vasos de oito litros contendo solo e areia esterilizados na proporção de 2:1 (v/v), muda de café *Coffea canephora* do clone 723 as quais foram inoculadas com uma suspensão aquosa contendo 5.000 ovos de *M. incognita*. Após 24 h da inoculação com a suspensão contendo ovos de nematoides, aplicou-se ao solo 720mL por vaso dos respectivos extratos aquosos e estes mantidos em casa de vegetação. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. Dentre os extratos testados *in vivo*, dezesseis extratos apresentaram redução significativa em relação ao fator de reprodução, ao número de galhas por grama de raízes e ao número de ovos por grama de raízes provenientes do campo e casa de vegetação apresentando-se eficientes quando comparados ao controle nematicida. Os extratos das espécies *P. carniconnectivum*, *P. permucronatum*, *P. tuberculatum* e *P. umbellatum* destacaram-se dos demais testados, por demonstrar grande eficiência no controle populacional do nematoide-das-galhas. O estudo aqui exposto indica que plantas do gênero *Piper* apresentam grande potencial como fonte de compostos com ação nematicida.

PALAVRAS-CHAVE: *meloidogyne incognita*, *coffea canephora*, controle alternativo.

Nematicidal activity of Piper extracts in the control of canéphora coffes root-knot nematode.

ABSTRACT: The root-Knot-nematode, of the genus *Meloidogyne*, are among the most important diseases in agriculture, causing high losses to farmers. Plant extracts with nematicidal potential stand out as an alternative method in the management and control of plant disease caused by nematodes. The present work aimed to investigate the nematicidal activity of piperaceous extracts in the control of coffee tree root nematodes *in vivo*. Extracts of six *Piper* species were prepared: *P. carniconnectivum*, *P. umbellatum*, *P. tuberculatum*, *P. hispidum*, *P. nigrum*, *P. permucronatum*, using fresh, dried leaf, stalk and inflorescence all in the 0.1 µg / ml ratio. As a positive control Carbofuran and negative sterile mineral water. The *in vivo* tests were performed in eight-liter pots containing sterile soil and sand in the 2: 1 (v / v) ratio, seedlings of *Coffea canephora* clone 723 coffee which were inoculated with an aqueous suspension containing 5,000 *M. incognita* eggs. After 24 h of inoculation with the suspension containing nematode eggs, 720mL was applied to the soil per pot of the respective aqueous extracts and kept in a greenhouse. The experimental design was completely randomized with six replications. Among the extracts tested *in vivo*, sixteen extracts showed significant reduction in relation to the reproduction factor, the number of galls per gram of roots and the number of eggs per gram of roots from the field and greenhouse, being efficient when compared to nematicidal control. The extracts of the species *P. carniconnectivum*, *P. permucronatum*, *P. tuberculatum* and *P. umbellatum* stood out from the others tested, because they demonstrated great efficiency in the population control of gall nematode. The study exposed here indicates that plants of the genus *Piper* have great potential as a source of compounds with nematicidal action.

KEY WORDS: *meloidogyne incognita*, *coffea canephora*, alternative control.

INTRODUÇÃO

O café é uma importante commodity, 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\$ 55 bilhões anuais em todo mundo (DAMATTA et al., 2007; MAPA, 2014). O Brasil é o maior produtor e exportador (espécies *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) ocupando a segunda posição como consumidor mundial de café, sendo que os maiores Estados produtores são Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná (MAPA, 2014; CONAB, 2017). Em Rondônia, a cafeicultura é uma das atividades agrícolas mais relevantes tanto do ponto de vista econômico quanto social, desempenhando um importante papel no desenvolvimento da região sendo um dos principais pilares da base econômica de pequenas propriedades onde vigora a agricultura familiar que propicia a geração de emprego e renda a mais de 22 mil famílias no estado (EMATER, 2017; ABIC, 2017). Apesar dos avanços na cadeia produtiva do café, o setor ainda esbarra em entraves como as condições edafoclimáticas locais e uma série de problemas fitossanitários que assolam a cultura. Dentre os patógenos que atacam a cultura do cafeeiro, os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp, causam maiores prejuízos à lavoura podendo reduzir aproximadamente 15% da produção mundial e 20% da produção brasileira (ITO, 2008). O controle populacional dos nematoides das galhas tem sido feito através do uso de diversas estratégias, tais como química, física, biológica e cultural, entre outros. (CAMPOS et al., 2001). Porém a maioria dos métodos utilizados são economicamente dispendiosos e muito agressivos do ponto de vista ambiental. Diante das dificuldades impostas pela presença do patógeno nas áreas de cultivo, é necessário que produtos menos nocivos ao ambiente e a saúde humana sejam testados a fim de tornar o seu controle populacional possível, uma vez que a erradicação do patógeno em áreas contaminadas é praticamente impossível (FERRAZ; BROWN, 2016). Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade dos extratos de *Piper* sobre ovos e juvenis (J2) móvel e imóvel de *Meloidogyne incognita* quando em contato com os diferentes extratos, utilizando a câmara de contagem (câmara de Peters).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia-EMBRAPA - CPAFRO, na cidade de Porto Velho/RO, em entre os meses de agosto 2017 a janeiro de 2018, em casa de vegetação. Para os ensaios *in vivo* foram utilizados extratos aquosos, preparados com materiais secos e frescos, de folhas, talos e inflorescências de seis diferentes espécies de *Piperaceae*, sendo: *Piper carnicornectivum*, *Piper hispidum*, *Piper nigrum*, *Piper permucronatum*, *Piper tuberculatum* e *Piper umbellatum*, cultivadas em casa de vegetação e em campo experimental. Após a coleta em casa de vegetação e campo experimental, os materiais foram colocados em sacos de papel e levados a estufa de ventilação forçada a 65° C por um período de 72 horas para a obtenção do material seco e outra parte do material fresco foi imediatamente submetida ao processo de extração, os extratos foram obtidos com adaptação do método descrito por Ferris e Zheng (1999). Os inóculos de *M. incognita* usados no experimento foi submetido ao método do por Bonetti e Ferraz (1981). Para instalação do experimento, utilizou-se, solo e areia na proporção de 2:1 (v/v), autoclavado (121°C/1h), planta de *Coffea canephora*, do clone 723 suscetível. Após a inoculação com uma suspensão aquosa contendo 5.000 ovos do respectivo nematoide. Adicionou-se ao solo de cada vaso, na forma de rega, 720mL dos extratos, no período 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. Os extratos foram aplicados com adaptação da metodologia descrita por Gardiano et al. (2009). Como testemunhas utilizou-se água e nematicida carbofurano ao solo de cada vaso. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 19 tratamentos e seis repetições. Os dados foram submetidos à Anova e as médias comparadas em teste de Scott-Knott a 5%. Posteriormente cento e trinta e dois dias, após a inoculação as plantas de café, foram retiradas dos vasos com solo, separou-se a parte aérea, tendo como parâmetros as seguintes avaliações o peso seco do sistema radicular, número de galhas e o número de ovos do sistema radicular. Para os cálculos do fator de reprodução, foram consideradas as seguintes variáveis acima. Os dados obtidos nos ensaios com extratos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias comparadas em teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 19 extratos para os ensaios *in vivo* de diferentes partes das plantas, e destes 16 extratos testados se mostraram eficientes na inibição da reprodução de *M. incognita*, destacando-se os extratos de folhas secas de *Piper tuberculatum* e talos preparados nas formas fresco e seco de *P. carnicornectivum* que apresentaram redução de 100% no número de galhas (Figura 1).

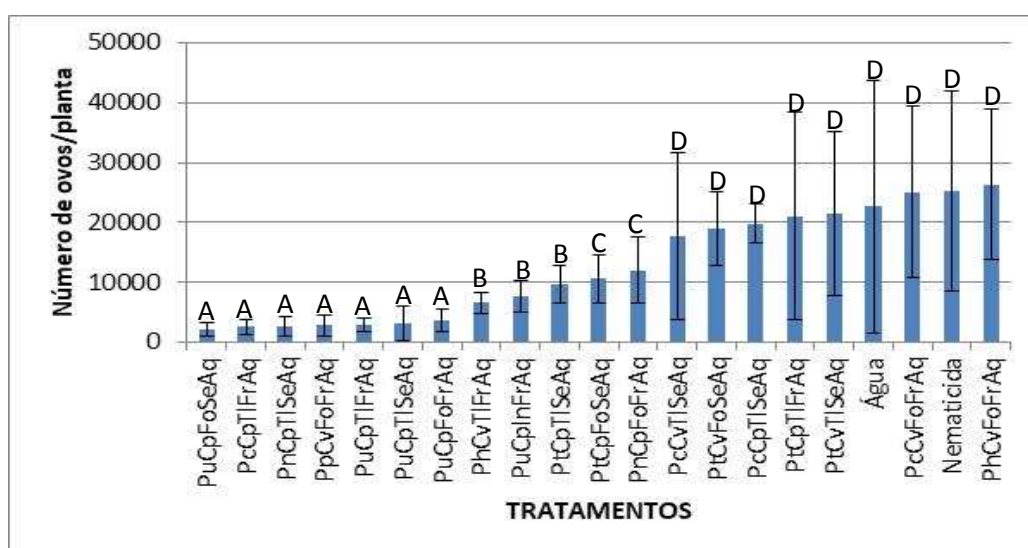


Figura 1. Efeito dos extratos aquosos de *Piper* sobre o número de galhas (NG) de *Meloidogyne incognita* em raízes de cafeeiro em condições de casa de vegetação. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. Legenda: Pt: *P. tuberculatum*, Pc: *P. Carniconnectivum*, Pp: *P. Permucronatum*, Pn: *Piper nigrum*, Ph: *Piper hispidum*; Cp: Campo, Cv: Casa Vegetação; Fo: Folha, Tl: Talo, In: inflorescências; Se: Secos, Fr: Frescos; Aq: Aquoso.

O mesmo foi observado 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 extratos causaram maior redução no número de galhas de *M. javanica*. Foi possível potencializar o controle do nematoide *M. incognita* em casa de vegetação, por meio da aplicação dos extratos aquosos ao solo na concentração de 0,1 µg/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 2).

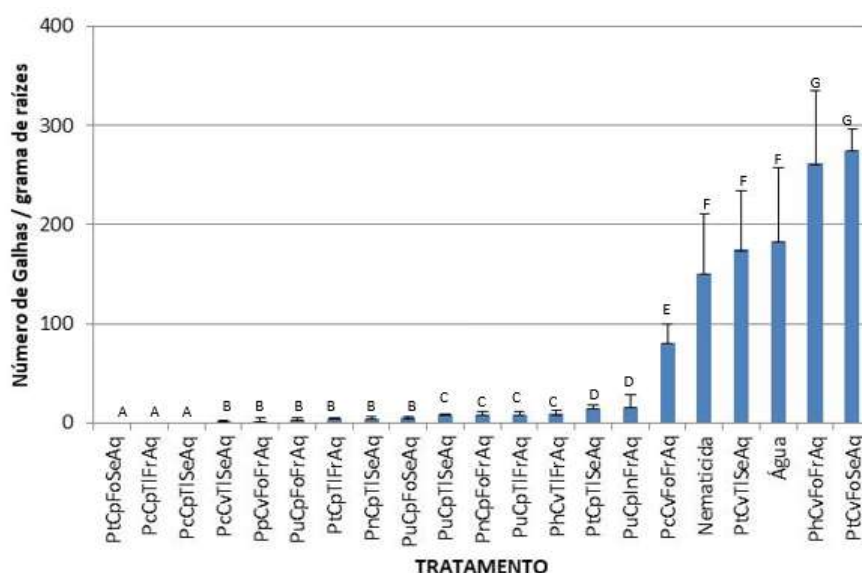


Figura 2. Efeito dos extratos aquosos de *Piper* sobre o número de galhas (NG) de *Meloidogyne incognita* em raízes de cafeeiro em condições de casa de vegetação. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. Legenda: Pt: *P. tuberculatum*, Pc: *P. Carniconnectivum*, Pp: *P. Permucronatum*, Pn: *Piper nigrum*, Ph: *Piper hispidum*; Cp: Campo, Cv: Casa Vegetação; Fo: Folha, Tl: Talo, In: inflorescências; Se: Secos, Fr: Frescos; Aq: Aquoso.

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

Mateus et al (2014) encontraram alto efeito nematocida testando extratos aquosos de gervão, tansagem, mulungu, pau-amargo e picão, via solo no controle de *M. incógnita*, obtiverão reduções de 74,1%, 88,0%, 97,1%, 68,9% e 87,8% no número de ovos por sistema radicular.

No fator de reprodução os tratamentos que tiveram resultados superiores à testemunha água, representados na (Figura 3). Observou-se que o extrato de folha fresco de *Piper permucronatum* foi o que apresentou melhor potencial na inibição da reprodução de *M. incognita*.

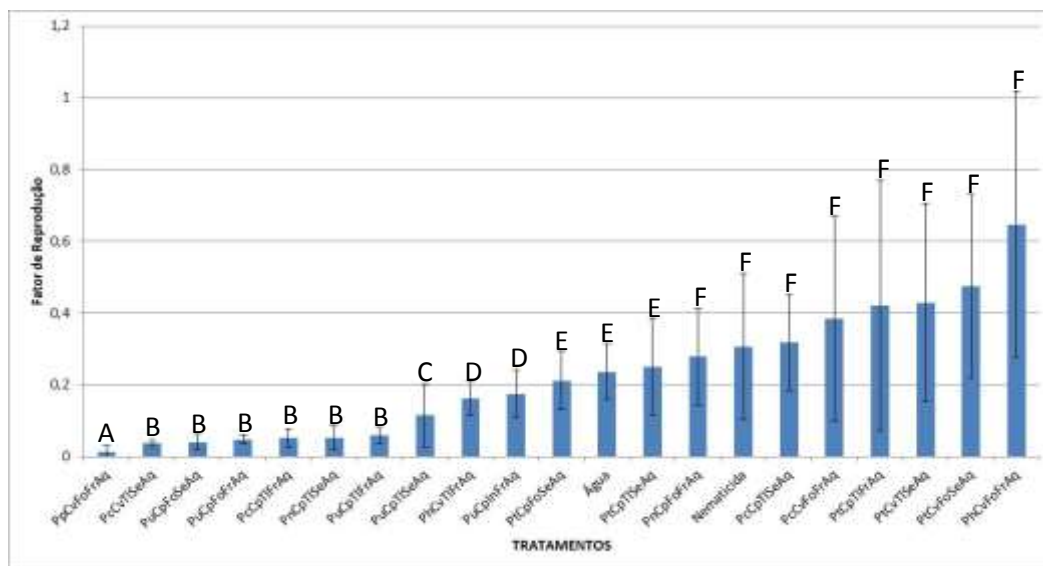


Figura 3. Efeito dos extratos aquosos de *Piper* sobre o número de galhas (NG) de *Meloidogyne incognita* em raízes de cafeeiro em condições de casa de vegetação. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. Legenda: Pt: *P. tuberculatum*, Pc: *P. Carnicconnectivum*, Pp: *P. Permucronatum*, Pn: *Piper nigrum*, Ph: *Piper hispidum*; Cp: Campo, Cv: Casa Vegetação; Fo: Folha, Tl: Talo, In: inflorescências; Se: Secos, Fr: Frescos; Aq: Aquoso.

De acordo com os resultados obtidos para o fator de reprodução, todos os tratamentos apresentaram valores menores que um, podendo ser observado até mesmo nos controles positivo e negativo. Indicando que apesar das plantas de café *Coffea canephora*, do clone 723 ser suscetíveis ao ataque do nematoide das galhas, após os extratos aplicados ao solo este fez 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.

Quanto ao peso seco do sistema radicular (PSSR) do cafeeiro, os resultados confirmam o comportamento evolutivo da variável que, em função dos extratos, de *Piper tuberculatum*, *P. hispidum*, *P. umbellatum*, *P. carnioconnectivum*, *P. nigrum* e *P. permucronatum* apresentaram um maior desempenho comparado ao controle água.

Com isso nota-se que os extratos se apresentaram de forma positiva não influenciando no desenvolvimento das mudas, reduzindo a população de *M. incognita*. 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*.

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*. Observou-se 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

1. No teste *in vivo* os extratos de folhas secas de *Piper tuberculatum* e talos frescos e secos de *P. carniconnectivum* provenientes do campo, houve uma redução de 100% do número de galhas.
2. Os extratos de *Piper umbellatum*, *P. carniconnectivum*, *P. nigrum* e *P. permucronatum*, mostraram eficientes na inibição da formação de ovos de *M. incognita*. Proporcionaram resultados satisfatórios no controle do patógeno nos testes *in vivo*.
3. O extrato aquoso de folhas frescas de *Piper permucronatum* obtidos da casa de vegetação, foi eficiente para redução do fator de reprodução de *Meloidogyne incognita*.

AGRADECIMENTOS

Os pesquisadores e estudantes presentes neste trabalho, agradecem ao apoio Financeiro, tanto no custeio das atividades, quanto nas Bolsas fornecidas à Fundação de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas e Tecnológicas e a Pesquisa do Estado de Rondônia – FAPERO (EDITAL PAP-REDE; No. do Processo: 01.1331.00033-00.033/2017); Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa do Café – CBPCafé; Ao Programa de Pós-Graduação da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal- BIONORTE; Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, D. F. Efeito nematocida de extratos de plantas do cerrado e óleos essenciais. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal,) - Universidade Federal de Viçosa Campus de Rio Paranaíba, 2017.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acomp. safra bras. café, v. 4 – Safra 2017, n.2 - Segundo Levantamento. Disponível em: <Documents/nematoides%20artigos/artigos%20sobre%20café/boletim_café_mai_20_17.pdf>. Acesso em: maio, 2017. Brasília, p. 1-104, maio 2017.
- 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.
- DAMATTA, F. M. et al. Ecophysiology of coffee growth and production: review. Brazilian Journal of Plant Physiology, Piracicaba, v. 19, n. 4, p. 485-510, 2007.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D.J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. Manaus: Norma Editora, 2016.
- 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, set.1999.
- 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.
- ITO, D. S.; SERA, G. H.; SANTIAGO, D. C.; KANAYAMA, F. S.; GROSSI, L. D. Progenies de café com resistencia a nematoides *Meloidogyne paranaensis* e Raca 2 de *Meloidogyne incognita*. Coffee Science, 3(2): 156-163, 2008.
- MATEUS, M. A. F.; FARIA, C. M. D.R.; BOTELHO, R. V.; GIARETTA, R. D.; FERREIRA, S. G.; ZALUSKI, M. W. L. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (kofoid e white, 1919) chitwood, 1949. Biosci. J., Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 730-736, 2014. Acessado em :<file:///C:/Users/simon/Downloads/18100-98458-1-PB.pdf>.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO [MAPA]. 2014. Estatísticas. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/cafe/estatisticas>. Acesso em: 25 out. 2017.