



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA
– REDE BIONORTE

**CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL DE MOLÉCULAS BIOATIVAS
PRESENTES EM PLANTAS DE *Piper* PARA O CONTROLE DE
FITONEMATOIDES DO GÊNERO *Meloidogyne* EM *Coffea canephora***

SIMONE CARVALHO SANGI

Porto Velho – RO
2024

SIMONE CARVALHO SANGI

**CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL DE MOLÉCULAS BIOATIVAS
PRESENTES EM PLANTAS DE *Piper* PARA O CONTROLE DE
FITONEMATOIDES DO GÊNERO *Meloidogyne* EM *Coffea canephora***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal de Rondônia, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Cléberson de

Freitas Fernandes Coorientador: Prof.

Dr. José Roberto Vieira Junior

**Porto Velho – RO
Fevereiro/2024**

SIMONE CARVALHO SANGI

**CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL DE MOLÉCULAS BIOATIVAS
PRESENTES EM PLANTAS DE *Piper* PARA O CONTROLE DE
FITONEMATOIDES DO GÊNERO *Meloidogyne* EM *Coffea canephora***

Tese de doutorado apresentada ao
Curso de Doutorado do Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade e
Biotecnologia - Rede BIONORTE, na
Universidade Federal de Rondônia,
como requisito parcial para a
obtenção do Título de Doutor em
Biodiversidade e Biotecnologia

Aprovada em
29/02/2024

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente



CLEBERSON DE FREITAS FERNANDES
Data: 28/04/2024 20:55:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Cléberon de Freitas
Fernandes (Orientador) Embrapa
Agroindústria Tropical

Documento assinado digitalmente



MARCELA CAMPANHARO
Data: 22/04/2024 14:43:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Marcela Campanharo
Centro Universitário Norte do
Espírito Santo
CEUNES/UFES

Documento assinado digitalmente



ALEXSANDRO LARA TEIXEIRA
Data: 24/04/2024 12:57:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. Alexsandro Lara
Teixeira Embrapa Café -
INCAPER - ES

Documento assinado digitalmente



VICTOR MOUZINHO SPINELLI
Data: 24/04/2024 13:41:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Victor Mouzinho
Spinelli Universidade
Federal de Roraima

Documento assinado digitalmente



RENATO ABREU LIMA
Data: 24/04/2024 16:50:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Renato Abreu Lima

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Simone Carvalho Sangi, (x) autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “Caracterização e Potencial de Moléculas Bioativas Bresentes em Plantas de *Piper* para o Controle de Fitonematoides do Gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Local/Data: Porto Velho, 20 de abril de 2024.



Documento assinado digitalmente

SIMONE CARVALHO SANGI

Data: 25/04/2024 19:31:09-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Simone Carvalho Sangi)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar ao meu lado nesta caminhada me amparando nos momentos mais difíceis e me mostrando o melhor caminho a ser seguido sempre.

À minha família, meu sogro, sogra, especialmente, minha mãe, irmãos, Josilélia, Wellington e meu cunhado, Jakelyno Scott, pelo apoio, confiança e compreensão.

Com amor agradeço ao meu companheiro Ednaldo pela compreensão, apoio, incentivo e carinho.

À minha Filha Pamella Victória. Dedico com amor.

Agradeço também a Deus por ter colocado pessoas tão especiais no meu caminho. Entre estas, ao meu Coorientador professor José Roberto Vieira Júnior, por me receber, como “filha científica”, confiar em meu trabalho, pela orientação, pelas contribuições, ensinamentos, oportunidades e amizade.

Ao meu orientador professor Cléberson, pela paciência e todos os ensinamentos e sempre transmitindo calma.

Ao professor Rodrigo que foi de grande importância durante a realização dos meus experimentos por todo tempo cedido e material, desculpe pelos apereios, obrigada pelo apoio e atenção!

Aos meus amigos (a) Renata, Celso, Francisco e os técnicos do Laboratório de solo, que foram pacientes e sempre dispostos em ajudar.

Ao Sr. Miranda, por sempre me ajudar nas mais diversas atividades e nos momentos em que eu estava quase pirando, ao Sr. Domingos (*in memoriam*).

Aos estagiários do laboratório de Fitopatologia: Vaneide, Francisco Em especial à Tamiris, Aline e Jessica, Karen, Liliani, Rita pelo carinho e incentivo,

Ao Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte - Unir, pela oportunidade.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária– Embrapa- RO-CPAFRO.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram nesta importante caminhada.

Meus agradecimentos.

Melhor é o homem paciente do que o guerreiro, mais vale controlar o seu espírito do que conquistar uma cidade (Provérbios 16:32).

SANGI, Simone Carvalho. **Caracterização de moléculas bioativas presentes em plantas de *Piper* para o controle de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora***. 2024. 85 fl. Tese (Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2024).

RESUMO

Os nematoides pertencem ao gênero *Meloidogyne* e são amplamente conhecidos por causarem danos às culturas de importância econômica. Entre esses nematoides, a espécie *M. incognita* se destaca devido à sua grande capacidade de infestar uma variedade de plantas. Embora existam estratégias adotadas como medidas de controle da população de fitonematoides no campo, o seu uso em culturas formadas é bastante limitado, o que faz dos nematicidas praticamente a única opção para combater o problema. Diante da dificuldade encontrada no controle desses nematoides torna-se necessária a busca por compostos químicos provenientes de diferentes fontes naturais, que apresentem potencial eficaz no controle de nematoides e não tóxicos para organismos não alvos. Assim o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito, *in vitro* e *in vivo*, de extratos e frações de *P. hispidum*, em diferentes concentrações, contra o fitonematoide *M. incognita*. Para avaliação *in vitro* os extratos vegetais foram preparados utilizando-se suas frações orgânica e aquosa. Para avaliação foram preparados extratos aquosos e alcoólicos, obtidos a partir de materiais secos de folhas, talos e inflorescências. As variáveis avaliadas nos testes *in vitro* foram: o número de ovos (NO), juvenis (J2) eclodidos móveis e imóveis (JMI), ambos avaliados no décimo sexto dia. Diferentes partes da planta de *Piper hispidum* como folhas, talos e inflorescências tiveram efeito nematicida contra o *Meloidogyne incognita*. Avaliação *in vivo* foi conduzida na casa de vegetação da Embrapa Rondônia em Porto Velho. Nas avaliações feitas foram consideradas as seguintes variáveis: o número de galhas por grama de raízes (NG), o número de ovos (NO), a massa seca do sistema radicular (PSSR) e a massa seca da parte aérea (PSPA). A aplicação de extratos vegetais diretamente no solo pode diminuir a quantidade de ovos e galhas nas raízes se comparados ao controle negativo. Os resultados obtidos indicam a importância de estudos com produtos naturais como fonte de controle de fitonematóides de importância agrícola.

Palavras-Chaves: Controle alternativo; *Meloidogyne incognita*; café; extratos botânicos.

SANGI, Simone Carvalho. **Evaluation and characterization of bioactive molecules present in *Piper* plants for the control of phytonematodes of the genus *Meloidogyne* in *Coffea canephora***. 2024. 85 fl. Thesis (Federal University of Rondônia, Porto Velho, 2024).

ABSTRACT

Nematodes belong to the genus *Meloidogyne* and are widely known for causing damage to crops of economic importance. Among these nematodes, the species *M. incognita* stands out due to its great capacity to infest a variety of plants. Although there are strategies adopted as measures to control the phytonematode population in the field, their use in established crops is quite limited, which makes nematicides practically the only option to combat the problem. Given the difficulty encountered in controlling these nematodes, it is necessary to search for chemical compounds from different natural sources, which have effective potential in controlling nematodes and are non-toxic to non-target organisms. Therefore, the present work aimed to evaluate the effect, *in vitro* and *in vivo*, of extracts and fractions of *P. hispidum*, in different concentrations, against the phytonematode *M. incognita*. For *in vitro* evaluation, plant extracts were prepared using their organic and aqueous fractions. For evaluation, aqueous and alcoholic extracts were prepared, obtained from dry materials of leaves, stems and inflorescences. The variables evaluated in the *in vitro* tests were: the number of eggs (NO), mobile and immobile hatched juveniles (J2) (JMI), both evaluated on the sixteenth day. Different parts of the *Piper hispidum* plant such as leaves, stems and inflorescences had a nematicidal effect against *Meloidogyne incognita*. *In vivo* evaluation was conducted in the Embrapa Rondônia greenhouse in Porto Velho. In the evaluations carried out, the following variables were considered: the number of galls per gram of roots (NG), the number of eggs (NO), the dry mass of the root system (PSSR) and the dry mass of the aerial part (PSPA). The application of plant extracts directly to the soil can reduce the number of eggs and galls on the roots compared to the negative control. The results obtained indicate the importance of studies with natural products as a source of control of phytonematodes of agricultural importance.

Keywords: Alternative control; *Meloidogyne incognita*; coffee; Botanical extracts.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS

CAPÍTULO I

Figura 1 - *Piper hispidum* folhas e flores dispostas em espigas.....17

Quadro 1 - Resumo da análise de variância dos efeitos de extratos e das frações de diferentes partes de *Piper hispidum* (talo, folha e inflorescência) e concentrações.....33

Quadro 2 - Teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade da inibição de eclosão dos ovos e da inibição total observada com a utilização de 6 extratos aquosos provenientes de folhas, talos e inflorescência e frações da folha (orgânica, básica e aquosa) de *Piper hispidum*, avaliados em 6 diferentes concentrações.....33

Quadro 3 - Concentrações (g.mL^{-1}) associadas as probabilidades de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de diferentes extratos aquosos estimadas utilizando curvas de concentração x mortalidade. A concentração letal de 50% da população (CL_{50}) encontra-se destacada na tabela.....35

Quadro 4 - Resumo da análise de variância dos efeitos de extratos e das frações de diferentes partes de *Piper hispidum* (talo, folha e inflorescência) e concentrações (1, 3, 6, 12, 25 e 50 (g.mL^{-1}) na inibição de eclosão dos ovos de *M. incognita* (IEClos%) e inibição total (INB%).....36

Quadro 5 - Teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade da inibição de eclosão dos ovos e da inibição total observada com a utilização de 5 extratos alcóolicos provenientes de diferentes partes de *Piper hispidum*, avaliados em 6 diferentes concentrações.....37

Quadro 6 - Concentrações (g.mL^{-1}) associadas às probabilidades de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de diferentes extratos alcóolicos estimadas utilizando curvas de concentração x mortalidade. A concentração letal de 50% da população (CL_{50}) encontra-se destacada na tabela.....39

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Resumo das análises de variância da ação dos tratamentos avaliados após aplicação dos extratos via solo em mudas de café. Ensaio realizado em estufa.....	55
Quadro 1 - Número de ovos de <i>Meloidogyne incognita</i> , após aplicação dos extratos vegetais ao solo em plantas de cafeeiro.....	55
Quadro 2 - Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne ingconita</i> eclodidos em plantas de cafeeiro cultivar suscetível BRS 2357 tratadas com extratos aquosos aplicação via solo.....	57
Quadro 3 - Número de galhas do sistema radicular, massa seca da raiz e massa seca da parte aérea em plantas de cafeeiro.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BOD – Biological Organisms Development **CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento**

E.B – Extratos bruto

E.B.FO.Ph – Extrato bruto aquoso de folha de *Piper hispidum* Sw

E. B.Ta.Ph – Extrato bruto aquoso de talo de *Piper hispidum* Sw

E.B.In.Ph – Extrato bruto aquoso de inflorescência de *Piper hispidum* Sw

E.F. FO1 Ph – Extrato de folha- fração orgânica de *Piper hispidum* Sw

E.F. FO2.Ph – Extrato de folha- fração básica de *Piper hispidum* Sw

E.F. FO3.Ph – Extrato de folha- fração aquosa de *Piper hispidum* Sw

E.B FO.Ph– Extrato bruto alcóolico de Folha de *Piper hispidum* Sw **E.B.Ta.Ph – Extrato bruto alcóolico de talo de *Piper hispidum* Sw** **E.B.In.Ph– Extrato bruto alcóolico de inflorescência de *Piper hispidum* Sw**

E.F. FO1. Ph– Extrato de folha- fração orgânica 1 de *Piper hispidum* Sw **E.F.FO2.Ph –**

Extrato de folha- fração básica 2 de *Piper hispidum* Sw **HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**

RPM – Rotação Por Minuto

HPLC – High Performance Liquid Chromatography

***C. canephora* –Coffea Canephora**

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1 A PRODUÇÃO CAFEEIRA NO BRASIL.....	14
3.2 NEMATOIDES DAS GALHAS GÊNERO <i>Meloidogyne</i> Göldi.....	15
3.3 Família Piperaceae.....	16
3.3.1 <i>Piper hispidum</i> SW.....	17
REFERÊNCIAS.....	19
4 APRESENTAÇÃO DOS CAPÍTULOS.....	26
4.1 CAPÍTULO I : EXTRATOS VEGETAIS DE <i>Piper hispidum</i> NO CONTROLE DE FITONEMATOIDES.....	27
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	29
1 Introdução.....	29
2 Material e métodos.....	30
2.1 Obtenção e identificação do material vegetal.....	30
2.2 Material vegetal.....	30
2.3 Preparo dos extratos brutos para o fracionamento.....	31
2.4 Condições de fracionamento dos extratos.....	31
2.5 Multiplicação e preparo do inóculo do nematoide.....	32
2.6 Preparo das diluições seriada.....	32
2.7 Ensaio <i>in vitro</i>	32
3 Resultados e discussão.....	33
Conclusão.....	40
Agradecimentos.....	41
Referências.....	42
4.2 CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE NEMATOIDES DAS GALHAS <i>Meloidogyne incognita</i> <i>in vivo</i>	47
RESUMO.....	48
ABSTRACT.....	49

1 INTRODUÇÃO.....	50
2 METODOLOGIA.....	51
2.1 COLETA E DESCRIÇÃO DO MATERIAL VEGETAL BOTÂNICO.....	51
2.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL.....	51
2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO DAS PARTES AÉREAS DE <i>Piper hispidum</i>	51
2.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO AQUOSO BRUTO DE <i>Piper hispidum</i>	52
2.5 OBTENÇÃO DOS INÓCULOS DE <i>Meloidogyne incognita</i>	52
2.6 PREPARO DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	53
2.7 EFICIÊNCIA DE CONTROLE EM CONDIÇÕES <i>in vivo</i>	53
3 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	54
3.1 RESULTADO DO TESTE <i>in vivo</i>	54
CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS.....	59
5 DISCUSSÃO.....	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFEÊNCIAS.....	65
ANEXOS.....	69

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e o segundo consumidor mundial de café, sendo que os maiores Estados produtores são Minas Gerais, Espírito Santos, São Paulo, Rondônia e Bahia representando mais de 95% da produção nacional (CONAB, 2024).

Dentre os patógenos que atingem o 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 *et al.*, 2008)

Dentre as espécies que atacam a cultura do cafeeiro, o *M. Incognita* é apontado como uma das mais prejudiciais, devido sua ampla disseminação, alta capacidade de lesionar o sistema radicular, persistência no solo e à suscetibilidade da maioria das cultivares ao nematoide. Dificultando a implantação de novas áreas cultivadas com café e a manutenção de áreas já infestadas (CASTRO *et al.*, 2008; ROLDI *et al.*, 2015).

O uso de nematicidas industrializados é um dos métodos mais utilizados no controle desses patógenos do solo. No entanto, o emprego desses produtos para o controle desses patógenos em algumas áreas de cultivo não são permitidos, pois causam impactos importantes. Isto porque, estes produtos são tóxicos ao meio ambiente e aos seres humanos, além de aumentar os custos da produção (AUGUSTO *et al.*, 2012; PIGNATI *et al.*, 2017).

Outro fator importante quanto a ampliação do uso de nematicidas industrializados a resistência apresentada por certos patógenos a determinadas moléculas, fazendo com que estas percam sua eficiência de controlar determinados patógenos (MAGALDI *et al.*, 2002; SAN *et al.*, 2010; GODOY; MEYER, 2014).

Diante do exposto, à busca por novas alternativas, como o uso de produtos naturais que apresentem compostos bioativos vem sendo utilizado na agricultura 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; ALBUQUERQUE, 2009; GONÇALVES *et al.*, 2015;). Pesquisas apontam que uma ampla porção de extratos vegetais, obtidos de inúmeras plantas, tem sido testada quanto ao efeito no controle de diversas doenças causadas por fungos, bactérias e nematoides (PANG *et al.*, 2012). Tais compostos apresentam como vantagens, a preservação do meio ambiente e ao mesmo tempo no controle de patógenos (COSTA *et al.*, 2010; FERRAZ *et al.*, 2010; AUGUSTO *et al.*, 2012; BATISTA *et al.*, 2013).

Além das vantagens econômicas, a utilização de novas alternativas para controle de nematoides durante o plantio de cafeeiros reduzirá a contaminação do

ambiente, por proporcionar a diminuição do uso de agroquímicos na cafeicultura (GONÇALVES *et al.*, 2004).

A aplicação dos extratos naturais preparados diretamente pelo agricultor pode ser uma possibilidade de manejo contra microrganismos fitopatogênicos, principalmente em pequenas áreas e/ou, em sistemas agrícolas que restringem a aplicação de produtos químicos, por exemplo, a agricultura orgânica (SANTOS; SILVA, 2015).

Nesse contexto, de plantas com propriedades fitoquímicas, podemos citar as espécies da família Piperaceae que têm despertado interesse seja em função da importância econômica ou para fins medicinais. Essa família encontra-se distribuída em regiões tropicais e subtropicais, com cerca de 260 espécies no Brasil (JARAMILLO; MANOS, 2001; GUIMARÃES *et al.*, 2015), muitas delas na Região Amazônica. Apresentam grande potencial inseticida, fungicida e antimicrobiana (FAZOLIN *et al.*, 2007; FACUNDO *et al.*, 2008; SOUSA *et al.*, 2011).

Diversos estudos vêm caracterizando o gênero *Piper* pela abundância de metabólitos secundários bioativos, incluindo alcaloides, amidas, flavonoides e terpenos de importância econômica e medicinal sendo utilizadas na obtenção de fármacos, temperos, corantes, cosméticos, bebidas medicinais e inseticidas (COSTA *et al.*, 2010; NASCIMENTO, 2011; LOPES *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2017).

Óleos essenciais de espécies de *Piper* como *P. tuberculatum* e *P. hispidum* apresentam ação antimicrobiana e anti-fúngica, tanto *in vitro* como *in vivo*, o que tem justificado a investigação sobre a medicina tradicional centrada na caracterização de sua atividade (NAVICKIENE *et al.*, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014).

Óleo essencial de *P. permucronatum* e *P. hostmanianum*, mostrou alta atividade larvicida, avaliando quatro espécies ativas frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti*. A atividade biológica foi atribuída principalmente à presença dos arilpropanóides dilapiol e miristicina (MORAIS *et al.*, 2007).

O Brasil possui área plantada de aproximadamente de 2,2 milhões de hectares de café, na posição de maior produtor e segundo maior consumidor em nível mundial de *Coffea arabica* e *C. canephora*. Dentre os grandes desafios para o desenvolvimento da cafeicultura, está o Nematóide-das-Galhas, por representar um alto risco fitossanitário.

Diante disso, a busca por métodos alternativos de controle do fitonematóide ganham importância, notadamente pela necessidade de redução de impactos econômicos e ambientais causados pelo controle químico. Assim, estudos que utilizem diferentes extratos de plantas com potencialidades nematicidas tornam-se fundamentais para a identificação de métodos promissores com capacidade de evitar ou retardar a penetração dos fitonematóides.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar extratos de *Piper*, como controle alternativo do *Meloidogyne incognita*, na cafeicultura de Rondônia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar e caracterizar extratos de folhas, talos e inflorescências de *P. hispidum* com atividade bioativa;

Verificar a atividade nematocida de extratos e frações de folhas, talos e inflorescências de *P. hispidum*, por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*, sobre a eclosão de juvenis de *M. incognita*;

Avaliar o efeito de inibição de extratos e frações quanto à mortalidade e motilidade *in vitro* e *in vivo*, sobre a eclosão de juvenis de *M. Incognita*;

Determinar a concentração letal CL50 dos extratos de *P. hispidum* para larvas e ovos de *M. incognita*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

.1 A PRODUÇÃO CAFEEIRA NO BRASIL

O agronegócio impulsionado pelo desempenho das atividades agrícolas continuará a desempenhar papel central na economia brasileira e mundial. Com relação à cultura do café o crescimento de área no ano de 2021 foi de 1,82 milhão de hectares. Do total dessa área, 1,45 milhão de hectares é cultivado com café arábica e cerca de 370 mil com café conilon (CNA, 2021).

O Brasil é o principal produtor de café do mundo, bem como, maior exportador mundial de cafés, com relevância para os Estados de Minas Gerais e Espírito Santo (CONAB, 2024). Atualmente destaca-se o surgimento de um novo nicho de escolhas por cafés de melhor qualidade, e, para cobrir essa demanda por cafés diferenciados, tecnologias voltadas para o processo de produção têm sido desenvolvidas, visando a obtenção de um café de melhor qualidade, justificando, assim, o aumento de preços e também o aumento de áreas plantadas (BOAVENTURA *et al.*, 2018).

Como visto, na agricultura papéis importantes têm sido desempenhados para o avanço do agronegócio brasileiro. Entre os produtos agrícolas tem sido observado um aumento no faturamento anual, devido à exportação de diferentes produtos como: arroz, milho, soja, trigo, café entre outros. Em comparação ao ano de 2019, a alta no faturamento anual destas culturas no ano 2020, para o arroz, foi de 71,87%; trigo, 56,62%; café, 55,94%; milho, 50,72% e soja, 50,12%, com base no faturamento anual (CNA, 2021).

O café tem um importante papel na economia do país, contribuindo para o aumento nas exportações. Entre os fatores que contribuem para isso podemos destacar a melhoria na produtividade das lavouras, dos investimentos em tecnologias, como máquinas mais modernas, assim como grãos de maior qualidade, obtendo, assim, cafés que se destacam pela qualidade de bebida (CNA, 2021).

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, tendo um impacto na vida de mais de 300 mil pessoas. A cultura propicia a geração de emprego e renda à mais de 22 mil famílias no estado (EMBRAPA, 2021).

Com renovação a do parque cafeeiro em Rondônia, por meio da implantação de lavouras clonais e a adoção de um manejo mais intenso com o uso de podas, desbrotas e fertilização das lavouras, pode-se observar o aumento na produção e produtividade, e em alguns municípios já chega a 30% da área plantada (MARCOLAN *et al.*, 2009; CONAB, 2016).

Apesar dos avanços na cadeia produtiva do café, entraves como as condições climáticas da região são desafios para o setor. Surgindo-se uma série de problemas fitossanitários que podem resultar em prejuízos, reduzindo quantidade e a qualidade dos produtos (ARAÚJO, 2018; BATALHA, 2021).

.2 NEMATOIDES DAS GALHAS GÊNERO *Meloidogyne* Goeldi

No Brasil, os nematoides formadores de galhas radiculares, pertencem ao gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887) e estão amplamente disseminados nas lavouras cafeeiras, causando prejuízos econômicos à cultura, podendo provocar perdas que variam da ordem de 20 a 70% (GONÇALVES *et al.*, 2004; VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2015; RAO *et al.*, 2016).

São conhecidas 17 espécies de fitonematoides, que estão relacionadas ao cafeeiro, e são nematoides formadores de galhas radiculares. Estes nematoides são prejudiciais, devido sua ampla disseminação, à elevada capacidade de ocasionar lesões radiculares, à persistência no solo e à suscetibilidade da maioria das cultivares, o que dificulta a implantação de novas áreas cultivadas com café e a manutenção de áreas já infestadas (MACHADO *et al.*, 2020).

Entre as várias espécies de *Meloidogyne* que podem atacar a cultura do cafeeiro, há predominância de *M. incognita*. Alimentam-se de células vegetais lesionando o sistema radicular com a formação de galhas nas raízes, as quais impedem a absorção de água e nutrientes, acarretando murchamento, redução do crescimento e deficiência nutricional, afetando a produtividade e a qualidade dos frutos (CASTRO *et al.*, 2008; ROLDI *et al.*, 2015).

No Estado de Rondônia estudo realizado por Vieira Junior *et al.* (2015) em 16 municípios produtores de café verificaram que a disseminação dos nematoides continua se expandindo para novas áreas produtoras. Entre as espécies de *Meloidogyne* identificadas, a principal foi a *M. incognita*, cuja ocorrência foi verificada em quase todos os municípios avaliados, tornando-se um fator limitante para a obtenção de alta produtividade em cafeeiros.

Na literatura encontram-se descritos diversos métodos de controle de fitonematoides. Baseado no manejo dos níveis populacionais no solo, o seu controle é uma tarefa difícil, principalmente pelas limitações da maioria dos métodos utilizados. Devido a isso, o que se tem sido recomendado aos produtores são técnicas usando plantas antagonistas, rotação de culturas, variedades resistentes, controle biológico entre outros (NEVES *et al.*, 2008; PINHEIRO, PEREIRA e SUINAGA, 2014).

Alguns desses métodos nem sempre são adequados às práticas do agricultor. Dessa forma preferindo fazer o uso de nematicidas industrializados, sendo um dos mais utilizados, no controle de patógenos do solo. Portanto, há restrições em algumas áreas de cultivo ao uso de

nematicidas por serem extremamente tóxicos, causando riscos à saúde do homem, além de provocar a contaminação ao meio ambiente (FERRIS e ZHENG, 1999; NEVES *et al.*, 2005).

.3 Família Piperaceae

A família Piperaceae inclui mais de 1000 espécies distribuídas em regiões subtropicais e tropicais, abrangendo, principalmente quatro gêneros: *Piper*, *Piperomia*, *Sarchorhachis* e *Ottonia*, no qual, o gênero *Piper* é o de maior predominância (MABBERLEY, 1997). Desenvolve-se como arbusto, erva e árvores de pequeno porte (CORDOVA *et al.*, 2010).

A distribuição geográfica no Brasil inclui ocorrências confirmadas nos seguintes estados: - Norte: Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins.- Nordeste: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe.- Centro-Oeste: Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso.- Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.- Sul: Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina (GUIMARÃES *et al.*, 2023).

As diferentes espécies de *Piper* possuem um valor comercial, medicinal e econômico significativo. De acordo com Yao *et al.* (2009), essas espécies são importantes do ponto de vista econômico devido ao seu uso como condimento e também por serem aplicadas no tratamento de várias doenças, tais como asma, bronquite, febre, doenças gastrointestinais e reumatismo. Estudos demonstraram que essas plantas possuem propriedades anti-inflamatórias, inseticidas, nematicidas, fungicidas anti-hipertensivas, antidiabéticos, imunomoduladores e antimutagênicos (BEZERRA *et al.*, 2008; XIE *et al.*, 2011).

Estudos realizados com extratos vegetais e óleos essenciais, óleos dos frutos, folhas e talos *Piper tuberculatum*, *Piper hispidum*, *P. aduncum* *P. carniconnectivum*, apresentaram ação nematicida e inseticida sobre *Meloidogyne incognita*, *Aedes aegypt* e *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) (FIGUEREDO, 2014; BRAGA *et al* 2017a; BRAGA *et al.*, 2017b; SANGI *et al.*, 2018). Estudos com extrato aquoso de *Capsicum*, extrato de *Cúrcuma longa*, extrato de mandioca, extratos de *Sphagneticola trilobata*, *Tridax procumbens*, *Tagetes patula*, *Tithonia diversifolia*, *Unxia suffruticosa* e *Zinnia peruviana*, demonstraram atividade inseticida, nematicida e repelente sobre *Meloidogyne incognita*, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) (AGARWAL *et al.*, 2010; MAZZONETTO *et al.*, 2015; MIORANZA *et al.*, 2016; GITAH *et al.*, 2021).

O óleo essencial de *Piper macedoi* extraído de suas folhas frescas, relata alta atividade larvicida contra acaro da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (BEZERRA *et al.*, 2022).

.3.1 *Piper hispidum* Sw.

Um arbusto de porte médio, podendo atingir de 2 a 4 metros de altura, apresenta tricomas escabrosos nos ramos. Suas folhas possuem pecíolo com comprimento de 0,5 a 1 cm, sendo híspidas e com bainha basal. A lâmina das folhas é elíptica ou ovado- elíptica, medindo de 10 a 16 centímetros de comprimento por 5 a 8 centímetros de largura. A base da lâmina é assimétrica, com um dos lados arredondados e diferindo em tamanho de 3 a 5 mm do outro lado. Quando a lâmina é simétrica, possui ápice pontiagudo. As folhas são cartáceas, apresentando tricomas escabrosos ou híspidos na face superior e hirsuta na face inferior. Possuem glândulas profundas. As nervuras secundárias são de 4 a 5, ascendentes, dispostas abaixo ou um pouco acima da porção mediana da lâmina. As flores estão dispostas em espigas eretas, que medem de 8 a 14 centímetros de comprimento. O pedúnculo das espigas pode medir até 1 centímetro de comprimento e é hirtelo. As bractéolas das flores possuem formato triangular e são peltadas e franjadas na margem. A planta possui quatro estames. Seus frutos são do tipo drupas oblongas ou lateralmente comprimidas e apresentam papilas puberulentas na parte superior. Possuem três estigmas persistentes sésseis (Figura 1) (GUIMARÃES e GIORDANO, 2004).

Figura 1- *Piper hispidum* folhas e flores dispostas em espigas



Fonte: https://www.picturethisai.com/pt/wiki/Piper_hispidum.html

A espécie *Piper hispidum* Sw, também conhecida por jaborandi ou falso-jaborandi possui propriedades anti-fúngicas devido às suas amidas. Essa planta tem sido amplamente utilizada na medicina popular no tratamento de problemas de pele e cabelo (Navickiene *et al.*, 2000). Recentemente, foi realizada uma análise comparativa dos óleos voláteis de diversas

espécies de Piperaceae, incluindo o *Piper hispidum* (MESQUITA *et al.*, 2005; POTZERNHEIM *et al.*, 2006).

A busca por métodos alternativos de controle para nematoides têm impulsionado estudos com produtos naturais, como por exemplo, a busca por plantas capazes de produzir uma diversidade de compostos bioativos, notadamente em seu metabolismo secundário, que possuam atividades antifúngicas, inseticidas e ou nematicidas contra fitopatógenos. Dessa forma, os produtos naturais tornam-se uma ótima alternativa no controle de pragas e doenças na agricultura (FERRIS e ZHENG, 1999; NEVES *et al.*, 2005; GARDIANO *et al.*, 2011; NEWMAN E CRAGG, 2020).

Assim, estudos que visem identificar espécies vegetais e compostos isolados com potencial para desempenhar atividades biológicas são fundamentais para a descoberta e o desenvolvimento de novos agentes de controle para fitopatógenos de importância econômica, promovendo, assim, o desenvolvimento na agricultura brasileira, com redução da dependência tecnológica.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, V.; LAL P.; PRUTHI, V. Effect of Plant Oils on *Candida albicans*. **J. Microbiol Immunol Infect**, v.43, n. 5, p. 447–451, 2010.

AGRIOS, G. N. Plant pathology. 4 ed. New York: Academic Press, 635 p. 2007.

ANDRADE, H.E.A. et al. Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de ARAÚJO, M. J. **Fundamentos do Agronegócio**. 5o Edição ed. São Paulo: Atlas, 2018.

AUGUSTO, L. G. D. S.; CARNEIRO, F. F.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; BURIGO, A. C. **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: **ABRASCO**, 2012.

BASTOS, C.N., ALBUQUERQUE, P.S. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle empós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. 2009. IN: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Comissão Executiva do Plano da Lavoura **Cacaueira -Superintendência do Estado do Pará** – Serviço de pesquisa. Belém do Pará.

BATALHA, M. O. **Gestão Agroindustrial**. 4º ed. São Paulo: ATLAS EDITORA, 2021.

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 felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.2, p.113-118, 2013.

BEZERRA, V. M.; FERREIRA, E. G. S.; SANTOS, G. W.; OLIVEIRA, G. L.; MOREIRA, D. L.; VIEIRA, T. M.; DUARTE, E.; DEUS, R. G.; LIMA, M. R.; RONE, M. N. B. Acaricide activity of *Piper macedoi* Yunk essential oil against *Rhipicephalus sanguineus*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. e18911124610, 2022. doi: 10.33448/rsdv11i1.24610.

BOAVENTURA, P.S.M.; ABDALLA, C.C.; ARAÚJO, C.L.; ARAKELIAN, J.S. Cocriação de valor na cadeia do café especial: o movimento da terceira onda do café. **Revista de Administração de Empresas**, São Paulo, v. 58, n.3, p. 254-266, 2018.

doi.org/10.1590/S0034-759020180306.

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.

BRAGA, A. G. S. **Avaliação *in vitro* da atividade pesticida de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) para o controle das infestações de *Rhipicephalus microplus* (Ixodidae) e *Haematobia irritans* (Muscidae)**. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas – UFAM. Manaus – AM, 2017.

BRAGA, A. G. S.; BARBIERI, F. S.; BRITO, L. G.; CELESTINO, C. O.; COSTA, T. S.; FACUNDO, V. A.. Atividade pesticida de extratos de *Piper tuberculatum* Jacq sobre *Haematobia irritans* L. 2017. **BIOTA AMAZÔNIA** ISSN 2179-5746 DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n1p54-57>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Espécie *Curcuma longa* L. (*Curcuma*). (Monografia)**. Ministério da Saúde e ANVISA, [s. l.], v. 5, p. 1–150, 2015.

BRONZERI, M. DE S., BULGACOV, S. Estratégias na cadeia produtiva do café no norte pioneiro do Paraná: competição, colaboração e conteúdo estratégico. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 16, n. 1, p. 77–91, 2014. Café- v. 04 - SAFRA 2016, n. 05 - Quarto levantamento.

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. SILVA. Levantamento de fitonematóides em cafezais do sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba: n.1, v. 32, p. 56-64, 2008.

CNA, PIB do Agronegócio. 2021, Disponível em: https://cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/sut.pib_dez_2020.

CONAB, **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acomp. safra brasileira de café, v.01 - SAFRA 2024 – Primeiro Levantamento. conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-de-cafe.

COSTA-LOTUFO, L.V; MONTENEGRO, R.C.; ALVES, A.P.N.N.; MADEIRA, S.V.F.; PESSOA, C. MORAES, M.E.A.; MORAES, M.O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual Quim.** v.2, n. 1, p.47- 58, 2010. doi. 10.5935/1984-6835.20100006.

EMBRAPA, **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)**. Cafeicultura da Amazônia recebe primeira denominação de origem para cafés canéforas sustentáveis do mundo. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.com.br/agronegocio/cafeicultura-da-amazonia-recebe-primeira-denominacao-de-origem-para-cafes-caneforas-sustentaveis-do-mundo/>

GUIMARÃES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 84, p. 21-46, 2004.

GUIMARÃES, E.F.; MEDEIROS, E.V.S.S.; QUEIROZ, G.A. *Piper* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12735>>. Acesso em: 09 out. 2023.

FACUNDO, V. A.; POLLI, A. R.; RODRIGUES, R. V.; MILITÃO, J. S. L. T.; STABELLI, R. G.; CARDOSO, C. T. Constituintes químicos fixos e voláteis de talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum*. **Acta Amazônica**, v. 38, n. 4, p. 733-742, 2008.

FARIAS, A. M. **Bioatividade do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq sobre a lagarta-docartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith. 1797) (Lepidoptera:Noctuidae).** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2012.

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.

FERNANDES, C. F.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; SILVA, D. S. G.; REIS, N. D. ANTUNES JÚNIOR, H. Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes

fitopatogênicos. **Documentos**, n. 133, Embrapa Rondônia, Porto Velho-RO, 2009. 18 p.

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.

FIGUEREDO, P. B. **Estudo químico e atividade larvívica do óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* L.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2014.

GARDIANO, C. G.; MURAMOTO, S. P.; KRZYZANOWSKI, A. A.; ALMEIDA, W. P.; SAAB, O. J. G. A. Efeito de extratos aquosos de espécies vegetais sobre a multiplicação de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira. **Arquivos do Instituto**. v.78, n.4, p.553-556, 2011. doi.org/10.1590/1808-1657v78p5532011

GITAH, S.M.; PIERO, M.N.; MBURU, D.N.; MACHOCHO, A.K.; Repellent Effects of Selected Organic Leaf Extracts of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray and *Vernonia lasiopus* (O. Hoffman) against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **ScientificWorldJournal**. 2021. doi: 10.1155/2021/2718629.

GODOY, C.V., MEYER, M.C. Resistência a fungicidas na cultura da soja – **Fitossanidade**, 2014 Pág. 05. Embrapa Soja-Artigo em periódico.

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 Medicinais**, Botucatu, v.17,n. 4, p.1007-1015, 2015.

GONÇALVES, W.; RAMIRO, D. A.; GALLO, P. B.; GIOMO, G. S. Manejo de nematóides na cultura do cafeeiro. In: Reunião itinerante de fitossanidade do instituto biológico – café, 10, Mococa. São Paulo: **Instituto Biológico**, p. 48- 66, 2004.

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.

JARAMILLO, M.S., MANOS, P.S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (*Piperaceae*). **American Journal of Botany**, vol. 88, no. 4, p. 706–16, 2001. <https://doi.org/10.2307/2657072>.

KAMALNATH, M. Role of Biopesticides in the Management of Nematodes and Associated Diseases in Horticultural Crops, In: Plant, Soil Microbes. **Springer International Publishing, Cham**. 2016, p.117–148. doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3_7.

LOPES, J.J.; MARXA, C.; INGRASSIA, R.; NASCIMENTO PICADA, J.; PEREIRA, M.A.; MALECK, M. L. A potencial natural alternative source for mosquito vector control in Brasil. **Jounal Vector Borne Dis**, v.54, n.1, p.61-68, 2017.

MACHADO, A. C. Z.; MATUNAGA, D. S.; SANTINO, U.; IAPAR, A. S. Nematoides em café. 2020. **Revista Cultivar**

MACHADO, A. C. Z.; MATUNAGA, D. S.; SANTINO, U.; IAPAR, A. S. Nematoides em café. 2020.edição 197 da Cultivar Grandes Culturas. **Revista Cultivar** Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/artigos/nematoides-em-cafe>

MAGALDI, S.; GIRÓN, M. E.; AGUILAR, I.; RODRIGUEZ-ACOSTA, A. Antifungal activity of *Crotalaria durissus cumanensis* venom. **Mycoses**, v. 45, p. 19-21, 2002.

MARCOLAN, A. L.; RAMALHO, A. R.; MENDES, A. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; FERNANDES, C. D. F.; COSTA, J. N. M.; VENEZIANO, W. Cultivo dos cafeeiros conilon e Robusta para Rondônia. Porto Velho: EMBRAPA Rondônia, 2009. 67 p. (EMBRAPA Rondônia: Sistema de Produção, 33)

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. **Jounal Vector Borne Dis**, v.54, n.1, p.61-68, 2017.

MAZZONETTO, F.; SOSSAI, V. L. M.; BENESSATTO, R.; MELO, V. P. de; PIZETTA, L. C. Avaliação da eficiência do extrato aquoso de mandioca sobre *Meloidogyne incognita* in vitro. **Revista Agrogeoambiental**, v. 7, n. 4, 2015. doi.org/10.18406/2316-

1817v7n42015721.

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 incógnita*. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, v.14, n.1, p.104-109, 2016. doi.org/10.5327/rcaa.v14i1.1417

MORAIS, S. M.; FACUNDO, V A.; BERTINI, L. M. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 10, p. 670-675, 2007.

NASCIMENTO, J. C. D. Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2288-2311, 2012.

NASCIMENTO, K. M. **Composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais *Piper* frente a cepas de *Candida* sp.** 2011. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2011.

NAVICKIENE, H. M.; ALECIO, A. C.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. D.; YOUNG, M. C.; CAVALHEIRO, A. J.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 621-626, 2000.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Produtos Naturais como Fontes de Novos Medicamentos nas Quase Quatro Décadas de 01/1981 a 09/2019. **Revista j nat prod**, 2020. doi.10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

MESQUITA, J.M.O, CAVALEIRO C, CUNHA, A.P, LOMBARDI, J.A, OLIVEIRA, A.B 2005. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Rev Bras Farmacogn** 15: 6-12.

PANG, Y-P.; BRIMIJOIN, S.; RAGSDALE, D. W.; ZHU, K. Y.; SURANYI, R. Novel and viable acetylcholinesterase target site for developing effective and environmentally safe insecticides. **Current Drug Targets**, v. 13, p. 471-482, 2012.

PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. S.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.;

LEÃO, L. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, 22 (10):3281-3293, 2017.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(2): 246-251, 2006. 10.1590/S0102- 695X2006000200019

RAO, M. S.; UMAMAHESWARI, R.; PRITI, K.; RAJINIKANTH, R.; GRACE, G. N.; ROLDI et al. Controle de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro mediado pela aplicação de silício. In; **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. 2015, Curitiba – PR. **Anais**. p. 1-4.

SANGI, S. C.; JUNIOR, J. R, V.; FERNANDES, C. F.; BASTOS, J. S. F.; FONSECA, A. S.; FREIRE, T. C.; OGRODOWCZYK, 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, pp. 212-223. 2018. doi 10.6008/CBPC2179- 6858.2018.008.0019.

SANTOS, C. A. B., SILVA, A. P. M. Extratos vegetais de plantas daninhas contra o pulgão *Aphis craccivora* koch 1854, no feijão *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ibero – Americana de Ciências Ambientais**. Aquidabã. v. 6, n. 2, p.69–75, 2015.

SILVA, F. R. P. e 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.org/10.18561/2179- 5746/biotaamazonia.

SOUZA, J.D., SILVA, M.B.R., ARGOLO, A.C.C., NAPOLEÃO, T.H.; SÁ, R.A.; CORREIA, M.T.S.; PAIVA, P.M.G.; SILVA, M.D.C.; COELHO, L.C.B.B.A new Bauhinia monandra galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. *Intenational Biodeterioration & Biodegradation*, v. 65, p. 696- 702, 2011.

XIE, H.; YAN, M.C.; JIN, D.; YU, M.; DONG, D.; CAI, C. C.; PAN, S. L. Studies on antidepressant and antinociceptive effects of ethyl acetate extract from *Piperlaetispicum* and structure-activity relationship of its amide alkaloids. **Fitoterapia**, v.82, p. 1086 - 1092, 2011.

• APRESENTAÇÃO DOS CAPÍTULOS

O presente trabalho de Tese está estruturado em dois capítulos, os quais abordam aspectos individualizados das etapas de caracterização química dos extratos e frações obtidos a partir de folhas, talos e inflorescências de *Piper hispidum*. Como forma de contextualização da temática, esta Tese apresenta uma introdução, os objetivos do trabalho, revisão bibliográfica, aspectos metodológicos, resultados e discussão, conclusões e considerações finais.

4.1 CAPÍTULO I: EXTRATOS VEGETAIS DE *Piper hispidum* NO CONTROLE DE FITONEMATOIDES

Artigo publicado na Revista Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde (**DOI:**
10.17921/1415-6938.2024v28n1p26-331984-2295)

Extratos Vegetais de *Piper hispidum* no Controle de Fitonematoides

Plant Extracts of *Piper hispidum* in the Control of Plant-Parasitic Nematodes

Simone Carvalho Sangi^a; Tamiris Chaves Freire^{*a}; Aline Souza da Fonseca^a; Jessica Silva Félix Bastos^a; Renata Reis da Silva^b; Rodrigo Barros Rocha^b; Cléberson de Freitas Fernandes^b; José Roberto Vieira Junior^b

^aUniversidade Federal de Rondônia, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte RO, Brasil.

^bEmpresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. RO, Brasil.

*E-mail: tamirischavesfreire@gmail.com

RESUMO

O nematoide-das-galhas são mundialmente conhecidos por causar elevados prejuízos à agricultura. Uma alternativa ao uso de agroquímicos é o uso de extratos vegetais que possuem baixo custo e são menos agressivo ao meio ambiente. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade nematicida de extratos aquosos e alcóolicos de *P. hispidum*, no controle do nematoide-das-galhas. Foram coletadas folhas, inflorescências e talos de *Piper hispidum*. O delineamento foi inteiramente casualizado com seis repetições, utilizando Microtubo “Eppendorf” de 250 ML usando placas acrílicas do tipo Elisa como suporte, contendo extrato nas concentrações 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 mg/mL e a suspensão de ovos de nematoide. No décimo sexto dia após terem sido levados para a (incubadora tipo B.O.D a 25 °C), o efeito dos tratamentos sobre as variáveis foram: número de ovos, juvenis (J2) eclodidos móveis e imóveis para o cálculo da inibição e eclosão. Houve diferença significativa entre os tratamentos. O extrato bruto de folhas de *Piper hispidum* foi capaz de inibir 99.50% o qual apresentou atividade ovicida e larvicida. Extratos alcoólicos de *P. hispidum* provenientes da inflorescência possuem atividade nematicida. Os resultados obtidos indicam a importância de estudos com produtos naturais como uma fonte de controle de fitonematóides.

Palavras-chave: Extratos. Frações. Metabólitos.

ABSTRACT

The root-knot nematode is known worldwide for causing high damage to agriculture. An alternative to the use of agrochemicals is the use of plant extracts that are low cost and less aggressive to the environment. The objective of the study was to evaluate the nematicidal activity of aqueous and alcoholic extracts of *P. hispidum*, in the control of root-knot nematode. Leaves, inflorescences and stems of *Piper hispidum* were collected. The design was completely randomized with six replications, using a 250 μ L “Eppendorf” microtube using Elisa-type acrylic plates as a support, containing extract at concentrations 50; 25; 12.5; 6.25; 3.12 and 1.56 mg/mL and the suspension of nematode eggs. On the sixteenth day after being taken to the (B.O.D type incubator at 25 °C), the effect of the treatments on the variables were: number of eggs, mobile and immobile hatched juveniles (J2) for the calculation of inhibition and hatching. There was a significant difference between treatments. The crude extract of *Piper hispidum* leaves was able to inhibit 99.50% which showed ovicidal and larvicidal activity. Alcoholic extracts of *P. hispidum* from the inflorescence have nematicidal activity. The results obtained indicate the importance of studies with natural products as a source of nematode control.

Keywords: Extracts. Fractions. Metabolites.

1 Introdução

O Brasil é o maior produtor e o segundo consumidor mundial de café, responsável por um terço da produção mundial, o que o deixa como maior produtor mundial. O Brasil é o maior exportador mundial de café arábica e o segundo maior exportador de café canéfora (Conab, 2022). O *Coffea canephora* é responsável por cerca de 35% da produção mundial de café, sendo conhecido pelo seu alto vigor vegetativo e produtividade (Brainer, 2019).

Infelizmente, a cultura do cafeeiro é acometida por doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus. Dentre as espécies que atingem o cafeeiro o *M. incognita* é apontado como uma das mais prejudiciais, devido sua ampla disseminação, alta capacidade de lesionar o sistema radicular, persistência no solo e à suscetibilidade da maioria das cultivares ao nematoide. Esses fatores dificultam a implantação de novas áreas cultivadas com café e a manutenção de áreas já infestadas (Castro *et al.*, 2008; Mendonça; Lopes; Ludke, 2018).

O uso de nematicidas é um dos métodos mais utilizados no controle desses patógenos de solo. Com uma ampla área de plantio no Brasil o país assume a posição de maior consumidor de agrotóxicos do mundo. O uso desses produtos em algumas áreas de cultivo não são permitidos, isto porque estes produtos são tóxicos ao meio ambiente e aos seres humanos, além de aumentar os custos de produção (Carneiro *et al.*, 2015; Pignati *et al.*, 2017). Assim, torna-se

necessária à busca por novas alternativas de controle, a fim de conservar o meio ambiente, reduzindo impactos, e ao mesmo tempo promover o controle do patógeno no solo, melhorando a relação custo/benefício (Batista *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2010; Pignati *et al.*, 2017).

Visto que existe um crescente interesse no uso de produtos naturais, como extratos de plantas que acumulam metabólitos secundários (alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, cumarinas, triterpenos entre outros), por apresentarem potencial de aplicação como antimicrobiano, anti-inflamatório, inseticidas, acaricida e anestésico, esses materiais se apresentam como fontes importantes de moléculas sintetizadas naturalmente e biodegradáveis na natureza. Destaca-se o gênero *Piper* pertencente à família piperácea, composto por mais de 260 espécies distribuída nas regiões tropicais e subtropicais no Brasil, o qual tem sido estudado com frequência em função do seu emprego e das suas potencialidades (Braga *et al.*, 2018; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Scopel *et al.*, 2018; Singh; Ebenso; Quraishi, 2012). É importante ressaltar que este trabalho teve como objetivo verificar a ação nematicida do extrato de *Piper hispidum* como controle alternativo do *Meloidogyne incognita*.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção e identificação do material vegetal

O estudo foi conduzido na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia, em Porto Velho, RO, nas dependências do laboratório de Fitopatologia. A espécie utilizada no presente trabalho foi *P.hispidum*. A coleta do material vegetal foi realizada no período de junho a agosto de 2019, em área localizada no campo experimental da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, com coordenadas (8o 53`20``de latitude Sul e 63o 06`40`de longitude Oeste de Grw), com temperatura média diária de 25 °C e 32 mm de pluviosidade (SisGen código: A088959).

Também foram coletadas amostras para registro em herbário. As amostras foram coletadas seguindo metodologia de campo de Fidalgo *et al.* (1989). A exsiccata encontrada foi depositada no Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, localizado no Centro Universitário São Lucas, Porto Velho, RO, sob o número de registro 7767.

2.2 Material vegetal

Ramos de *Piper hispidum* contendo folhas, inflorescências e talos foram levados para laboratório e submetidos a um processo de separação entre os materiais vegetais. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa de ventilação forçada (72h, 65

°C). Posteriormente os materiais vegetais foram triturados individualmente em liquidificador industrial de alta rotação, até a obtenção de um pó fino e armazenado em temperatura ambiente em sacos plásticos, com adaptações. Conforme descrito por Araújo *et al.* (2014).

2.3 Preparo dos extratos brutos para o fracionamento

Para preparo da extração foram usados dois solventes, água mineral estéril e o álcool etílico 96%. Foram pesadas 100 gramas de cada parte da planta e colocadas em Erlenmeyer, sendo então adicionados 200 mL de cada solvente. Em seguida foram submetidos à agitação em Incubadora Shaker refrigerada (4 °C, 100 rpm, 24h). Logo após, os extratos foram filtrados em tecido de trama fina. Os extratos obtidos foram evaporados e concentrados em rota evaporador à 70 °C, e armazenadas em microtubos tipo Eppendof (1,5 mL), mantidos a -20 °C, conforme metodologia adaptada de Parekh, Jadeja e Chanda (2005). Os extratos foram pesados e diluídos em água e álcool etílico 96% obtendo-se as concentrações finais de 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL e 1,56 mg/ mL.

2.4 Condições de fracionamento dos extratos

Para a padronização do fracionamento, utilizou-se quatro solventes: hidróxido de amônio, clorofórmio, metanol e ácido sulfúrico. Aos extratos brutos secos, etanólico e aquoso, foram adicionados 16 mL de álcool metílico e 4 mL de água destilada, ou da mistura e solubilizado no ultra-som por 20 min.

Posteriormente foi adicionado 20 mL de metanol e água (4:1; v:v) e a solução foi novamente homogeneizada no ultrassom por 10 min. Esta solução foi deixada em repouso por 30 min, filtrada em papel de filtro comum e funil de büchner, sendo então obtidas duas frações (Parekh; Jadeja; Chanda, 2005; Souza *et al.*, 2009).

O filtrado foi concentrado a um décimo do volume em rotaevaporador a temperatura de 70 °C. Em seguida, a solução foi acidificada com ácido sulfúrico concentrado até obter pH 4, transferida para um funil de separação onde foram adicionados 10 mL de clorofórmio e agitada manualmente. O processo foi repetido por três vezes, separando a fase orgânica da fração básica e polar terpenóides e compostos fenólicos (Parekh; Jadeja; Chanda, 2005; Souza *et al.*, 2009).

A segunda fase recolhida foi a fração básica, adicionando hidróxido de amônio concentrado a solução até obter pH 10. Posteriormente, foram adicionados 20 mL de clorofórmio e metanol (3:1; :v) agitada manualmente e acrescentado 20 mL clorofórmio. A

última fase a ser coletada foi a fração aquosa apresentando alcaloides quaternários, N-óxidos.

As três fases obtidas, correspondendo a fração orgânica, básica e aquosa, foram evaporadas e concentradas em rotaevaporador à 70 °C, armazenadas em frascos âmbar e mantidas a temperatura ambiente até a realização dos ensaios. Para a realização dos testes, as frações obtidas foram diluídas à concentração de 50 mg/mL.

2.5 Multiplicação e preparo do inóculo do nematoide

Os nematoides foram obtidos por meio de populações identificadas de acordo com a metodologia de Carneiro *et al.*(2001). Utilizando a técnica de eletroforese e mantidas em raízes de tomateiro ‘Santa Cruz Kada’. Para o presente estudo, essas populações foram multiplicadas em chicória (*Cichorium endívia*) variedade ‘Valença’, mantidas em casa-de-vegetação. As raízes foram fragmentadas em pedaços de três cm e os ovos de *M. incognita* foram extraídos conforme a metodologia de Hussey e Barker e adaptada por Bonetti e Ferraz (1981).

2.6 Preparo das diluições seriada

Os extratos alcoólicos e aquosos foram diluídos, para realizar os testes com ovos e J2 de *M. incognita*. A preparação das concentrações foi conduzida a partir do extrato bruto e fração (50 mg/mL), com diluição seriada inicial de 1:2 obtendose concentrações finais de 25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 6 mg/mL; 3 mg/mL e 1,56 mg/mL. As quais foram utilizadas nos bioensaios em testes contra o patógeno.

2.7 Ensaios *in vitro*

Os ensaios *in vitro* foram realizados em Microtubo Tipo “Eppendorf” de 250 µL usando placas acrílicas do tipo Elisa como suporte. Para o ensaio, 100 µL da suspensão de nematoide contendo 50 ovos e extratos nas concentrações de 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL e 1,56 mg/mL das amostras a ser testadas foram utilizados. A suspensão de nematoide usada seguiu a metodologia descrita por Hussey e Barker e adaptada por Bonetti e Ferraz (1981). Como testemunhas foram usados água, álcool e nematicida (Carbofurano). As placas foram envoltas em papel alumínio e colocadas em incubada tipo B.O.D (25 °C, 15 dias).

No 16º dia após a incubação, as contagens do número de indivíduos vivos, mortos e ovos foram realizados, com auxílio de microscópio. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado empregando nove tratamentos e seis

repetições (9x6).

3 Resultados e Discussão

Houve diferenças entre os percentuais de inibição da eclosão dos ovos e total de *M. incognita*, para os extratos testados (bruto e frações), concentrações e para interação (Extratos x concentrações) (Quadros 1 a 6).

Quadro 1 - Resumo da análise de variância dos efeitos de extratos e das frações de diferentes partes de *Piper hispidum* (talo, folha e inflorescência) e concentrações.

FV: Fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, CV (%): coeficiente de variação. **Fonte:** dados da pesquisa.

Esses resultados indicam ação dos extratos e das frações em seis diferentes concentrações que inibiram a eclosão dos ovos e inibição total de *M. incognita* quando submetido a bioensaio *in vitro*. O extrato bruto (EB-PhFO) de folha de *P. hispidum* foi um dos mais eficientes na inativação de juvenis J2 de *M. incognita*, dentre esses a fração básica (PhF02)

F.V.	Extratos Aquosos (IEClos%)				Extratos Aquosos (INB%)			
	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Extratos (E)	5	50292.54	10058.51	13.70**	5	84068.92	16813.78	33.48**
Concent.(C)	5	28506.62	5701.32	7.77**	5	15452.43	3090.49	6.15**
E x C	25	18352.62	734.10	6.99**	25	12555.42	502.22	7.33**
Resíduo	180	18881.37	104.90		180	12325.5	68.48	
Total	215	116033.15			215			
Média	68.31				73.02			
CV(%)	14.99				11.33			

apresentou efeito nematicida afetando a eclosão de nematoides (Quadro 2).

Quadro 2- Teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade da inibição de eclosão dos ovos e da inibição total observada com a utilização de 6 extratos aquosos provenientes de folhas, talos e inflorescência e frações da folha (orgânica, básica e aquosa) de *Piper hispidum*, avaliadas em 6 diferentes concentrações.

Inibição de Eclosão dos ovos (%)											
Concent	PhFO		PhTa		PhLn		PhFO1		PhFO2		PhFO3
1	65.62	Ad	38.18	Bc	53.97	Ac	43.25	Bb	61.75	Ab	33.07 Bd
3	81.18	Ac	42.80	Cc	52.33	Cc	51.17	Cb	62.78	Bb	41.27 Cd
6	99.50	Aa	39.83	Cc	49.08	Cc	49.28	Cb	70.80	Bb	50.50 Cc
12	87.80	Ab	74.22	Bb	67.83	Cb	58.75	Ca	74.22	Bb	57.65 Cc
25	89.33	Ab	93.83	Aa	99.50	Aa	53.17	Cb	96.48	Aa	67.78 Bb

50	99.50	Aa	97.13	Aa	94.12	Aa	62.63	Ba	99.50	Aa	99.50	Aa
Inibição total (%)												
Concent	PhFO		PhTa		PhLn		PhFO1		PhFO2		PhFO3	
1	65.62	Ac	38.18	Cc	53.97	Bc	43.25	Cc	61.75	Ac	41.65	Cc
3	81.18	Ab	42.80	Cc	52.33	Cc	51.17	Cc	62.78	Bc	50.97	Cb
6	99.50	Aa	39.83	Cc	49.08	Cc	49.28	Cc	70.80	Bb	50.50	Cb
12	92.23	Aa	74.22	Bb	67.83	Bb	64.42	Cb	74.05	Bb	57.65	Cb
25	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.67	Aa	99.50	Aa
50	99.50	Aa	99.33	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e pela mesma letra minúscula na VERTICAL não diferem entre si de acordo com o teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Legenda: PhFO: Extrato bruto *P.hispidum* aquoso de folha; PhTa: Extrato bruto aquoso *P. hispidum* de talo; PhLn: Extrato bruto aquoso *P. hispidum* de inflorescência; PhFO1; fração orgânica *P.hispidum* PhFO2: fração básica de *P. hispidum* PhFO3: fração aquosa *P. hispidum*. **Fonte:** dados da pesquisa.

Esses resultados indicam ação dos extratos e das frações em seis diferentes concentrações que inibiram a eclosão dos ovos e inibição total de *M. incognita* quando submetido a bioensaio *in vitro*. O extrato bruto (EB-PhFO) de folha de *P. hispidum* foi um dos mais eficientes na inativação de juvenis J2 de *M. incognita*, dentre esses a fração básica (PhFO2) apresentou efeito nematicida interferindo a eclosão de nematoides.

Já os extratos bruto de talo e inflorescências (PhTa, PhLn) confirmaram seu controle de inibição nas maiores concentrações (12; 25; 50 mg mL⁻¹), enquanto a fração aquosa (PhFO3) obtida da folha também se sobressaiu com as maiores concentrações.

Em outro estudo, extrato de folhas de *P. hispidum* apresentou eficiência no controle de *Hypothenemus hampei*, broca-do-cafeeiro, indicando atividade biológica do extrato dessa espécie, com ação inseticida (Santos *et al.*, 2010). Estudos conduzidos com extratos e óleos essenciais de outra espécie do gênero *Piper aduncum*, mostraram a presença de diferentes tipos de metabólitos secundários de grande importância, com diversas atividades biológicas, como por exemplo, antibacteriana, antifúngica e inseticida, dentre outras (Pohlitz; Pinto; Mause, 2006).

Atividade inseticida também foi relatada para extratos de folhas e sementes de *Annona muricata* L. contra o pulgão preto *Aphis craccivora*, com mortalidade de 18,88% e 92,21%, respectivamente, na concentração de 1% (Rodrigues *et al.*, 2014). Em adição, Bandeira *et al.* (2017) relataram a potencialidade inseticida dos extratos de folhas e de sementes de *A. montana* no controle de ninfas de *A. craccivora*. Na concentração de 15%, o extrato hidroetanólico de folhas causou 78% de mortalidade e CL50 = 7,69%, enquanto o extrato obtido de sementes foi eficiente na concentração de 2%, proporcionando 96% de mortalidade das ninfas, com CL50 = 0,55%.

Quadro 3- Concentrações (g.mL⁻¹) associadas a probabilidades de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de diferentes extratos aquosos estimadas utilizando curvas de concentração x mortalidade. A concentração letal de 50% da população (CL₅₀) encontra-se destacada na tabela.

CL _x	Extratos (g.mL ⁻¹)					
	PhFO	PhTa	PhLn	PhFO1	PhFO2	PhFO3
1	0.01	0.08	0.02	0.04	0.00	0.03
2	0.02	0.12	0.03	0.06	0.01	0.06
3	0.02	0.14	0.03	0.07	0.01	0.07
5	0.03	0.23	0.07	0.13	0.02	0.13
10	0.06	0.42	0.14	0.25	0.05	0.25
20	0.13	0.85	0.35	0.57	0.14	0.58
25	0.17	1.11	0.50	0.78	0.21	0.79
50	0.53	3.32	2.05	2.72	0.99	2.83
75	1.61	9.92	8.40	9.44	4.65	10.10
80	2.13	13.00	11.91	12.85	6.81	13.84
90	4.40	26.55	29.88	28.95	18.63	31.77
95	8.01	47.86	63.86	56.63	42.78	63.08
98	13.48	79.80	123.38	101.34	87.96	114.36
98	15.74	92.91	150.10	120.50	109.02	136.51
99	24.69	144.58	265.35	199.35	203.40	228.39
R ²	0.28	0.35	0.24	0.29	0.19	0.28

CLX: Concentração letal a diferentes concentrações variando de 1 a 99. Legenda: PhFO: **Extrato bruto** *P. hispidum* **aquoso de folha**; PhTa: **Extrato bruto aquoso** *P. hispidum* **de talo**; PhLn: **Extrato bruto aquoso** *P. hispidum* **de inflorescência**; PhFO1; **fração orgânica** *P. hispidum* PhFO2: **fração básica** de *P. hispidum* PhFO3: **fração aquosa** *P. hispidum*. **Fonte:** dados da pesquisa.

O tratamento com o extrato bruto (EB) de folhas de *P. hispidum* mostrou-se mais eficiente em comparação aos demais, apresentando CL₅₀ de inibição de ovos e forma adulta de *M. incognita* na concentração de 0,53 g.mL⁻¹ (Quadro 3).

Extrato aquoso de cúrcuma mostrou atividade nematicida sobre *Meloidogyne incognita* com redução máxima de J2 móveis de 67,27% (MIORANZA *et al.*, 2016).

O extrato bruto da folha de *P. hispidum* na concentração de 13,48 (g.mL⁻¹) proporcionou inibição de ovos e forma adulta de *M. incognita* de 98%.

Extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii*, mais conhecida como cafeeiro, apresentaram efeito tóxico sobre adultos de *Aetelion* sp. O extrato das raízes apresenta maior toxicidade (CL₅₀ = 12,4 mg.mL⁻¹) do que o extrato de folhas (CL₅₀ = 39,9

mg.mL⁻¹) (SILVA *et al.*, 2009).

Extratos de folhas, frutos e talos de *P. tuberculatum* foram avaliados quanto ao potencial inseticida para o controle da mosca-do chifre. Os extratos etanólico de folhas e talos apresentaram CL50 de 61,14 mg mL⁻¹ e 6,00 mg mL⁻¹, respectivamente. Para os extratos hexânicos de frutos e acetato de etila de talos as CL50 foram de 136,88 mg mL⁻¹ e 1,03 mg mL⁻¹ respectivamente, demonstrando a atividade inseticida promissora dessa espécie (BRAGA *et al.*, 2017).

Quadro 4 - Resumo da análise de variância dos efeitos de extratos e das frações de diferentes partes de *Piper hispidum* (talo, folha e inflorescência) e concentrações (1, 3, 6, 12, 25 e 50 g.mL⁻¹) na inibição de eclosão dos ovos de *M. incognita* (IEClos%) e inibição total (INB%).

Extratos Alcoólicos (IEClos%)				
F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Extratos (E)	5	5736.07	1.147.214	1.68 ^{NS}
Concent.(C)	4	2355.7	588.925	0.86 ^{NS}
E x C	20	13667.68	683.384	5.48 ^{NS}
Resíduo	150	18717.58	1.247.839	
Total	179	40477.03		
Média	79.96			
CV(%)	13.97			
Extratos Alcoólicos (INB%)				
F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Extratos (E)	5	12936.74	2.587.348	5.47**
Concent.(C)	4	2733.95	6.834.875	1.44 ^{NS}
E x C	20	9467.31	4.733.655	5.04**
Resíduo	150	14085.25	9.390.167	
Total	179			
Média	83.86			
CV(%)	11.55			

FV: Fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, CV(%): coeficiente de variação. **Fonte:** dados da pesquisa.

Quadro 5 - Teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade da inibição de eclosão dos ovos e da inibição total observada com a utilização de 5 extratos alcóolicos provenientes de diferentes partes de *Piper hispidum*, avaliados em 6 diferentes concentrações.

Inibição de Eclosão dos ovos (%)										
Concent	PhFO		PhTa		PhLn		PhFO1		PhFO2	
1	68.92	Bb	81.48	Ab	74.83	Aa	64.58	Bb	61.98	Bc
3	81.25	Ab	73.92	Ab	72.27	Aa	69.32	Ab	80.60	Ab
6	71.73	Bb	85.78	Ab	82.40	Aa	69.77	Bb	89.25	Ab
12	78.12	Bb	83.55	Bb	71.45	Ba	78.03	Bb	99.50	Aa
25	78.10	Bb	99.50	Aa	76.32	Ba	73.55	Bb	99.50	Aa
50	99.50	Aa	88.60	Bb	82.05	Ba	99.50	Aa	63.55	Cc
Inibição total (%)										
Concent	PhFO		PhTa		PhLn		PhFO1		PhFO2	
1	68.92	Bc	81.48	Ab	74.83	Ab	64.58	Bc	61.98	Bc
3	81.25	Ab	73.92	Ab	72.27	Ab	69.32	Ac	80.60	Ab
6	71.73	Cc	85.78	Bb	99.50	Aa	69.77	Cc	89.25	Ba
12	83.07	Bb	83.55	Bb	94.60	Aa	85.88	Bb	99.50	Aa
25	78.10	Bb	99.50	Aa	99.50	Aa	81.02	Bb	99.50	Aa
50	99.50	Aa	99.50	Aa	89.98	Aa	99.50	Aa	78.15	Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e pela mesma letra minúsculas na VERTICAL não diferem entre si de acordo com o teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Legenda: PhFO: **Extrato bruto alcoólico de *P. hispidum* de folha**; PhTa: **Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de talo**; PhLn: **Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de inflorescência**; PhFO1; **fração orgânica *P. hispidum*** PhFO2: **fração básica de *P. hispidum***. **Fonte:** dados da pesquisa.

Todos os extratos inibiram a eclosão *in vitro* de *M. incognita*, obtendo uma porcentagem significativa de inibição sobre a eclosão dos ovos com média variando de 99,50% a 61.98%. Essa diferença de atividade pode ser em razão das concentrações dos princípios ativos presentes nas diferentes partes da planta.

O extrato da folha fração básica alcoólico PhFO2 nas concentrações de 12 e 25 mg mL⁻¹ apresentaram percentuais de inibição de 99,50%. A eficiência de inibição da eclosão de ovos em torno de 99,50%, proporcionada tanto pelo extrato aquoso bruto das folhas (PhFO), quanto pelo extrato alcóolico bruto da inflorescência (PhLn) indica o potencial nematicida *P. hispidum* para controle de *M. incognita*. Esses compostos podem apresentar algumas vantagens em relação aos produtos químicos, tais como: baixo custo/benefício.

Em relação aos princípios bioativos de *Piper hispidum* constituem de amidas, benzenos, ácidos benzoicos, flavonoides e óleos essenciais, dos quais 17 têm significativa atividade antifúngica, antimicrobiana, antiplasmodial, leishmanicida e inseticida (NASCIMENTO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014).

Estudos fotoquímicos observaram que espécie de *P. hispidum* possui alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, compostos fenólicos, cumarinas e triterpenos (FREIRE *et al.*, 2022).

Estudos relataram que o extrato aquoso de folhas de *Piper hispidum*, teve uma eficiência de 75% em relação à redução da eclosão de J2 de *M. incognita* (Sangi *et al.*, 2018).

Outros estudos mostraram que extratos, frações e substâncias isoladas de *P. umbellatum* apresentaram um amplo espectro de atividades farmacológicas, como por exemplo leishmanicida, frente à forma promastigota de *L. amazonensis* (Braga *et al.*, 2007).

Analizando o óleo essencial extraído dos frutos, talos e raízes de *Piper tuberculatum* Jacq. e *P. hispidum*, autores identificaram como constituintes majoritários o dilapiol, com 57,5%, a elemicina com 24,5% e o apiol 10,2%. Por outro lado, os resultados corroboram com o encontrado que o extrato metanólico dessa espécie também mostrou resultado positivo, tendo ação inseticida contra lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Facundo *et al.*, 2008).

Algumas pesquisas descreveram compostos fenólicos encontrados na folha de *P. tuberculatum* e folha e inflorescência de *P. hispidum*. Nesses trabalhos, foram observados flavonoides em cinco das seis partes avaliadas de *P. tuberculatum* e *P. hispidum*. A presença destes compostos também foi observada em folhas, talos e inflorescência de *Piper mollicomum* Aubl, e destacam-se por suas potenciais atividades biológicas e terapêuticas, e podem variar de acordo com o tipo do solvent utilizado (Almeida *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2020).

As concentrações CL₅₀ dos extratos brutos (EB) e frações (PhFO1 e PhFO2) alcoólicos das folhas, talos e inflorescências de *P. hispidum* contra *M. incognita*, estão apresentadas na Quadro 6.

Quadro 6 - Concentrações (g.ml⁻¹) associadas as probabilidades de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de diferentes extratos alcoólicos estimadas utilizando curvas de concentração x mortalidade. A concentração letal de 50% da população (CL₅₀) encontra-se em destaque no quadro.

CL _x	Extratos (g.mL ⁻¹)				
	PhFO	PhTa	PhLn	PhFO1	PhFO2
1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
2	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
3	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
5	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
10	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
20	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01
25	0.01	0.02	0.01	0.05	0.01
50	0.15	0.16	0.10	0.51	0.10
75	3.21	1.45	1.07	4.85	1.65
80	6.86	2.50	1.93	8.47	3.30
90	50.44	10.47	9.15	36.69	20.53
95	262.12	34.18	33.12	123.14	92.90
98	1094.66	95.41	101.04	351.97	344.01
98	1675.10	129.51	140.82	481.12	507.92
99	5768.62	314.76	369.61	1193.54	1576.36
R ²	0.05	0.15	0.03	0.13	0.05

CLX: Concentração letal a diferentes concentrações variando de 1 a 99. Legenda: PhFO: Extrato bruto alcoólico de *P. hispidum* de folha; PhTa: Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de talo; PhLn: Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de inflorescência; PhFO1; fração orgânica *P. hispidum* PhFO2: fração básica de *P. hispidum*. **Fonte:** dados da pesquisa.

Os resultados desse experimento mostraram que os extratos alcoólicos brutos e as duas frações de *P. hispidum* apresentaram atividade nematicida promissora para o controle *M. incognita*. A CL₅₀ (concentração letal na inibição de ovos e formas adulta) foi observada em concentrações que variaram de 0,10 à 0,16 g.mL⁻¹ dos respectivos extratos alcoólicos exceto a fração orgânica da folha (PhFO1) cuja CL₅₀ foi obtida com a concentração de 0,51 g.mL⁻¹.

O efeito acaricida de extratos etanólicos das folhas, caules e frutos de *P. tuberculatum* contra larvas e adultos de *Rhipicephalus microplus* foi avaliado, tendo sido observado que as concentrações letais para 50% dos indivíduos (CL₅₀), após 24 horas, foram 3,62, 3,99 e 5,30 mg mL⁻¹, respectivamente. Este estudo evidencia o potencial da espécie em fornecer ingrediente ativo em formulações de pesticidas para o controle de *R. microplus* (Braga *et al.*, 2018).

Outro estudo cita o efeito inseticida de óleos essenciais de folhas de *Piper hispidinervum* C. DC. e *Piper aduncum* sobre *Sitophilus zeamais* Motsch, utilizando sete concentrações desses óleos, com a máxima concentração em 300 mg mL⁻¹ e a mínima de 10 mg mL⁻¹. Foi observada 78 e 63% de mortalidade com as concentrações entre 300 - 200 mg mL⁻¹ respectivamente (Estrela *et al.*, 2006).

Outras pesquisas apontaram que a aplicação de manipueira na concentração de 0,5

g.mL⁻¹ proporcionou um PRO de 56,04% de *M. incognita* em tomateiros em condições de campo. Também foi observado no trabalho de Guimarães *et al.* (2021), em estudo com extrato de manipueira na concentração de 0,3 g.mL⁻¹, uma redução de 49,12% na reprodução de *M. javanica* em jiloeiro (Guimarães *et al.*, 2021; Nasu *et al.*, 2010).

Alguns compostos são extraídos mais facilmente em álcool como os flavonoides, enquanto os ácidos e os açúcares pelos extratos aquosos (Edwards *et al.*, 2012). Por isso, há diferenças na eficiência no controle de *M. incognita* entre as diferentes partes da planta de *Piper hispidum* e os respectivos extratores utilizados no presente estudo.

Vale ressaltar que a utilização destes produtos naturais representa uma estratégia de controle mais econômico, pois, o uso de extratos de plantas com propriedades ativas pode ser cultivadas pelo próprio agricultor em sua propriedade (Santos; Silva, 2015).

Conclusão

As diferentes partes da planta *Piper hispidum* (folhas, talos e inflorescências) tiveram efeito nematicida sobre o patógeno *M. incognita*.

Extratos aquosos e suas frações apresentaram efeito inibitório frente ao *M. incognita*, excetuando-se a fração de folha (PhFO1) que na concentração de 50 mg mL⁻¹, apresentou baixa toxicidade.

O extrato bruto de folhas de *Piper hispidum* foi capaz de inibir 99,50%, tendo demonstrado atividades ovicidas, larvicidas.

Extratos alcoólicos (EB) de *P. hispidum* inflorescência possuem atividade nematicida sobre *M. incognita*.

Fração alcoólica obtida da folha (PhFO2) apresentou efeito com as concentrações 12 e 25 mg mL⁻¹, causando 99,50% % de inibição e mortalidade.

O uso de extratos possui vantagens, como o fato de não necessitar de grandes quantidades de solvente, tendo uma extração relativamente rápida e eficiente com a adição de solventes de baixo custo/benefício que possibilita extração de compostos secundários e potencial nematicida.

Estudos como estes ilustram a importância dos produtos naturais como uma fonte de controle de fitonematóides de importância agrícola.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, à Fundação de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas e Tecnológicas e à Pesquisa do Estado de Rondônia – FAPERO, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa.

Referências

- ALMEIDA, K.P.C. *et al.* Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper mollicomum* Kunth 56 (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *Rev Gestão Sustentabil. Amb.*, v.8, n.3, p.550-565, 2019. doi: 10.19177/rgsa.v8e32019550-565.
- ARAÚJO, K.M. *et al.* Identification of phenolic compounds Ensaio e Ciências, v.28, n.1, 2024, p.26-33. 32 and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *euphorbia tirucalli* l. antioxidants. *Basel, J. List*, v.3, n.1, p.159- 175, 2014. doi: 10.3390/antiox3010159.
- BANDEIRA, H.F.S. *et al.* Bioactivity of *Annona montana* Macfad extracts on the black cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch). *Rev Bras. Ciênc. Agrár.*, v.12 n.1, p.41-46, 2017. doi: 10.5039/agraria.v12i1a5419.
- BATISTA, L.C.S.O. *et al.* Bioprospecção de extratos de Jaborandi contra *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. *Revista Bras. Med. Vet.*, 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. *Fitopatol. Bras.*, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BRAGA, A.G.S. *et al.* Atividade pesticida de extratos de *piper tuberculatum* jacq sobre *haematobia irritans*. *Biota Amaz.*, v.7 n.1, p.54-57, 2017. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n1p54-57.
- BRAGA, A.G.S. *et al.* Acaricidal activity of extracts from different structures of *Piper tuberculatum* against larvae and adults of *Rhipicephalus microplus*. *Acta Amaz.*, v.48, n.1, p.57-62, 2018. doi: 10.1590/1809-4392201700053.
- BRAGA, F.G. *et al.* Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, v.111, n.2, p.396-402, 2007. doi: 10.1016/j.jep.2006.12.006.
- BRAINER, M.S.C.P. Análise de aspectos da produção e mercado do café. *Cad. Setorial ETENE*, v.4, n.106, 2019.

CARNEIRO, F.F. *et al.* Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Dossiê *abrasco*. Rio de Janeiro: Abrasco, 2015.

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. *Nematol. Bras.*, v.25, n.1, p. 35-44, 2001.

CASTRO, J.M.C. *et al.* Levantamento de fitonematóides em cafezais do sul de Minas Gerais. *Nematol. Bras.*, v.32, n.1, p.56- 6, 2008.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acomp. safra brasileira de café, v.01 - SAFRA 2022, n.01 – Primeiro Levantamento.

COSTA, L.V. *et al.* A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. *Rev Virtual Quím.*, v.2, n.1, p.47-58, 2010. doi:10.5935/1984-6835.20100006.

EDWARDS, J.E. *et al.* Review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, v.79, p.5-26, 2012. doi: 10.1016/j.phytochem .04.006.

ESTRELA, J.L.V. *et al.* Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropec. Bras.* v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FACUNDO, V.A. *et al.* Constituintes químicos fixos e voláteis de talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amaz.*, v.38, n.4, p.733- 742, 2008.

FIDALGO, O.; BONONI, V.L.R. Técnica de coleta, preservação e herborização de material botânico. 1989. Disponível em: https://www.academia.edu/38593254/Fidalgo_e_Bononi_1989_T%C3%A9cnicas_de_coleta_preserva%C3%A7%C3%A3o_e_herboriza%C3%A7%C3%A3o_de_material_bot%C3%A2nico. n.4, p.10-14, 2014. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia. v4n4p10-14.

FREIRE, T.C. *et al.* Avaliação fitoquímica de folhas, talos e inflorescência de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*. *Res Soc. Develop.*, v.11, n.7, p.1-6, 2022. doi: 0.33448/rsd-v11i7.30174 41111730174.

- GUIMARÃES, N.N. *et al.* Potencial de extratos de plantas e manipueira no controle de *meloidogyne javanica* em jiloeiro. *Holos*, v.37, n.8, p.1-15, 2021. doi: 10.15628/holos10311.
- MENDONÇA, J.L.; OPES, C.A.; LUDKE, I. Enxertia de tomateiro em baquicha (*Solanum stramonifolium* var inermis (Dunal) Whalen) para controle de doenças de solo. *Circular Técnica* 163. Brasília: EMBRAPA, 2018.
- MGBEAHURUIKE, E.E. *et al.* Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper* species. *South Afri. J. Bot.*, v.112, p.54-69, 2017. doi: 10.1016/j.sajb.05.007.
- MIORANZA, T.M. *et al.* Potencial nematocida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita*. *Rev. Ciênc. Agroamb.*, v.14, n.1, p.104-109, 2016. doi: 10.5327/rcaa.v14i1.1417.
- NASCIMENTO, J.C.D. *et al.* Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). *Quím. Nova*, v.35, n.11, p.2288-2311, 2012. doi: 10.1590/S0100-40422012001100037.
- NASU, E. *et al.* Manipueira Effect on *Meloidogyne incognita* *in vitro* assays and in tomato plants under greenhouse conditions. *Trop. Plants Pathol.*, v.35, n.1, p.32-26, 2010. doi:10.1590/S1982-56762010000100005.
- PAREKH, J.; JADEJA, D.; CHANDA, S. Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. *Turk. J. Biol.*, v.29, n.4, p.203-210, 2005.
- PIGNATI, W.A. *et al.* Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. *Ciênc. Saúde Coletiva*, v.22, n.10, p.3281-3293, 2017. doi: 10.1590/1413-812320172210.17742017.
- POHLIT, A.M.; PINTO, A.C.S.; MAUSE, R. *Piper aduncum* L. Planta Pluripotente e Fonte de Substâncias Fitoquímicas Importantes. *Revista fito*, v. 2, n. 1, p. 7-18, 2006.
- RODRIGUES, V.M. *et al.* Avaliação de extratos de *Annona muricata* L. sobre *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae). *Rev. Bras. Agroecol.*, v.9, n.3, p.75-83, 2014.
- SANGI, S.C. *et al.* Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canefora*. *Rev. Ibero-Am. Ciênc. Amb.*, v.9, n.8, p.212-223, 2018. doi: 10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0019.

SANTOS, C.A.B.; SILVA, A.P.M. Extratos vegetais de plantas daninhas contra o pulgão *Aphis craccivora* koch 1854, no feijão *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Rev Ibero – Am. Ciênc. Amb.*, v.6, n.2, p.69-75, 2015. doi: 10.6008/SPC2179-6858.2015.002.0005.

SANTOS, R.A. *et al.* Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Braz. J. Bot. Sci.*, v.33, n.2, p.319-324, 2010. doi: 10.1590/ S0100-84042010000200012.

SCOPEL, W. *et al.* Bioatividade de macerados de *Anthemis* SP., *Coriandrum sativum* e *Piper nigrum* contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Evidência*, v.18, n.1, p.95-109, 2018. doi: 10.18593/eba.v18i1.16872.

SILVA, F.C.O. *et al.* Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. *Rev Virtual Quím.*, v.12, n.1, p.234- 247, 2020. doi: 10.21577/1984-6835.20200018.

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 Amaz. Macapá*, v.4, n.4, p.10-14, 2014. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia. v4n4p10-14.

SILVA, L.V. Efeito de *Piper hispidum* (Piperaceae) Sobre Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith., 1797) (Lep.: Noctuidae) em Dieta Artificial. *Cad. Agroecol.*, v.13, n.2, p.8-8, 2018.

SILVA, W.C. *et al.* Avaliação do efeito tóxico de extratos de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae) em laboratório. *Rev Bras. Biociênc.*, v.7, n.2, p.129-133, 2009.

SINGH, A.; EBENSO, E.E.; QURAISHI, M.A. Corrosion inhibition of carbon steel in hcl solution by some plant extracts. *Review article. Int. J. Corrosion*, v.2012, p.20, 2012. doi: 10.1155/2012/897430.

SOARES, P.K.; BRUNS, R.E.; SCARMINIO I.S. Statistical mixture design investigation of fractionated and total extracts from *Erythrina speciosa* Andrews leaves. *J. Separation Sci.*, v. 32, n. 4, p. 644-652, 2009. doi: 10.1002/jssc.200800534.

SOUZA, E.B.R. *et al.* Enhanced extraction yields and mobile phase separations by solvent mixtures for the analysis of metabolites in *Annona muricata* L. leaves. *J. Separation Sci.*, v.32, n.23/24, p.4176-4185, 2009. doi: 10.1002/jssc.200900375.

**CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE
NEMATOIDES DAS GALHAS *Meloidogyne incognita in vivo***

Artigo em fase de processamento para ser submetido na Revista Revista Caatinga

RESUMO

Frequentemente os metabólitos secundários das plantas estão sendo estudados com o objetivo de analisar sua atividade biológica no controle de pragas e doenças de culturas de interesse agrônômico. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de inibição na eclosão, na mortalidade e na motilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* utilizado extratos e frações de *P. hispidum*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação a partir de mudas transplantadas para vasos de 8 L contendo solo e areia esterilizados, na proporção de 2:1 (v/v). Foram inoculadas com 5.000 ovos de *M. incognita*. Após 15 dias aplicaram-se 100 dos extratos por vaso. A aplicação dos extratos foi repetida aos 45 e 70 dias após a inoculação, avaliando-se as mesmas após 95 dias quanto ao número de galhas por grama de raízes (NGGR), número de ovos por grama de raízes (NOGR) e ao J2 e móveis e imóveis (J2MI). O delineamento experimental utilizado foi do tipo inteiramente casualizado, com seis repetições. Em todos os tratamentos houve redução da população dos nematoides com efeito nematicida. No entanto, é recomendada a realização de estudos adicionais para avaliar a capacidade do fitopatógeno em se tornar cada vez mais supressivo ao longo do tempo.

Palavras-chave: Piperaceae; Fitonematoide; Atividade nematicida; Café.

ABSTRACT

Often the secondary metabolites of plants are being studied with the aim of analyzing their biological activity in controlling pests and diseases of crops of agronomic interest. Therefore, the objective was to evaluate the inhibition effect on hatching, mortality and motility of second stage (J2) juveniles of *Meloidogyne incognita* using extracts and fractions of *P. hispidum*. The experiment was conducted in a greenhouse using seedlings transplanted into 8 L pots containing sterilized soil and sand, in a 2:1 (v/v) ratio. They were inoculated with 5,000 *M. incognita* eggs. After 15 days, 100 of the extracts were applied per pot. The application of the extracts was repeated at 45 and 70 days after inoculation, evaluating them after 95 days regarding the number of galls per gram of roots (NGGR), number of eggs per gram of roots (NOGR) and J2 and movable and immovable property (J2MI). The experimental design used was completely randomized, with six replications. In all treatments there was a reduction in the population of nematodes with a nematicidal effect. However, it is recommended that additional studies be carried out to evaluate the ability of the phytopathogen to become increasingly suppressive over time.

Keywords: Piperaceae; Phytonematodes; Nematicidal activity; *Coffee*.

1 INTRODUÇÃO

Existem mais de 100 tipos diferentes de plantas do gênero *Coffea*, sendo que duas delas, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner são responsáveis por quase toda a produção global de café, representando cerca de 100%. O Brasil se destaca como o maior produtor e exportador de café, além de ser o segundo maior consumidor do mundo, de acordo com informações da (CONAB, 2020).

A produção global de café para a safra 2023-2024 foi estimada em 174,3 milhões de sacas de 60 kg, das quais aproximadamente, 96,3 milhões de sacas são de café arábica, representando 55,2% da produção total. Além disso, há 78 milhões de sacas de café robusta+conilon, o que equivale a 44,8% do total da safra mundial (MAPA, 2023).

No contexto nacional, Rondônia destaca-se por abrigar o maior parque cafeeiro da Região Norte do Brasil, sendo o segundo maior produtor de *C.canephora* no país, perdendo apenas para o Espírito Santo. Alguns municípios de destaque na produção de café em Rondônia são: Cacoal, Alto Alegre dos Parecis, Nova Brasilândia d'Oeste, Alta Floresta do Oeste, Buritis e Ministro Andreazza (IBGE, 2022).

A cafeicultura foi introduzida em Rondônia nos anos 70 por agricultores migrantes das regiões Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil. pelos pequenos e médios agricultores-migrantes do Nordeste, Sudeste e Sul. Inicialmente, as principais cultivares utilizadas eram o Catuaí e o Mundo Novo, ambas pertencentes ao gênero *C. arabica* L. Porém, a partir dos anos 90, a cultivar 'Conilon' passou a dominar a maioria das plantações de café no estado. Atualmente, a área cultivada com café está estimada em 2,24 milhões hectares (CONAB, 2022).

Apesar dos avanços na cadeia de produção do café, o setor enfrenta desafios decorrentes de várias doenças que podem afetar a cultura ao longo de seu ciclo de vida. Dentre os agentes causadores de doenças nas plantações de café, os nematoides das galhas, conhecidos como *Meloidogyne* spp, têm um impacto significativo, resultando em perdas de cerca de 15% na produção global e 20% na produção do Brasil.

Diferentes estratégias têm sido utilizadas para conter a população de nematoides das galhas, incluindo métodos químicos, físicos, biológicos e culturais, entre outros, como mencionado por Campos *et al.* (2001).

Diante das dificuldades de controle do patógeno nas áreas de cultivo, é importante desenvolver e buscar alternativas mais sustentáveis e eficientes para a reduzir os nematoides, minimizar os impactos negativos ao meio ambiente e reduzir os custos envolvidos (FERRAZ; BROWN, 2016).

Assim, o objetivo nesse trabalho foi avaliar a atividade dos extratos aquosos brutos e frações de *P. hispidum* sobre *Meloidogyne incognita* na eclosão de juvenis segundo estádios, utilizando dois clones de *C. canephora* das variedades Conilon (Robusta).

2 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na cidade de Porto velho/Rondônia (EMBRAPA), entre os meses de janeiro a agosto de 2023, em casa de vegetação, nas coordenadas geográficas (80 53`20``de latitude Sul e 63o 06`40`de longitude Oeste de Grw).

2.1 COLETA E DESCRIÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

Folhas, talhos e inflorescência de *Piper hispidum* foram coletadas no período de junho a agosto de 2019 a espécie usada é cultivada no campo experimental da Embrapa Rondônia. Conduzidas ao Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, Porto Velho – RO, sob o número de registro 7767, do Centro Universitário São Lucas.

2.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

As amostras dos materiais vegetais foram acondicionadas e mantidas em estufa de ventilação forçada (a 65°C) por 48 horas. Logo após os materiais vegetais foram triturados individualmente em liquidificador industrial de alta rotação, até a obtenção de um pó fino e armazenado em temperatura ambiente em sacos plásticos e potes de vidros com adaptações, conforme descrito por Araújo *et al.* (2014).

2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO DAS PARTES AÉREAS DE *Piper hispidum*

Para a preparação da extração, foram utilizados dois solventes, sendo eles água mineral estéril e álcool etílico 96%. Cada parte da planta foi pesada em 100 gramas e colocada em um Erlenmeyer, onde foram adicionados 200 mL de cada solvente. Posteriormente, foram submetidos à agitação em Incubadora Shaker refrigerada (4°C, 100 RPM, 24 h), em seguida, os extratos foram filtrados com auxílio de um tecido de trama fina e algodão. Os extratos obtidos foram concentrados e evaporados em rota evaporador a 70°C, e armazenados em microtubos tipo Eppendof (1,5 mL), mantidos a -20 °C, conforme metodologia adaptada de Parekh *et al.* (2005).

2.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO AQUOSO BRUTO DE *Piper hispidum*

O extrato aquoso bruto (EAB) (200g) das partes aéreas de *Piper hispidum*, foi utilizado quatro solventes: hidróxido de amônio, clorofórmio, metanol e ácido sulfúrico. Foram adicionados 16 mL de álcool metílico e 4 mL de água destilada ou da mistura e solubilizado no ultra-som por 20 minutos. Posteriormente foi adicionado 20 mL de metanol e água (4:1; v:v) e a solução foi novamente homogeneizada no ultra-som por 10 minutos. Esta solução foi deixada em repouso por 30 minutos, filtrada em papel de filtro comum e funil de büchner, sendo então obtidas duas frações (PAREKH *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2009).

A mistura foi concentrada a um décimo do volume em rotaevaporador a temperatura de 70°C. Em seguida, a solução foi acidificada com ácido sulfúrico concentrado até obter pH 4, transferida para um funil de separação onde foram adicionados 10 mL de clorofórmio e agitada manualmente. O processo foi repetido por três vezes, separando a fase orgânica da fração básica e polar terpenóides e compostos fenólicos (PAREKH *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2009).

A segunda fase recolhida foi a fração básica, adicionando hidróxido de amônio concentrado a solução até obter pH 10. Posteriormente, foram adicionados 20 mL de clorofórmio e metanol (3:1; v:v) agitado manualmente e acrescentado 20 mL clorofórmio. A última fase a ser coletada foi a fração aquosa apresentando alcaloides quaternários, N-óxidos.

As três fases obtidas, corresponde à fração orgânica, básica e aquosa, foram evaporadas e concentradas em rotaevaporador a 70°C, armazenadas em frascos âmbar e mantidas a temperatura ambiente até a realização dos ensaios. Para a realização dos testes, as frações obtidas foram diluídas à concentração de 50 mg mL⁻¹.

2.5 OBTENÇÃO DOS INÓCULO DE *Meloidogyne incognita*

Os nematoides *M. incognita* utilizados no experimento foram obtidos de populações puras coletadas no Campo experimental da Embrapa – RO, em Ouro Preto do Oeste. Essas populações foram identificadas de acordo com metodologia proposta por Santos (2017). Identificadas de acordo com a metodologia de Carneiro *et al.* (2001). Essas populações foram multiplicadas em plantas de tomateiro (Santa Cruz Kada) e chicória (*Cichorium endívia*) variedade “Valença” e mantidas em casa-de-vegetação.

A extração dos nematoides foi realizada utilizando o método de Hussey e Barker, adaptado por Boneti e Ferraz (1981). A contagem dos ovos tem como objetivo a calibração da suspensão foram realizadas seis repetições e a partir destas obtendo-se uma média de 5.000 ovos/vaso.

2.6 PREPARO DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

Nesta etapa, foram analisados o extrato bruto e fração a partir da concentração (50 mg mL⁻¹), com diluição seriada inicial de 25 mg mL⁻¹ e 12,5 mg mL⁻¹. As quais foram utilizadas nos bioensaios em testes contra o patógeno.

2.7 EFICIÊNCIA DE CONTROLE EM CONDIÇÕES *IN VIVO*

Para os ensaios *in vivo* foram utilizadas mudas de café *Coffea canephora* do clone BRS 2357 suscetível ao nematoide, estas preparadas no Campo experimental da Embrapa em Ouro Preto do Oeste. As mudas com quatro meses foram transplantadas para vasos de oito litros contendo solo e areia esterilizados, na proporção de 2:1 (v/v). Quarenta e nove dias depois de transplantadas foram inoculados com uma suspensão aquosa contendo 5.000 ovos do respectivo nematoide. Após 15 dias foram aplicados no solo, os tratamentos nas concentrações de 50 mg mL⁻¹, 25 mg mL⁻¹ e 12,5 mg mL⁻¹. As outras aplicações dos extratos foram realizadas com intervalo de 45 e 70 dias após a primeira. Nesse período, procedeu-se às aplicações dos extratos vegetais no solo na proporção de 100 mL por muda ocorrendo cinco aplicações durante todo o experimento. Foram utilizados como controle positivo e negativo água e nematicida (Furadam). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 tratamentos e seis repetições.

Durante 95 dias, as plantas foram mantidas em casa de vegetação e receberam manualmente irrigação. Após esse período, as plantas foram retiradas dos vasos com solo para seguintes avaliações, massa seca do sistema radicular o número de galhas e o número de ovos por sistema radicular. Ambas foram pesadas em balança analítica. Após a contagem das galhas do sistema radicular, foram separadas três gramas de raízes, então as mesmas foram cortadas em pedaços de aproximadamente três cm para a extração de ovos foi utilizada a de Hussey e Barker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981). Foram realizadas três contagens de cada repetição, para quantificação o número total de ovos, imóveis e móveis.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS DO TESTE *in vivo*

Houve redução no número de ovos das populações finais de nematoides, em todos os tratamentos com os extratos brutos aquosos e frações testadas, quando comparados com a testemunha negativa água (Tabela 1).

No entanto, ao analisar os resultados, pode-se observar neste estudo que, os extratos e as frações não apresentaram valores significativos entre as variáveis (Quadro 1).

Tabela 1. Resumo das análises de variância da ação dos tratamentos avaliados após aplicação dos extratos via solo em mudas de café. Ensaio realizado em estufa.

FV	GL	Nº OVOS	J2 MÓVEL	J2 IMÓVEL	Nº GALHAS
Tratamentos	11	162,87**	129,44**	67,85*	317,99**
Extratos (E)	9	30,51**	0,01	69,93**	24,15**
Testemunhas (T)	1	990,05**	776,64**	99,40**	2096,95**
Ext	1	526,87**	647,20**	17,50**	1183,60**
Resíduo	60				
Média geral		17,31	4,09	2,06	47,28
Média extratos		10,73	1,66	1,81	29,87
Média Testemunha +		0,8	0,02	0,02	7,4
Média Testemunha -		99,67	49	6,67	261,33

FV: Fonte de variação, GL: graus de liberdade.

Quadro 1 - Número de ovos de *Meloidogyne incognita*, após aplicação dos extratos vegetais ao solo em plantas de cafeeiro.

Nº de ovos			
Tratamentos	Concentrações/ mg mL ⁻¹		
TESTEMUNHA	-	99.66667	a
E.B.Fo.Ph	50	31.83333	b
E.B.Fo.Ph	25	26.16667	b
E.B.Fo.Ph	12,5	25.66667	b
E.F.FA3.Ph	12,5	10.5	c
E.B.Ta.Ph	12,5	4.0	c
E.B.Ta.Ph	25	3.16667	c
E.F.FA3.Ph	50	2.66667	c
E.B.Ta.Ph	50	2.5	c
E.Ta.FA3.Ph	12,5	.8	c
TESTEMUNHA	+	.8	c
E.Ta.FA3.Ph	50	.0	c

Cultivar suscetível de *Coffea canephora* do clone BRS 2357, teste Tukey a 5% de probabilidade. **Legenda:** E.B.FO.Ph: Extrato bruto de folha de *P.hispidum*; E.F.FA3.Ph:

Extrato de folha fração aquosa de *P.hispidum*; E.B.Ta.Ph: Extrato bruto de talo de *P. hispidum* ; E.Ta.FA3.Ph: Extrato de talo fração aquosa de *P. hispidum*.

Para os extratos testados (bruto e frações), foi observado menor número de ovos de *M. incognita*, com as frações de talos e folhas nas concentrações 50 e 12,5 mg mL⁻¹ e os tratamentos de extrato bruto de talo nas concentrações de 50, 25 e 12,5 mg mL⁻¹ se igualaram às do Carbofuran (Quadro 1).

Extratos têm um efeito positivo sobre os ovos de *M. incognita*, pois retardam seu desenvolvimento, mantendo-os na primeira fase do desenvolvimento embrionário (Quadro 1).

O comportamento dos extratos aquosos de gervão, mulungu, pau-amargo, picão e tansagem foram comprovados quando submetidos a testes contra *M. incognita* e *M. javanica* em diferentes concentrações 0, 10, 20, 30, 40 e 50 g L⁻¹ (Mateus, 2012).

Araújo *et al.* (2014), testaram extratos de folhas de *P. marginatum*, *in vitro* e observaram ação inibitória do crescimento micelial do fungo *Colletotricum scovillei*.

Estudos realizados por Campos *et al.* (2002), avaliando o efeito de diversos extratos aquosos na mortalidade e na inibição da eclosão de *M. exigua*. Observaram atividades diferentes. Sugere ainda que as diferentes etapas de eclosão, como a multiplicação celular, o desenvolvimento embrionário, estão sendo afetadas por essas substâncias de forma distinta.

Constituintes químicos presentes em extratos vegetais, são biodegradáveis, são biocidas e possuem amplo modo de ação sobre os microrganismos (CHITWOOD, 2002).

É importante ter conhecimento acerca dos produtos com eficiência que afetam a motilidade de *M. incognita*, uma vez que podem resultar na diminuição do número de nematoides que invadem as raízes, Como consequência, as demais variáveis estudadas relacionadas aos nematoides, bem como dos fatores reprodutivos afetados (Santos *et al.*, 2013).

Verificam-se nesses dados que a quantidade de juvenis que eclodiram foi maior no controle negativo, onde não houve utilização do extrato. Os resultados mostraram diferença em relação a testemunha negativa, entretanto, não houve significância entre os extratos versus concentrações.

Em relação à eclosão de juvenis móveis e imóveis, observa-se que o percentual de mobilidade e mortalidade foram semelhantes, tanto para os tratamentos brutos, quanto concentrações (Quadro 2).

Quadro 2 – Número de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne ingconita* eclodidos em plantas de cafeeiro cultivar suscetível BRS 2357 tratadas com extratos aquosos aplicação via solo.

Tratamentos	Concentrações/ mg mL ⁻¹	J2 eclodidos móveis		J2 eclodidos imóveis	
TESTEMUNHA	-	49.0	a	6.66667	b
E.B.Fo.Ph	12,5	.01667	b	11.33333	a
E.B.Fo.Ph	25	.01667	b	6.66667	b
E.B.Fo.Ph	50	.01667	b	.01667	c
E.F.FA3.Ph	12,5	.01667	c	.01667	c
E.B.Ta.Ph	12,5	.01667	c	.01667	c
E.B.Ta.Ph	25	.01667	c	.01667	c
E.F.FA3.Ph	50	.01667	c	.01667	c
E.B.Ta.Ph	50	.01667	c	.01667	c
E.Ta.FA3.Ph	12,5	.01667	c	.01667	c
E.Ta.FA3.Ph	50	.01667	c	.01667	c
TESTEMUNHA	+	.01667	c	.01667	c

Legenda: E.B.FO.Ph: Extrato bruto de folha de *P.hispidum*; E.F.FA3.Ph: Extrato de folha fração aquosa de *P.hispidum*; E.B.Ta.Ph: Extrato bruto de talo de *P. hispidum* ; E.Ta.FA3.Ph: Extrato de talo fração aquosa de *P. hispidum*. teste Tukey a 5% de probabilidade.

Steffen *et al.* (2008), avaliando o efeito dos óleos de camomila, orégano, eucalipto, marcela e funcho, verificaram que, esses óleos foram menos eficientes na redução da mortalidade dos J2 de *M. graminicola*.

Em trabalho no qual estudou a eficiência do extrato etanólico de folhas de *P. hispidinervum* observaram menor efeito na mortalidade, provocando apenas 10,0% de *A. gemmatilis* e 13,3% em *S. frugiperda* (LUCENA, 2015).

A utilização dos extratos e frações de *P. hispidum* causaram redução significativa na formação no número de galhas nas raízes do cafeeiro, quando comparados testemunhas água. No entanto, não houveram diferenças para as variáveis, massa seca do sistema radicular (PSSR) e massa seca da parte aérea (PSA) (Quadro 3).

Esses resultados corroboram aos obtidos por ALVES (2020) em ensaios realizados em casa de vegetação usando solo revolvido com esterco de gado em solarizador em que houve baixa eficiência de controle do número de galhas e ovos de

M. incognita por sistema radicular das plantas de alface quando comparados ao controle. Isso ocorreu devido à baixa população inicial dos J2 de *M. incognita* presentes no solo das parcelas do tratamento testemunha.

Verifica-se, que os extratos analisados não prejudicaram o crescimento das mudas, independentemente da concentração ou parte da planta. No entanto prejudicaram a colonização radicular pelo patógeno, resultando em redução na população de *M. incognita*.

Quadro 3 - Número de galhas do sistema radicular, massa seca da raiz e massa seca da parte aérea em plantas de cafeeiro.

Tratamentos	Concentrações/ mg mL ⁻¹	Nº de galhas		Sistema radicular		Parte aérea Seca	
TESTEMUNHA	-	261.33333	a	36.58333	a	78.0	a
E.F.FA3.Ph	12,5	65.33333	b	21.66667	bc	45.5	bcd
E.F.FA3.Ph	50	54.83333	bc	21.83333	bc	65.38333	ab
E.B.Fo.Ph	50	39.66667	cd	14.33333	c	38.5	bcd
E.B.Fo.Ph	25	29.5	de	11.83333	c	33.83333	cd
E.B.Fo.Ph	12,5	28.33333	de	16.5	bc	50.4	abcd
E.B.Ta.Ph	25	26.83333	de	28.16667	ab	57.8	abcd
E.B.Ta.Ph	12,5	23.66667	def	19.0	bc	61.38333	abc
E.B.Ta.Ph	50	20.0	efg	17.5	bc	60.83333	abcd
E.Ta.FA3.Ph	12,5	7.4	c	17.13333	bc	30.8	d
TESTEMUNHA	+	7.4	c	17.13333	bc	30.8	d
E.Ta.FA3.Ph	50	3.16667	c	20.66667	bc	32.33333	cd

Média de 6 repetições, *Coffea canephora* clone BRS 2357, teste Tukey a 5% de probabilidade.

Legenda: E.B.FO.Ph: Extrato bruto de folha de *P.hispidum*; E.F.FA3.Ph: Extrato de folha fração aquosa de *P.hispidum*; E.B.Ta.Ph: Extrato bruto de talo de *P. hispidum* ; E.Ta.FA3.Ph: Extrato de talo fração aquosa de *P. hispidum*.

Em estudo utilizando-se extratos aquosos de diferentes espécies de *Piper no controle M. incognita*, Sangi et al. (2018) observaram que esses tratamentos não podem ser considerados negativos no desenvolvimento das mudas de cafeeiro. Quando comparadas às plantas que não receberam nenhuma aplicação e que também não observou alteração significativa em seu crescimento.

Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Matos (2015), que ao testar extratos aquosos de diferentes espécies vegetais no controle de *Meloidogyne* em raízes de tomateiro e feijoeiro, não observou impacto significativo na massa seca das raízes em relação ao controle positivo de forma ampla.

Estudo sobre a reprodução de *Meloidogyne* spp. em plantas medicinais apresentam resultados diversos, embora seja avaliando a mesma espécie botânica. Uma possível explicação para esse fato é a existência de diferentes metodologias adotadas nos estudos que podem variar. Especialmente em relação à quantidade de nematoides usada, ao tempo entre inoculação e avaliação, as condições de cultivo, a procedência das plantas utilizadas e às populações dos nematoides. Estas diferenças podem influenciar os resultados e gerar resultados diferentes (Anjos, 2019).

Diante dos estudos realizados nesse trabalho, (Quadros 1, 2 e 3), observaram-se nos ensaios realizados, que os tratamentos não diferiram entre extratos e concentrações. No entanto, é recomendada a realização de estudos adicionais para avaliar a capacidade do patógeno em se tornar cada vez mais supressivo ao longo do tempo.

CONCLUSÕES

A aplicação de extratos vegetais diretamente no solo pode diminuir a quantidade de ovos e galhas nas raízes das plantas de café em condições de casa de vegetação.

É importante estudar plantas que possuem atividade biológica no controle de fitonematoides do gênero *Meloidogyne*.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E. R.; HARAND, W.; LIMA, I. C.; DIAS, F. C. R.; SANTANA, A. A. D.; CARVALHO, R. R. C.; LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletothichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v. 49, n. 2, p.88-94, 2014.
- ALVES, A. P. C. **MANEJO INTEGRADO DO NEMATOIDE-DAS-GALHAS NA CULTURA DA ALFACE**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade de Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco - PR, 2020.
- ANJOS, R. L. DOS. **Reação de espécies vegetais de uso medicinal aos nematoides *Meloidogyne enterolobii* e *Meloidogyne paranaensis***. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, DF. 2019.
- CAMPOS, V. P.; CAMPOS, J. R.; SILVA, L. H. C.P.; DUTRA, M. R. Manejo denematoides em hortaliças. In: SILVA, L.H.C. P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças. Lavras: UFLA, p. 125-158, 2001.
- ZAMBOLOM, L. **Manejo integrado**: fruteiras tropicais-doenças e pragas. Viçosa: UFV, 2002.
- CHITWOOD, D.J. *Phytochemical based strategies for nematode control*. Annu. **Rev. Phytopathol.**, v.40, p.221-49, 2002. doi: 10.1146/annurev.phyto.40.032602.130045.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. CONAB, Acomp. Safra brasileira de café, v.01 - SAFRA 2022, n.03 – Terceiro levantamento setembro 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4758-producao-de-cafe-esta-estimada-em-50-38-milhoes-de-sacas-na-safra-2022>.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. CONAB. Acompanhamento de safra brasileira, café, v. 5, Safra 2020, n.6, Quarto levantamento, dez. 2020. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-decafe/item/download/34932_f1f6ea7816de1bd2f9528cac2d9a19b1.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D.J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. Manaus: Norma Editora, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. Produtor de café no Brasil. Disponível em: <https://revistacenarium.com.br/cidade-de-rondonia-e-listada-como-3o-maior-produtor-de-cafe-no-brasil-pelo-ibge/>.

LUCENA, D. C. **Atividade biológica de extratos de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* sobre *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda*.** Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2015.

MATEUS, M. A. F. **Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de nematoides das galhas.** 2012. 59f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO-PR, 2012.

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

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – Mapa - Café no Brasil. Disponível em: http://www.consorcioesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2023/Julho/Sumario_Cafe_julho_2023.pdf.

OLIVEIRA, C.M.G., ROSA, J.M. O. Boletim Técnico Nematoides Parasitos do Cafeeiro. Instituto Biológico. São Paulo: Instituto Biológico, 2018. N.32 P. 1-28; Periodicidade: 4. I. ISSN 2594-6080. II. Título: Nematoides Parasitos do Cafeeiro.

RINALDI, L. K.; JÚNIOR, J. B. D.; STANGARLIN, J. R.; MATTEIB, D.; ROSAB, W. B.; PEREGO, I. Extratos Vegetais e Herbicida Glifosato no Controle, Desenvolvimento Embrionário e Eclosão de *Meloidogyne javanica* em Soja. **Ensaios e Ciência**, doi: 10.17921/1415-6938.2021v25n4p444-450.

SANTOS, M.C.V. DOS; 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.

STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; BOSENBECKER, V. K.; STEFFEN, G. P.K.; LUPATINI, M.; CAMPOS, A. D.; GOMES, C. B. Avaliação de Óleos Essenciais de Plantas Medicinais no Controle de *Meloidogyne graminicola* em Arroz Irrigado. **Rev. Ciência Agronômica**, 2008.

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho foram discutidos os resultados da pesquisa de laboratório e casa de vegetação apresentados nas seções anteriores (4.1 e 4.2). A apresentação de resultados teve dois formatos. O primeiro, buscou apresentar os dados de forma geral, para avaliando-se a ação dos extratos (bruto e frações). Já o segundo, foi conduzido a partir dos melhores tratamentos, ambos em busca do controle de um dos principais patógenos do cafeeiro.

Desde que chegou ao Brasil em 1727, o café se tornou uma das principais culturas cultivadas no país (ALVES *et al.*, 2019). Contribuindo significativamente para a economia. A produção de café no Brasil tem crescido rapidamente ao longo dos anos, sendo uma das principais fontes de renda para o país (RUFINO, 2006). De acordo com dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), a produção nacional de café para a safra de 2022 está estimada em 55,7 milhões de sacas de 60kg. Deste total, aproximadamente 38,7 milhões de sacas são de café da espécie arábica, enquanto 17 milhões de sacas são de café conilon país (CONAB, 2022).

A produção de café também enfrenta obstáculos, tais como oscilações nos preços, alterações climáticas, infestações de pragas e doenças que têm um impacto significativo na redução da produção (FERREIRA, 2016).

Os nematoides conseguem colonizar uma grande diversidade de ambientes, mais do que qualquer outro grupo de animais multicelulares nesse aspecto. Há diversas espécies que vivem de forma independente e se alimentam de bactérias ou esporos de fungos, enquanto outras agem como predadores ou têm hábitos parasitas (LIMA *et al.*, 2019).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são fitopatógenos que representam um grande impacto econômico, causando graves danos para a agricultura tanto no Brasil quanto mundialmente. Podendo entre outros efeitos reduzir a produtividade agrícola e, até mesmo de inviabilizar o cultivo de diversas culturas (SASSER, 1989; AMARAL *et al.*, 2002; ABAD *et al.*, 2003; DUFOUR *et al.*, 2006).

Nesse contexto, o controle desse patógeno tem sido feito por meio da utilização de extratos vegetais como moléculas bioativas (BELTRAME *et al.*, 2021; CARVALHO e SODRÉ, 2021; MARTINS e SIQUEIRA JUNIOR, 2021; MELO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021; SILVEIRA e BASSAN, 2021; CORASSA *et al.*, 2022). Uma das categorias de extratos que tem se destacado são os provenientes de pimentas, os quais mostram eficácia no controle de uma ampla gama de fungos, bactérias e nematoides (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2017; BASTOS *et al.*, 2018; SANGI *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, 2020; SPLETOZER *et al.*, 2021; VILAMIL *et al.*, 2021).

Cujos estudo discorre que ao avaliar extratos de sementes de mamona e manipueira (resíduo industrial do processamento de farinha de mandioca) verificou-se que houve resultados promissores no manejo alternativo de *M. incognita* na cultura de cenoura em condições de casa de vegetação (Baldin *et al.*, 2012). Este efeito também foi detectado por Carboni *et al.* (2013), demonstrando que ambos os extratos nas concentrações de 0,2 g.mL⁻¹, possuem um efeito significativo na redução do nematóide das galhas em plantas de tomate. Como alternativas naturais no controle desse parasita.

Em estudo de Sousa *et al.* (2018) foi analisado o impacto de extratos de *Piper* sp. sobre os fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Dentre os extratos testados, observou-se que o extrato de talo apresentou inibição no crescimento de *R. solani*. No entanto, em relação a *S. rolfsii*, a eficácia do extrato foi inferior à do fungicida químico. Mesmo assim, os extratos de *Piper* sp. demonstraram atividade fungicida.

A variação nos tratamentos utilizando diferentes partes da planta pode ser atribuída às diferentes composições e concentrações de constituintes presentes nas diversas partes das plantas. Essa característica pode variar de acordo com a espécie da planta, a parte utilizada, o método de extração e a finalidade do tratamento. Essas informações são baseadas em estudos realizados por diversos autores, (FACUNDO *et al.*, 2008; MEDEIROS *et al.*, 2012; RODRIGUES *et al.*, 2015; SENAR, 2017).

Houve um crescente interesse no uso de produtos naturais, como extratos de plantas, por apresentarem potencial antimicrobiano, antiinflamatório, inseticidas, acaricida e anestésico, visto que são fontes de moléculas sintetizadas naturalmente e biodegradáveis na natureza (SINGH *et al.*, 2012; MGBEAHURUIKE *et al.*, 2017; SCOPEL *et al.*, 2018).

É essencial inovar levando em consideração o plantio das novas variedades produtivas e uso dos insumos, maquinários, equipamentos, cultivares, sistema de transporte entre outros. Além das atividades vinculadas ao café, (beneficiamento, bancos locais, armazéns gerais, as cooperativas mantêm papel central e são responsáveis por considerável parte da aquisição destes produtos). No entanto, vale lembrar que há um expressivo percentual de produtores que são cooperados, as cooperativas adquirem menores preços, devido às compras conjuntas (BRONZERI; BULGACOV, 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É de suma importância levar em consideração que o uso de espécies com potencial medicinal ou industrial requer uma avaliação geográfica prévia em relação à produção das substâncias desejadas. Além de considerar não apenas a variabilidade química resultante de ambientes diversos, mas também as variações decorrentes de diferenças genéticas, pois essas diferenças são essenciais para uma abordagem posterior de domesticação e melhoramento das espécies de interesse.

Diante disso, a investigação de métodos para combater pragas utilizando substâncias naturais extraídos de vegetais tem se revelado extremamente relevante e requer cada vez mais pesquisas. Pois, a biodiversidade presente em nossa flora é bastante ampla. Além disso, essa forma de combate não contamina o solo, já que as substâncias utilizadas são naturais e biodegradáveis. Além disso, o custo para adquirir e utilizar essas substâncias tende a ser menor do que o de pesticidas químicos convencionais.

REFERÊNCIAS

ABAD, P.; FAVERY, B.; ROSSO, M. N.; CASTAGNOME-SERENO, P. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, UK, v. 4, p. 217-224, 2003.

AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS V. P.; CARVALHO, D. A. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.26, p.43-48, 2002.

Baldin, E. L. L.; Wilcken, S. R. S.; Pannuti, L. E. R.; Schlick-Souza, E. C.; & Vanzei, F. P. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 2012. 38 (1), 36-41.

BASTOS, J.S.F.; FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FONSECA, A.S.; FREIRE,T.C.; SANGI, S.C.; OGRODOWCZYK, L.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. Potencial de controle de espécies de *Piper* sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, 2018. doi: 10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0023.

BELTRAME, A.B.; MELCHIORETTO, B.; LONE, A.B.; REBELO, A.M. Prospecção de plantas bioativas no controle do complexo de sigatoka em bananeira. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 14, 2021. DOI: 10.17765/2176- 9168.2021v14Supl.1.e8997.

BRONZERI, M. de S.; BULGACOV, S. Estratégias na cadeia produtiva do café no norte pioneiro do paraná: competição, colaboração e conteúdo estratégico. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, [S. l.], v. 16, n. 1, 2014.

Carboni, R. Z.; & Mazzonetto, F. (2013). Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, 5 (2), p.61-66.

CARVALHO, G.J.L.; SODRÉ, G.S. Application of propolis in agriculture. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 88, 2021. doi: 10.1590/1808-1657000632019.

CONAB, **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da safra brasileira - Café, v.01 - SAFRA 2022, n.01 – Primeiro Levantamento.

CORASSA, J.D.N.; MACHINER, M.; VALLADAO, D.M.S.; ANDRIGHETTI, C.R.; WEBERLING, J.B. Efeito de extratos etanólico de plantas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, 2022. doi: 10.33448/rsd-v11i2.23395.

DUFOUR, R.; GUERENA, M.; EARLES, R. Appropriate technology transfer for rural areas:**Alternative nematode control**. Arkansas: NCAT Agriculture Specialists, april 2006.

FERREIRA, L.; T. [Relatório Internacional de Tendências do Café](#). [Embrapa Café](#). vol. 5/Nº 09/27 outubro 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/17793339/mudancas-climaticas-e-a-cafeicultura-global>.

FONSECA, A.S.; FERNANDES, C.F.; VIEIRA JÚNIOR, J.R.; ROCHA, R.B.; FREIRE,T.C.; SANGI, S.C.; BASTOS, J.S.F.; ALVES, R.C. Extratos vegetais do gênero *Capsicum* com potencial atividade antifúngica contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **RevistaIbero Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 1, 2020. doi: 10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0010.

LIMA, I.; DE M.; BUONICONTRO, D.; S.; SILVA, B.; S.; TEODORO, A.; M.; C.; COSTA, N.; S. Gerenciamento de nematoides no sistema de produção do cafeeiro Conilon. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/3749/1/nematoide-inobert-2019.pdf>.

MARTINS, J.A.B.; SIQUEIRA JUNIOR, C.L. Avaliação da atividade antifúngica de folhas de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre fungos fitopatogênicos visando uma alternativa aos agrotóxicos. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 22, n. 2, 2021. doi: 10.7867/1983-1501.2020v22n2p43-49.

MEDEIROS, E.V.; VIANA, M.G.; ALBUQUERQUE, C.C.; VIANA, F.A.; SILVA, K.M.B. Extrato etanólico de Senna alata no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha- de-

fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 16, n. 11, p. 1166 - 1170, 2012. doi. 10.1590/S1415- 43662012001100004.

MELO, T.A.; SERRA, I.M.R.S.; NASCIMENTO, I.T.V.S. Efeito do extrato hidroalcoólico e do óleo de nim (*Azadirachta indica*) sobre o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e na resistência induzida de quiabeiros à fusariose. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i2.12357.

MGBEAHURUIKE, E.E.; YRJONEM, T.; VUORELA, H.; HOLM, Y. Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper species*. **South African Journal of Botany**. v.112, p. 54-69, 2017. doi: 10.1016/j.sajb.05.007.

RODRIGUES, V.M.; VALENTE, E.C.N.; LIMA, H.M.A.; TRINDADE, R.C.N.; DUARTE, A.; G. (2015). Avaliação de extratos de *Annona muricata* L. sobre *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae). **Revista Brasileira De Agroecologia**, v. 9, n. 3.

SASSER, J. N. Plant parasitic nematodes: the Farmers`s Hidden Enemy. Raleigh: **University Graphics**, 1989, 115p.

SCOPEL, W.; SCOPEL, E.L.; BOTTEON, V. W.; RAZA-GOMES, M.F. Bioatividade de macerados de *Anthemis* SP., *Coriandrum sativum* e *Piper nigrum* contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Evidência*. v.18, n.1, p. 95-109, 2018. doi: 10.18593/eba.v18i1.16872.

SENAR. Plantas medicinais aromáticas e condimentares: produção e beneficiamento / Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. – Brasília: SENAR, 2017. 124p.; il. – (Coleção SENAR).

SILVA, L.C.V.; BRAULIO, C.S.; CORREIA, A. J.; OLIVEIRA, A.S.; SOUSA, C.B.C.; VIEIRA, J.L.S.; MACHADO, J.P.; ANA NOVAES, P.S. Efeito alelopático do extrato foliar de eucalipto na germinação de sementes de tiririca (*Cyperus rotundus* L.) **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, 2021. Doi 10.34188/bjaerv4n1-107.

SILVEIRA, A.P.; BASSAN, J.S. Plantas medicinais e suas possíveis contribuições: um estudo bibliográfico em dissertações e teses presentes na BDTD no período 2015-2020. **Research**,

Society and Development, v. 10, n. 11, 2021. doi: 10.33448/rsd-v10i11.19907.

SINGH, A.; EBENSO, E. E.; QURAISHI, M.A. Corrosion Inhibition of Carbon Steel in HCl Solution by Some Plant Extracts. **Review Article, International Journal of Corrosion**. v. 2012, p. 20, 2012. doi: 10.1155/2012/897430.

SOUSA, I.; FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; SILVA, D.; MENDES, T.L.O.; FREIRE, T.C.; FONSECA, A.S.; SANGI, S.C. Atividade fungitóxica de extratos de *Piper* sp. contra os fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 3, 2018. DOI: 10.6008/CBPC2179- 6858.2018.003.0005.

SPLETOZER, A.G.; SANTOS, C.R.; SANCHES, L.A.; GARLETI, J. Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 31, n. 2, 2021. doi: 10.5902/1980509832244.

VIEIRA JÚNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; SANGI, S.C.; FREIRE, T.C.; FONSECA, A.S. Extratos de espécies de *Capsicum* no controle *in vitro* de patógenos de importância agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 14, 2017. doi: 10.18677/EnciBio_2017A52.

VILAMIL, E.S.; DEMOSTHENES, L.C.R.; CANIATO, F.F.; BENTES, J.L.S.; COSTA NETO, P.Q. Efeito do extrato vegetal de *Piper callosum* sp. *in vitro* sobre *Colletotrichum* sp. Agente etiológico da antracnose do pimentão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, 2021. doi:10.34117/bjdv7n3-462.

ANEXOS

4.1 Artigo publicado na Revista Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde (CAPÍTULO I)

DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2024v28n1p26-33>Extratos Vegetais de *Piper hispidum* no Controle de FitonematoidesPlant Extracts of *Piper hispidum* in the Control of Plant-Parasitic NematodesSimone Carvalho Sangi^a; Tamiris Chaves Freire^{*a}; Aline Souza da Fonseca^a; Jessica Silva Félix Bastos^a; Renata Reis da Silva^b; Rodrigo Barros Rocha^b; Cléberson de Freitas Fernandes^b; José Roberto Vieira Junior^b^aUniversidade Federal de Rondônia, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte RO, Brasil.^bEmpresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, RO, Brasil.^{*}E-mail: tamirischavesfreire@gmail.com

Resumo

O nematoide-das-galhas são mundialmente conhecidos por causar elevados prejuízos à agricultura. Uma alternativa ao uso de agroquímicos é o uso de extratos vegetais que possuem baixo custo e são menos agressivos ao meio ambiente. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade nematicida de extratos aquosos e alcóolicos de *P. hispidum*, no controle do nematoide-das-galhas. Foram coletadas folhas, inflorescências e talos de *Piper hispidum*. O delineamento foi inteiramente casualizado com seis repetições, utilizando Microtubo "Eppendorf" de 250 µL usando placas acrílicas do tipo Elisa como suporte, contendo extrato nas concentrações 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 mg/mL e a suspensão de ovos de nematoide. No décimo sexto dia após terem sido levados para a (incubadora tipo B.O.D a 25 °C), o efeito dos tratamentos sobre as variáveis foram: número de ovos, juvenis (J2) eclodidos móveis e imóveis para o cálculo da inibição e eclosão. Houve diferença significativa entre os tratamentos. O extrato bruto de folhas de *Piper hispidum* foi capaz de inibir 99,50% o qual apresentou atividade ovicida e larvicida. Extratos alcóolicos de *P. hispidum* provenientes da inflorescência possuem atividade nematicida. Os resultados obtidos indicam a importância de estudos com produtos naturais como uma fonte de controle de fitonematoides.

Palavras-chave: Extratos. Frações. Metabólitos.

Abstract

The root-knot nematode is known worldwide for causing high damage to agriculture. An alternative to the use of agrochemicals is the use of plant extracts that are low cost and less aggressive to the environment. The objective of the study was to evaluate the nematicidal activity of aqueous and alcoholic extracts of *P. hispidum*, in the control of root-knot nematode. Leaves, inflorescences and stems of *Piper hispidum* were collected. The design was completely randomized with six replications, using a 250 µL "Eppendorf" microtube using Elisa-type acrylic plates as a support, containing extract at concentrations 50; 25; 12.5; 6.25; 3.12 and 1.56 mg/mL and the suspension of nematode eggs. On the sixteenth day after being taken to the (B.O.D type incubator at 25 °C), the effect of the treatments on the variables were: number of eggs, mobile and immobile hatched juveniles (J2) for the calculation of inhibition and hatching. There was a significant difference between treatments. The crude extract of *Piper hispidum* leaves was able to inhibit 99.50% which showed ovicidal and larvicidal activity. Alcoholic extracts of *P. hispidum* from the inflorescence have nematicidal activity. The results obtained indicate the importance of studies with natural products as a source of nematode control.

Keywords: Extracts. Fractions. Metabolites.

1 Introdução

O Brasil é o maior produtor e o segundo consumidor mundial de café, responsável por um terço da produção mundial, o que o deixa como maior produtor mundial. O Brasil é o maior exportador mundial de café arábica e o segundo maior exportador de café canéfora (Conab, 2022). O *Coffea canephora* é responsável por cerca de 35% da produção mundial de café, sendo conhecido pelo seu alto vigor vegetativo e produtividade (Brainer, 2019).

Infelizmente, a cultura do cafeeiro é acometida por doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus. Dentre as espécies que atingem o cafeeiro o *M. incognita* é apontado como uma das mais prejudiciais, devido sua ampla disseminação, alta capacidade de lesionar o sistema radicular, persistência no solo e à suscetibilidade da maioria das cultivares

ao nematoide. Esses fatores dificultam a implantação de novas áreas cultivadas com café e a manutenção de áreas já infestadas (Castro *et al.*, 2008; Mendonça; Lopes; Ludke, 2018).

O uso de nematicidas é um dos métodos mais utilizados no controle desses patógenos de solo. Com uma ampla área de plantio no Brasil o país assume a posição de maior consumidor de agrotóxicos do mundo. O uso desses produtos em algumas áreas de cultivo não são permitidos, isto porque estes produtos são tóxicos ao meio ambiente e aos seres humanos, além de aumentar os custos de produção (Cameiro *et al.*, 2015; Pignati *et al.*, 2017). Assim, torna-se necessária a busca por novas alternativas de controle, a fim de conservar o meio ambiente, reduzindo impactos, e ao mesmo tempo promover o controle do patógeno no solo, melhorando a relação custo/benefício (Batista *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2010; Pignati *et al.*, 2017).

Visto que existe um crescente interesse no uso de produtos naturais, como extratos de plantas que acumulam metabólitos secundários (alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, cumarinas, triterpenos entre outros), por apresentarem potencial de aplicação como antimicrobiano, anti-inflamatório, inseticidas, acaricida e anestésico, esses materiais se apresentam como fontes importantes de moléculas sintetizadas naturalmente e biodegradáveis na natureza. Destaca-se o gênero *Piper* pertencente à família piperácea, composto por mais de 260 espécies distribuída nas regiões tropicais e subtropicais no Brasil, o qual tem sido estudado com frequência em função do seu emprego e das suas potencialidades (Braga *et al.*, 2018; Mgbeahurike *et al.*, 2017; Scopel *et al.*, 2018; Singh; Ebenso; Quraishi, 2012). É importante ressaltar que este trabalho teve como objetivo verificar a ação nematocida do extrato de *Piper hispidum* como controle alternativo do *Meloidogyne incognita*.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção e identificação do material vegetal

O estudo foi conduzido na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia, em Porto Velho, RO, nas dependências do laboratório de Fitopatologia. A espécie utilizada no presente trabalho foi *P. hispidum*. A coleta do material vegetal foi realizada no período de junho a agosto de 2019, em área localizada no campo experimental da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, com coordenadas (8° 53' 20" de latitude Sul e 63° 06' 40" de longitude Oeste de Grw), com temperatura média diária de 25 °C e 32 mm de pluviosidade (SisGen código: A088959).

Também foram coletadas amostras para registro em herbário. As amostras foram coletadas seguindo metodologia de campo de Fidalgo *et al.* (1989). A exsiccata encontra-se depositada no Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, localizado no Centro Universitário São Lucas, Porto Velho, RO, sob o número de registro 7767.

2.2 Material vegetal

Ramos de *Piper hispidum* contendo folhas, inflorescências e talos foram levados para laboratório e submetidos a um processo de separação entre os materiais vegetais. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa de ventilação forçada (72h, 65 °C). Posteriormente os materiais vegetais foram triturados individualmente em liquidificador industrial de alta rotação, até a obtenção de um pó fino e armazenado em temperatura ambiente em sacos plásticos, com adaptações, conforme descrito por Araújo *et al.* (2014).

2.3 Preparo dos extratos brutos para o fracionamento

Para preparo da extração foram usados dois solventes, água mineral estéril e o álcool etílico 96%. Foram pesadas 100 gramas de cada parte da planta e colocadas em Erlenmeyer, sendo então adicionados 200 mL de cada solvente. Em seguida foram submetidos à agitação em Incubadora Shaker refrigerada

(4 °C, 100 rpm, 24h). Logo após, os extratos foram filtrados em tecido de trama fina. Os extratos obtidos foram evaporados e concentrados em rota evaporador à 70 °C, e armazenadas em microtubos tipo Eppendorf (1,5 mL), mantidos a -20 °C, conforme metodologia adaptada de Parekh, Jadeja e Chanda (2005).

Os extratos foram pesados e diluídos em água e álcool etílico 96% obtendo-se as concentrações finais de 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL e 1,56 mg/mL.

2.4 Condições de fracionamento dos extratos

Para a padronização do fracionamento, utilizou-se quatro solventes: hidróxido de amônio, clorofórmio, metanol e ácido sulfúrico. Aos extratos brutos secos, etanólico e aquoso, foram adicionados 16 mL de álcool metílico e 4 mL de água destilada, ou da mistura e solubilizado no ultra-som por 20 min. Posteriormente foi adicionado 20 mL de metanol e água (4:1; v:v) e a solução foi novamente homogeneizada no ultra-som por 10 min. Esta solução foi deixada em repouso por 30 min, filtrada em papel de filtro comum e funil de büchner, sendo então obtidas duas frações (Parekh; Jadeja; Chanda, 2005; Souza *et al.*, 2009).

O filtrado foi concentrado a um décimo do volume em rotaevaporador a temperatura de 70 °C. Em seguida, a solução foi acidificada com ácido sulfúrico concentrado até obter pH 4, transferida para um funil de separação onde foram adicionados 10 mL de clorofórmio e agitada manualmente. O processo foi repetido por três vezes, separando a fase orgânica da fração básica e polar terpenóides e compostos fenólicos (Parekh; Jadeja; Chanda, 2005; Souza *et al.*, 2009).

A segunda fase recolhida foi a fração básica, adicionando hidróxido de amônio concentrado a solução até obter pH 10. Posteriormente, foram adicionados 20 mL de clorofórmio e metanol (3:1; v:v) agitada manualmente e acrescentado 20 mL clorofórmio. A última fase a ser coletada foi a fração aquosa apresentando alcaloides quaternários, N-óxidos.

As três fases obtidas, correspondendo a fração orgânica, básica e aquosa, foram evaporadas e concentradas em rotaevaporador à 70 °C, armazenadas em frascos âmbar e mantidas a temperatura ambiente até a realização dos ensaios. Para a realização dos testes, as frações obtidas foram diluídas à concentração de 50 mg/mL.

2.5 Multiplicação e preparo do inóculo do nematoide

Os nematoides foram obtidos por meio de populações identificadas de acordo com a metodologia de Cameiro *et al.* (2001). Utilizando a técnica de eletroforese e mantidas em raízes de tomateiro 'Santa Cruz Kada'. Para o presente estudo, essas populações foram multiplicadas em chicória (*Cichorium endivia*) variedade 'Valença', mantidas em casa-de-vegetação. As raízes foram fragmentadas em pedaços de três cm e os ovos de *M. incognita* foram extraídos conforme a metodologia de

Hussey e Barker e adaptada por Bonetti e Ferraz (1981).

2.6 Preparo das diluições seriada

Os extratos alcoólicos e aquosos foram diluídos, para realizar os testes com ovos e J2 de *M. incognita*. A preparação das concentrações foi conduzida a partir do extrato bruto e fração (50 mg/mL), com diluição seriada inicial de 1:2 obtendo-se concentrações finais de 25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 6 mg/mL; 3 mg/mL e 1,56 mg/mL. As quais foram utilizadas nos bioensaios em testes contra o patógeno.

2.7 Ensaios in vitro

Os ensaios *in vitro* foram realizados em Microtubo Tipo “Eppendorf” de 250 µL usando placas acrílicas do tipo Elisa como suporte. Para o ensaio, 100 µL da suspensão de nematoide contendo 50 ovos e extratos nas concentrações de 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL

e 1,56 mg/mL das amostras a ser testadas foram utilizados. A suspensão de nematoide usada seguiu a metodologia descrita por Hussey e Barker e adaptada por Bonetti e Ferraz (1981). Como testemunhas foram usados água, álcool e nematicida (Carbofurano). As placas foram envoltas em papel alumínio e colocadas em incubada tipo B.O.D (25 °C, 15 dias). No 16º dia após a incubação, as contagens do número de indivíduos vivos, mortos e ovos foram realizados, com auxílio de microscópio. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado empregando nove tratamentos e seis repetições (9x6).

3 Resultados e Discussão

Houve diferenças entre os percentuais de inibição da eclosão dos ovos e total de *M. incognita*, para os extratos testados (bruto e frações), concentrações e para interação (Extratos x concentrações) (Quadros 1 a 6).

Quadro 1 - Resumo da análise de variância dos efeitos de extratos e das frações de diferentes partes de Piper hispidum (talo, folha e inflorescência) e concentrações

F.V.	Extratos Aquosos (IEClos%)				Extratos Aquosos (INB%)			
	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Extratos (E)	5	50292.54	10058.51	13.70**	5	84068.92	16813.78	33.48**
Concent.(C)	5	28506.62	5701.32	7.77**	5	15452.43	3090.49	6.15**
E x C	25	18352.62	734.10	6.99**	25	12555.42	502.22	7.33**
Resíduo	180	18881.37	104.90		180	12325.5	68.48	
Total	215	116033.15			215			
Média	68.31				73.02			
CV(%)	14.99				11.33			

FV: Fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, CV(%): coeficiente de variação. Fonte: dados da pesquisa.

Esses resultados indicam ação dos extratos e das frações em seis diferentes concentrações que inibiram a eclosão dos ovos e inibição total de *M. incognita* quando submetido a bioensaio *in vitro*. O extrato bruto (EB-PhFO) de folha

de *P. hispidum* foi um dos mais eficientes na inativação de juvenis J2 de *M. incognita*, dentre esses a fração básica (PhFO2) apresentou efeito nematicida afetando a eclosão de nematoides (Quadro 2).

Quadro 2 - Teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade da inibição de eclosão dos ovos e da inibição total observada com a utilização de seis extratos aquosos provenientes de diferentes partes de Piper hispidum, avaliados em seis diferentes concentrações

Inibição de Eclosão dos ovos (%)											
Concent	PhFO		PhTa		PhIn		PhFO1		PhFO2		PhFO3
1	65.62	Ad	38.18	Bc	53.97	Ac	43.25	Bb	61.75	Ab	33.07
3	81.18	Ac	42.80	Cc	52.33	Cc	51.17	Cb	62.78	Bb	41.27
6	99.50	Aa	39.83	Cc	49.08	Cc	49.28	Cb	70.80	Bb	50.50
12	87.80	Ab	74.22	Bb	67.83	Cb	58.75	Ca	74.22	Bb	57.65
25	89.33	Ab	93.83	Aa	99.50	Aa	53.17	Cb	96.48	Aa	67.78
50	99.50	Aa	97.13	Aa	94.12	Aa	62.63	Ba	99.50	Aa	99.50
Inibição total (%)											
Concent	PhFO		PhTa		PhIn		PhFO1		PhFO2		PhFO3
1	65.62	Ac	38.18	Cc	53.97	Bc	43.25	Cc	61.75	Ac	41.65
3	81.18	Ab	42.80	Cc	52.33	Cc	51.17	Cc	62.78	Bc	50.97
6	99.50	Aa	39.83	Cc	49.08	Cc	49.28	Cc	70.80	Bb	50.50
12	92.23	Aa	74.22	Bb	67.83	Bb	64.42	Cb	74.05	Bb	57.65
25	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.67	Aa	99.50
50	99.50	Aa	99.33	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50	Aa	99.50

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e pela mesma letra minúscula na VERTICAL não diferem entre si de acordo com o teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade. Legenda: PhFO: Extrato bruto *Phispidum* aquoso de folha; PhTa: Extrato bruto aquoso *P. hispidum* de talo; PhIn: Extrato bruto aquoso *P. hispidum* de inflorescência; PhFO1: fração orgânica *Phispidum*; PhFO2: fração básica de *P. hispidum*; PhFO3: fração aquosa *P. hispidum*. Fonte: dados da pesquisa.

Já os extratos bruto de talo e inflorescências (PhTa, PhIn,) confirmaram seu controle de inibição nas maiores concentrações (12; 25; 50 mg mL⁻¹), enquanto a fração aquosa (PhFO3) obtida da folha também se sobressaiu com as maiores concentrações.

Em outro estudo, extrato de folhas de *P. hispidum* apresentou eficiência no controle de *Hypothenemus hampei*, broca-do-cafeeiro, indicando atividade biológica do extrato dessa espécie, com ação inseticida (Santos *et al.*, 2010). Estudos conduzidos com extratos e óleos essenciais de outra espécie do gênero, *Piper aduncum*, mostraram a presença de diferentes tipos de metabólitos secundários de grande importância, com diversas atividades biológicas, como por exemplo antibacteriana, antifúngica e inseticida, dentre outras (Pohlitz; Pinto; Mause, 2006).

Atividade inseticida também foi relatada para extratos de folhas e sementes de *Annona muricata* L. contra o pulgão preto *Aphis craccivora*, com mortalidade de 18,88% e 92,21%, respectivamente, na concentração de 1% (Rodrigues *et al.*, 2014). Em adição, Bandeira *et al.* (2017), relataram a potencialidade inseticida dos extratos de folhas e de sementes de *A. montana* no controle de ninfas de *A. craccivora*. Na concentração de 15%, o extrato hidroetanólico de folhas causou 78% de mortalidade e CL₅₀ = 7,69%, enquanto o extrato obtido de sementes foi eficiente na concentração de 2%, proporcionando 96% de mortalidade das ninfas, com CL₅₀ = 0,55%.

Quadro 3 - Concentrações (g.mL⁻¹) associadas a probabilidades de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de diferentes extratos aquosos estimadas utilizando curvas de concentração x mortalidade. A concentração letal de 50% da população (CL₅₀) encontra-se destacada no quadro

CL _x	Extratos (g.mL ⁻¹)					
	PhFO	PhTa	PhIn	PhFO1	PhFO2	PhFO3
0.01	0.01	0.08	0.02	0.04	0.00	0.03
0.02	0.02	0.12	0.03	0.06	0.01	0.06
0.03	0.02	0.14	0.03	0.07	0.01	0.07
0.05	0.03	0.23	0.07	0.13	0.02	0.13
0.10	0.06	0.42	0.14	0.25	0.05	0.25
0.20	0.13	0.85	0.35	0.57	0.14	0.58
0.25	0.17	1.11	0.50	0.78	0.21	0.79
0.50	0.53	3.32	2.05	2.72	0.99	2.83
0.75	1.61	9.92	8.40	9.44	4.65	10.10
0.80	2.13	13.00	11.91	12.85	6.81	13.84
0.90	4.40	26.55	29.88	28.95	18.63	31.77
0.95	8.01	47.86	63.86	56.63	42.78	63.08
0.98	13.48	79.80	123.38	101.34	87.96	114.36
0.98	15.74	92.91	150.10	120.50	109.02	136.51
0.99	24.69	144.58	265.35	199.35	203.40	228.39
R ²	0.28	0.35	0.24	0.29	0.19	0.28

CLX: Concentração letal a diferentes concentrações variando de 1 a 99.
 Legenda: PhFO: Extrato bruto *P. hispidum* aquoso de folha; PhTa: Extrato bruto aquoso *P. hispidum* de talo; PhIn: Extrato bruto aquoso *P. hispidum* de inflorescência; PhFO1: fração orgânica *P. hispidum* PhFO2: fração básica de *P. hispidum* PhFO3: fração aquosa *P. hispidum*.

Fonte: dados da pesquisa.

O tratamento com o extrato bruto (EB) de folhas de *P. hispidum* mostrou-se mais eficiente em comparação aos demais, apresentando uma CL₅₀ de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* na concentração de 0,53 g.mL⁻¹ (Quadro 3).

Extrato aquoso de cúrcuma mostrou uma atividade nematicida sobre *Meloidogyne incognita* tendo obtido uma redução máxima de J2 móveis de 67,27% (Mioranza *et al.*, 2016).

O extrato bruto da folha de *P. hispidum* na concentração de 13,48 (g.mL⁻¹) proporcionou inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de 98%.

Extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravi*, mais conhecida como cafeeiro, apresentaram efeito tóxico sobre adultos de *Aetelion* sp. O extrato das raízes apresenta maior toxicidade (CL₅₀ = 12,4 mg/mL) do que o extrato de folhas (CL₅₀ = 39,9 mg/mL) (Silva *et al.*, 2009).

Extratos de folhas, frutos e talos de *P. tuberculatum* foram avaliados quanto ao potencial inseticida para o controle da mosca-do-chifre. Os extratos etanólico de folhas e talos apresentaram CL₅₀ de 61,14 mg/mL e 6,00 mg/mL, respectivamente. Para os extratos hexânico de frutos e acetate de etila de talos as CL₅₀ foram de 136,88 mg/mL e 1,03 mg/mL, respectivamente, demonstrando a atividade inseticida promissora dessa espécie (Braga *et al.*, 2017).

Quadro 4 - Resumo da análise de variância dos efeitos de extratos e das frações de diferentes partes de *Piper hispidum* (talo, folha e inflorescência) e concentrações (1, 3, 6, 12, 25 e 50 mg/mL) na inibição de eclosão dos ovos de *M. incognita* (IEClos%) e inibição total (INB%)

Extratos Alcólico (IEClos%)				
F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Extratos (E)	5	5736.07	1147.214	1.68 ^{NS}
Concent.(C)	4	2355.7	588.925	0.86 ^{NS}
E x C	20	13667.68	683.384	5.48 ^{NS}
Resíduo	150	18717.58	124.7839	
Total	179	40477.03		
Média	79.96			
CV(%)	13.97			

Extratos Alcólico (INB%)				
F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Extratos (E)	5	12936.74	2587.348	5.47**
Concent.(C)	4	2733.95	683.4875	1.44 ^{NS}
E x C	20	9467.31	473.3655	5.04**
Resíduo	150	14085.25	93.90167	
Total	179			
Média	83.86			
CV(%)	11.55			

FV: Fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, CV(%): coeficiente de variação.

Fonte: dados da pesquisa.

Quadro 5 - Teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade da inibição de eclosão dos ovos e da inibição total observada com a utilização de cinco extratos alcoólicos provenientes de diferentes partes de *Piper hispidum*, avaliados em seis diferentes concentrações

Inibição de Eclosão dos ovos (%)										
Concent	PhFO		PhTa		PhIn		PhFO1		PhFO2	
1	68.92	Bb	81.48	Ab	74.83	Aa	64.58	Bb	61.98	Bc
3	81.25	Ab	73.92	Ab	72.27	Aa	69.32	Ab	80.60	Ab
6	71.73	Bb	85.78	Ab	82.40	Aa	69.77	Bb	89.25	Ab
12	78.12	Bb	83.55	Bb	71.45	Ba	78.03	Bb	99.50	Aa
25	78.10	Bb	99.50	Aa	76.32	Ba	73.55	Bb	99.50	Aa
50	99.50	Aa	88.60	Bb	82.05	Ba	99.50	Aa	63.55	Cc
Inibição total (%)										
Concent	PhFO		PhTa		PhIn		PhFO1		PhFO2	
1	68.92	Bc	81.48	Ab	74.83	Ab	64.58	Bc	61.98	Bc
3	81.25	Ab	73.92	Ab	72.27	Ab	69.32	Ac	80.60	Ab
6	71.73	Cc	85.78	Bb	99.50	Aa	69.77	Cc	89.25	Ba
12	83.07	Bb	83.55	Bb	94.60	Aa	85.88	Bb	99.50	Aa
25	78.10	Bb	99.50	Aa	99.50	Aa	81.02	Bb	99.50	Aa
50	99.50	Aa	99.50	Aa	89.98	Aa	99.50	Aa	78.15	Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e pela mesma letra minúsculas na VERTICAL não diferem entre si de acordo com o teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade. Legenda: PhFO: Extrato bruto alcoólico de *P. hispidum* de folha; PhTa: Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de talo; PhIn: Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de inflorescência; PhFO1: fração orgânica *P. hispidum* PhFO2: fração básica de *P. hispidum*.

Fonte: dados da pesquisa.

Todos os extratos inibiram a eclosão *in vitro* de *M. incognita*, obtendo uma porcentagem significativa de inibição sobre a eclosão dos ovos com média variando de 99,50% a 61,98%. Essa diferença de atividade pode ser em razão das concentrações dos princípios ativo presentes nas diferentes partes da planta.

O extrato da folha fração básica alcoólico PhFO2 nas concentrações de 12 e 25 mg/mL apresentaram percentuais de inibição de 99,50%. A eficiência de inibição da eclosão de ovos em torno de 99,50%, proporcionada tanto pelo extrato aquoso bruto das folhas (PhFO), quanto pelo extrato alcoólico bruto da inflorescência (PhIn) indica o potencial nematocida *P. hispidum* para controle de *M. incognita*. Esses compostos podem apresentar algumas vantagens em relação aos químicos, tais como: baixo custo/benefício.

Em relação aos princípios bioativos já descritos para *Piper hispidum* encontram-se amidas, benzenos, ácidos benzoicos, flavonoides e óleos essenciais, dos quais 17 têm significativa atividade antifúngica, antimicrobiana, antiplasmodial, leishmanicida e inseticida (Silva *et al.*, 2014).

Estudos fitoquímicos observaram que espécie de *P. hispidum* possui alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, compostos fenólicos, cumarinas e triterpenos (Freire *et al.*, 2022).

Estudos relataram que o extrato aquoso de folhas de *Piper hispidum*, teve uma eficiência de 75% em relação a redução da eclosão de J2 de *M. incognita* (Sangi *et al.*, 2018).

Outros estudos mostraram que extratos, frações e substâncias isoladas de *P. umbellatum* apresentaram um amplo espectro de atividades farmacológicas, como por exemplo leishmanicida, frente à forma promastigota de *L. amazonensis* (Braga *et al.*, 2007).

Analisando o óleo essencial extraído dos frutos, talos e raízes de *Piper tuberculatum* Jacq. e *P. hispidum*, autores identificaram como constituintes majoritários o dilapiol, com 57,5%, a elemicina com 24,5% e o apiol 10,2%. Por outro lado, os resultados corroboram com o encontrado que o extrato metanólico dessa espécie também mostrou resultado positivo, tendo ação inseticida contra lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Facundo *et al.*, 2008).

Algumas pesquisas descreveram compostos fenólicos encontrados na folha de *P. tuberculatum* e folha e inflorescência de *P. hispidum*. Nesses trabalhos, foram observados flavonoides em cinco das seis partes avaliadas de *P. tuberculatum* e *P. hispidum*. A presença destes compostos também foi observada em folhas, talos e inflorescência de *Piper mollicomum* Aubl, e destacam-se por suas potenciais atividades biológicas e terapêuticas, e podem variar de acordo com o tipo do solvent utilizado (Almeida *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2020).

As concentrações CL₅₀ dos extratos brutos (EB) e frações (PhFO1 e PhFO2) alcoólicos das folhas, talos e inflorescências de *P. hispidum* contra *M. incognita*, estão apresentadas no Quadro 6.

Quadro 6 - Concentrações (g.mL⁻¹) associadas às probabilidades de inibição de ovos e formas adulta de *M. incognita* de diferentes extratos alcoólicos estimadas utilizando curvas de concentração x mortalidade. A concentração letal de 50% da população (CL₅₀) encontra-se destacada no quadro

CL _x	Extratos (g.mL ⁻¹)				
	PhFO	PhTa	PhIn	PhFO1	PhFO2
1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
2	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
3	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
5	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
10	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
20	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01
25	0.01	0.02	0.01	0.05	0.01
50	0.15	0.16	0.10	0.51	0.10
75	3.21	1.45	1.07	4.85	1.65
80	6.86	2.50	1.93	8.47	3.30
90	50.44	10.47	9.15	36.69	20.53
95	262.12	34.18	33.12	123.14	92.90
98	1094.66	95.41	101.04	351.97	344.01
98	1675.10	129.51	140.82	481.12	507.92
99	5768.62	314.76	369.61	1193.54	1576.36
R ²	0.05	0.15	0.03	0.13	0.05

CLX: Concentração letal a diferentes concentrações variando de 1 a 99.
 Legenda: PhFO: Extrato bruto alcoólico de *P. hispidum* de folha; PhTa: Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de talo; PhIn: Extrato bruto alcoólico *P. hispidum* de inflorescência; PhFO1: fração orgânica *P. hispidum* PhFO2: fração básica de *P. hispidum*.

Fonte: dados da pesquisa.

Os resultados desse experimento mostraram que os extratos alcoólicos brutos e as duas frações de *P. hispidum* apresentaram atividade nematicida promissora para o controle *M. incognita*. A CL₅₀ (concentração letal na inibição de ovos e formas adulta) foi observada em concentrações que variaram de 0,10 à 0,16 g.mL⁻¹ dos respectivos extratos alcoólicos exceto a fração orgânica da folha (PhFO1) cuja CL₅₀ foi obtida com a concentração de 0,51 g.mL⁻¹.

O efeito acaricida de extratos etanólicos das folhas, caules e frutos de *P. tuberculatum* contra larvas e adultos de *Rhipicephalus microplus* foi avaliado, tendo sido observado que as concentrações letais para 50% dos indivíduos (CL₅₀), após 24 horas, foram 3,62, 3,99 e 5,30 mg mL⁻¹, respectivamente. Este estudo evidencia o potencial da espécie em fornecer ingrediente ativo em formulações de pesticidas para o controle de *R. microplus* (Braga *et al.*, 2018).

Outro estudo cita o efeito inseticida de óleos essenciais de folhas de *Piper hispidinervum* C. DC. e *Piper aduncum* sobre *Sitophilus zeamais* Motsch, utilizando sete concentrações desses óleos, com a máxima concentração em 300 mg mL⁻¹ e a mínima de 10 mg mL⁻¹. Foi observada 78 e 63% de mortalidade com as concentrações entre 300 - 200 mg mL⁻¹ respectivamente (Estrela *et al.*, 2006).

Outras pesquisas apontaram que a aplicação de manipueira na concentração de 0,5 g.mL⁻¹ proporcionou um PRO de 56,04% de *M. incognita* em tomateiros em condições de campo. Também foi observado no trabalho de Guimarães *et al.* (2021), em estudo com extrato de manipueira na concentração

de 0,3 g.mL⁻¹, uma redução de 49,12% na reprodução de *M. javanica* em jiloeiro (Guimarães *et al.*, 2021; Nasu *et al.*, 2010).

Alguns compostos são extraídos mais facilmente em álcool como os flavonoides, enquanto os ácidos e os açúcares pelos extratos aquosos (Edwards *et al.*, 2012). Por isso, há diferenças na eficiência no controle de *M. incognita* entre as diferentes partes da planta de *Piper hispidum* e os respectivos extratos utilizados no presente estudo.

Vale ressaltar que a utilização destes produtos naturais representa uma estratégia de controle mais econômico, pois, o uso de extratos de plantas com propriedades ativas pode ser cultivadas pelo próprio agricultor em sua propriedade (Santos; Silva, 2015).

4 Conclusão

As diferentes partes da planta *Piper hispidum* (folhas, talos e inflorescências) tiveram efeito nematicida sobre o patógeno *M. incognita*.

Extratos aquosos e suas frações apresentaram efeito inibitório frente ao *M. incognita*, excetuando-se a fração de folha (PhFO1) que na concentração de 50 mg mL⁻¹, apresentou baixa toxicidade.

O extrato bruto de folhas de *Piper hispidum* foi capaz de inibir 99,50% , tendo demonstrado atividades ovicidas, larvicidas.

Extratos alcoólicos (EB) de *P. hispidum* inflorescência possuem atividade nematicida sobre *M. incognita*. A fração alcoólicos obtida da folha (PhFO2), apresentou efeito com as concentrações 12 e 25 mg mL⁻¹, causando 99,50% % na inibição e mortalidade.

O uso de extratos possui vantagens, como o fato de não necessitar de grandes quantidades de solvente, tendo uma extração relativamente rápida e eficiente com a adição de solventes de baixo custo/benefício que possibilita extração de compostos secundários e potencial nematicida.

Estudos como estes ilustram a importância dos produtos naturais como uma fonte de controle de fitonematóides de importância agrícola.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, à Fundação de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas e Tecnológicas e à Pesquisa do Estado de Rondônia – FAPERÓ, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa.

Referências

- ALMEIDA, K.P.C. *et al.* Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper mollicomum* Kunth 56 (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *Rev Gestão Sustentabil. Amb.*, v.8, n.3, p.550-565, 2019. doi: 10.19177/rgsa.v8e32019550-565.
- ARAÚJO, K.M. *et al.* Identification of phenolic compounds

- and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *euphorbia tirucalli* l. antioxidants. *Basel, J. List*, v.3, n.1, p.159-175, 2014. doi: 10.3390/antiox3010159.
- BANDEIRA, H.F.S. *et al.* Bioactivity of *Ammonia montana* Macfady extracts on the black cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch). *Rev. Bras. Ciênc. Agrár.*, v.12 n.1, p.41-46, 2017. doi: 10.5039/agraria.v12i1a5419.
- BATISTA, L.C.S.O. *et al.* Bioprospecção de extratos de Jaborandi contra *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. *Revista Bras. Med. Vet.*, 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. *Fitopatol. Bras.*, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BRAGA, A.G.S. *et al.* Atividade pesticida de extratos de *piper tuberculatum* jacq sobre *haematobia irritans*. *Biota Amaz.*, v.7 n.1, p.54-57, 2017. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n1p54-57.
- BRAGA, A.G.S. *et al.* Acaricidal activity of extracts from different structures of *Piper tuberculatum* against larvae and adults of *Rhipicephalus microplus*. *Acta Amaz.*, v.48, n.1, p.57-62, 2018. doi: 10.1590/1809-4392201700053.
- BRAGA, F.G. *et al.* Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, v.111, n.2, p.396-402, 2007. doi: 10.1016/j.jep.2006.12.006.
- BRAINER, M.S.C.P. Análise de aspectos da produção e mercado do café. *Cad. Setorial ETENE*, v.4, n.106, 2019.
- CARNEIRO, F.F. *et al.* Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. *Dossiê abasco*. Rio de Janeiro: *Abasco*, 2015.
- 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. *Nematol. Bras.*, v.25, n.1, p. 35-44, 2001.
- CASTRO, J.M.C. *et al.* Levantamento de fitonematóides em cafezais do sul de Minas Gerais. *Nematol. Bras.*, v.32, n.1, p.56-6, 2008.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. *Acomp. safra brasileira de café, v.01 - SAFRA 2022, n.01 – Primeiro Levantamento*.
- COSTA, L.V. *et al.* A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. *Rev. Virtual Quím.*, v.2, n.1, p.47-58, 2010. doi: 10.5935/1984-6835.20100006.
- EDWARDS, J.E. *et al.* Review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, v.79, p.5-26, 2012. doi: 10.1016/j.phytochem.04.006.
- ESTRELA, J.L.V. *et al.* Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropec. Bras.* v.41, n.2, p.217-222, 2006.
- FACUNDO, V.A. *et al.* Constituintes químicos fixos e voláteis de talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amaz.*, v.38, n.4, p.733- 742, 2008.
- FIDALGO, O.; BONONI, V.L.R. Técnica de coleta, preservação e herborização de material botânico. 1989. Disponível em: https://www.academia.edu/38593254/Fidalgo_e_Bononi_1989_T%C3%A9cnicas_de_coleta_preserva%C3%A7%C3%A3o_de_material_bot%C3%A2nico.
- FREIRE, T.C. *et al.* Avaliação fitoquímica de folhas, talos e inflorescência de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*. *Res. Soc. Develop.*, v.11, n.7, p.1-6, 2022. doi: 0.33448/rsd-v11i7.30174 41111730174.
- GUIMARÃES, N.N. *et al.* Potencial de extratos de plantas e manipueira no controle de *meloidogyne javanica* em jiloeiro. *Holos*, v.37, n.8, p.1-15, 2021. doi: 10.15628/holos10311.
- MENDONÇA, J.L.; LOPES, C.A.; LUDKE, I. Enxertia de tomateiro em baquicha (*Solanum stramonifolium* var inerm (Dunal) Whalen) para controle de doenças de solo. *Circular Técnica* 163. Brasília: EMBRAPA, 2018.
- MGBEAHURUIKE, E.E. *et al.* Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper* species. *South Afri. J. Bot.*, v.112, p.54-69, 2017. doi: 10.1016/j.sajb.05.007.
- MIORANZA, T.M. *et al.* Potencial nematocida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita*. *Rev. Ciênc. Agroamb.*, v.14, n.1, p.104-109, 2016. doi: 10.5327/rcaa.v14i1.1417.
- NASCIMENTO, J.C.D. *et al.* Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). *Quím. Nova*, v.35, n.11, p.2288-2311, 2012. doi: 10.1590/S0100-40422012001100037.
- NASU, E. *et al.* Manipueira Effect on *Meloidogyne incognita* in vitro assays and in tomato plants under greenhouse conditions. *Trop. Plants Pathol.*, v.35, n.1, p.32-26, 2010. doi:10.1590/S1982-56762010000100005.
- PAREKH, J.; JADEJA, D.; CHANDA, S. Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. *Turk. J. Biol.*, v.29, n.4, p.203-210, 2005.
- PIGNATI, W.A. *et al.* Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. *Ciênc. Saúde Coletiva*, v.22, n.10, p.3281-3293, 2017. doi: 10.1590/1413-812320172210.17742017.
- POHLIT, A.M.; PINTO, A.C.S.; MAUSE, R. *Piper aduncum* L. Planta Pluripotente e Fonte de Substâncias Fitoquímicas Importantes. *Revista fito*, v. 2, n. 1, p. 7-18, 2006.
- RODRIGUES, V.M. *et al.* Avaliação de extratos de *Annona muricata* L. sobre *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Homoptera: Aphididae). *Rev. Bras. Agroecol.*, v.9, n.3, p.75-83, 2014.
- SANGI, S.C. *et al.* Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematóides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canefora*. *Rev. Ibero-Am. Ciênc. Amb.*, v.9, n.8, p.212-223, 2018. doi: 10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0019.
- SANTOS, C.A.B.; SILVA, A.P.M. Extratos vegetais de plantas daninhas contra o pulgão *Aphis craccivora* koch 1854, no feijão *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Rev. Ibero – Am. Ciênc. Amb.*, v.6, n.2, p.69-75, 2015. doi: 10.6008/SPC2179-6858.2015.002.0005.
- SANTOS, R.A. *et al.* Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Braz. J. Bot. Sci.*, v.33, n.2, p.319-324, 2010. doi: 10.1590/S0100-84042010000200012.
- SCOPEL, W. *et al.* Bioatividade de macerados de *Anthemis SP.*, *Coriandrum sativum* e *Piper nigrum* contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Evidência*, v.18, n.1, p.95-109, 2018. doi: 10.18593/eba.v18i1.16872.
- SILVA, F.C.O. *et al.* Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. *Rev. Virtual Quím.*, v.12, n.1, p.234-247, 2020. doi: 10.21577/1984-6835.20200018.
- 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 Amaz. Macapá*, v.4,

- n.4, p.10-14, 2014. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v4n4p10-14.
- SILVA, L.V. Efeito de *Piper hispidum* (Piperaceae) Sobre Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith., 1797) (Lep.: Noctuidae) em Dieta Artificial. *Cad. Agroecol.*, v.13, n.2, p.8-8, 2018.
- SILVA, W.C. *et al.* Avaliação do efeito tóxico de extratos de *Palicourea marcapavii* St. Hil. (Rubiaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae) em laboratório. *Rev Bras. Biociênc.*, v.7, n.2, p.129-133, 2009.
- SINGH, A.; EBENSO, E.E.; QURASHI, M.A. Corrosion inhibition of carbon steel in hcl solution by some plant extracts. *Review article. Int. J. Corrosion*, v.2012, p.20, 2012. doi: 10.1155/2012/897430.
- SOARES, P.K.; BRUNS, R.E.; SCARMINIO I.S. Statistical mixture design investigation of fractionated and total extracts from *Erythrina speciosa* Andrews leaves. *J. Separation Sci.*, v. 32, n. 4, p. 644-652, 2009. doi: 10.1002/jssc.200800534.
- SOUZA, E.B.R. *et al.* Enhanced extraction yields and mobile phase separations by solvent mixtures for the analysis of metabolites in *Annona muricata* L. leaves. *J. Separation Sci.*, v.32, n.23/24, p.4176-4185, 2009. doi: 10.1002/jssc.200900375.

ANEXOS

Artigo utilizado como requisito para defesa de tese (Segundo as regras da Instrução Normativa 04 do PPG-BIONORTE).

Research, Society and Development, v. 11, n. 7, e41111730174, 2022
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30174>

Avaliação fitoquímica de folhas, talos e inflorescência de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*

Phytochemical evaluation of leaves, stems and inflorescences of *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*

Evaluación fitoquímica de hojas, tallos e inflorescencias de *Piper tuberculatum* y *Piper hispidum*

Recebido: 10/05/2022 | Revisado: 16/05/2022 | Aceito: 24/05/2022 | Publicado: 29/05/2022

Tamiris Chaves Freire

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8938-3751>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: tamirischavesfreire@gmail.com

Simone Carvalho Sangi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7365-015X>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: simonecarvalhosangi@gmail.com

Jessica Silva Félix Bastos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8009-979X>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: jessicafelixbio@gmail.com

Aline Souza da Fonseca

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4019-3412>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: alinasouzadafonseca@gmail.com

Renata Reis da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0600-2691>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: renata.reis@embrapa.br

José Roberto Vieira Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7939-8119>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: jose-roberto.vieira@embrapa.br

Cléberson de Freitas Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5269-1139>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: cleberson.fernandes@embrapa.br

Resumo

O gênero *Piper* é amplamente utilizado para as mais diferentes finalidades, logo, o aprofundamento fitoquímico se faz necessário. Este trabalho teve o objetivo de identificar os metabólitos de folhas, talos e inflorescência de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*. O material vegetal foi obtido no campo experimental e avaliado no laboratório de fitopatologia da Embrapa Rondônia. A presença de alcaloides foi confirmada em todas as amostras quando utilizado o reagente de Dragendorff, presença de saponinas em folhas e talos de *P. tuberculatum* e talos de *P. hispidum*, flavonoides em todas as partes de *P. tuberculatum* e talos e inflorescência de *P. hispidum*, taninos, cumarinas foi encontrada em todas as amostras, compostos fenólicos foram observados em folhas de *P. tuberculatum* e folhas e inflorescência de *P. hispidum*, os triterpenos foram encontrados em talos e inflorescência de *P. tuberculatum* e *P. hispidum*. Tanto *P. tuberculatum* quanto *P. hispidum* mostraram grade variedades de compostos.

Palavras-chave: Metabólitos; Alcaloides; Compostos fenólicos.

Abstract

The *Piper* genus is widely used for the most different purposes, therefore, phytochemical deepening is necessary. This work aimed to identify the metabolites of leaves, stems and inflorescences of *Piper tuberculatum* and *Piper hispidum*. The plant material was obtained in the experimental field and evaluated in the phytopathology laboratory at Embrapa Rondônia. The presence of alkaloids was confirmed in all samples when using the Dragendorff reagent, presence of saponins in leaves and stems of *P. tuberculatum* and stems of *P. hispidum*, flavonoids in all parts of *P. tuberculatum* and stems and inflorescence of *P. hispidum*, tannins, coumarins were found in all samples, phenolic compounds were observed in leaves of *P. tuberculatum* and leaves and inflorescence of *P. hispidum*, triterpenes were found in stalks and inflorescences of *P. tuberculatum* and *P. hispidum*. Both *P. tuberculatum* and *P. hispidum* showed a wide range of compounds.

Keyword: Metabolites; Alkaloids; Phenolic compounds.

Resumen

El género *Piper* se usa ampliamente para los objetivos más diferentes, por lo que es necesaria una profundización fitoquímica. Este trabajo tuvo como objetivo identificar los metabolitos de hojas, tallos e inflorescencias de *Piper tuberculatum* y *Piper hispidum*. El material vegetal fue obtenido en campo experimental y evaluado en el laboratorio de fitopatología de Embrapa Rondônia. Se confirmó la presencia de alcaloides en todas las muestras al utilizar el reactivo de Dragendorff, presencia de saponinas en hojas y tallos de *P. tuberculatum* y tallos de *P. hispidum*, flavonoides en todas las partes de *P. tuberculatum* y tallos e inflorescencia de *P. hispidum*, en todas las muestras se encontraron taninos, cumarinas, compuestos fenólicos en hojas de *P. tuberculatum* y hojas e inflorescencias de *P. hispidum*, triterpenos en tallos e inflorescencias de *P. tuberculatum* y *P. hispidum*. Tanto *P. tuberculatum* como *P. hispidum* mostraron una amplia gama de compuestos.

Palabras clave: Metabolitos; Alcaloides; Compuestos fenólicos.

1. Introdução

A família Piperaceae possui uma ampla diversidade de plantas, podendo ser encontrada na forma de árvores, arbustos, erva, liana/volúvel/trepadeira e subarbusto. De grande distribuição, encontradas de norte a sul do país. Entre os gêneros encontrados nesta família podemos citar o *Manekia* Trel., *Ottonia* Spreng., *Peperomia* Ruiz & Pav., e o *Piper* L. (Guimarães et al., 2015).

O gênero *Piper* L. é largamente utilizado pela comunidade científica por possuir compostos de interesse tanto na área farmacológica quanto na área agrônoma. Com essa amplitude de opções de uso, faz-se necessário o aprofundamento fitoquímico de tais plantas para que se estabeleçam quais compostos são encontrados e suas finalidades (Oliveira et al., 2020).

As espécies *Piper tuberculatum* L. e *Piper hispidum* são utilizadas como fonte de controle de fitopatógenos de interesse econômico, compostas de metabolitos secundários com funções inseticidas, nematocidas, bactericidas e/ou fungicidas (Braga et al., 2017; Sangi et al., 2018; Bastos et al., 2018).

Os metabolitos secundários são compostos ligados a diversas funções na planta, entre elas a defesa contra patógenos, e são divididos basicamente em três classes principais: os terpenos, os compostos fenólicos, e os alcalóides (Wink, 2013; Cardoso et al., 2019).

Esta pesquisa objetivou realizar a análise fitoquímica de folhas, talos e inflorescências das espécies *Piper tuberculatum* L. e *Piper hispidum*.

2. Metodologia

Para o estudo espécies da família Piperaceae foram coletadas e identificadas. Para a identificação botânica, o material coletado foi encaminhado para o Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, Porto Velho – RO, tombadas sob os n.ºs 7764 e 7767, *Piper tuberculatum* L. e *Piper hispidum* respectivamente. As plantas em estágio de florescimento foram coletadas em junho de 2019, período em que o município apresenta temperatura média de 25°C e máxima de 31,5°C, e 32 mm de chuva.

A solução etanólica foi preparada utilizando 1g do material vegetal seco (pó) para 10 mL de etanol (96° GL), permanecendo sob agitação por 24 h., logo após foram submetidos à filtração por meio de pano de nylon de trama fina e acondicionada em geladeira até que se realizassem os testes fitoquímicos. Os testes fitoquímicos foram realizados conforme metodologia adaptada de Radi e Terrones (2007).

2.1 Saponinas

Adicionou-se 2,0 mL da solução etanólica e 5,0 mL de água destilada fervendo em tubo de ensaio. Após resfriamento, agitou-se por 15 min., permanecendo em repouso por 20 min. A formação de espuma permanente indica presença de saponinas.

2.2 Flavonoides

Adicionou-se 2,0 mL da solução etanólica e duas gotas de acetato de chumbo (10%) em tubo de ensaio. A presença de um precipitado corado indica positividade da reação.

2.3 Taninos

Adicionou-se 2,0 mL da solução etanólica em 10 mL de água destilada, logo após esta foi filtrada adicionando duas gotas da solução de cloreto férrico (10%). A coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis e a coloração verde indica taninos condensados.

2.4 Compostos fenólicos

Em placa de toque adicionou-se cinco gotas da solução etanólica e de cloreto férrico. O teste é positivo para compostos fenólicos com o surgimento da coloração verde.

2.5 Cumarinas

Adicionou-se 2,0 mL da solução etanólica a um tubo de vidro, tampou-se com papel de filtro impregnado em solução de NaOH (10%) e levou-se a banho Maria a 100 °C por 10 min. Removeu-se o papel de filtro e examinou-se sob luz ultravioleta com 100nm de comprimento de onda. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

2.6 Antraconona

Em um tubo de ensaio foram adicionados 200 mg da planta em pó e 1 mL de solução de NH_4OH (10%), agitou-se vigorosamente por 2 min., adicionou-se mais 1 mL de solução de NaOH (10%). A coloração rósea indica presença deste metabólito secundário.

2.7 Antraconona: teste de Borntrager

Em 100 mg de planta em pó adicionou-se 5 mL de clorofórmio, a mistura foi filtrada. Foram adicionados 2 mL do filtrado com 2 mL de NH_4OH (10%). Uma cor rosa brilhante confirma sua presença.

2.8 Alcaloides

Em um tubo de ensaio foram adicionados 2 mL da solução etanólica e 2 mL de ácido clorídrico (10%), aqueceu-se a mistura por cerca de 10 min. Após o resfriamento, a mistura foi dividida em dois tubos de ensaio, adicionando 8 gotas dos reativos de reconhecimento. Tubo 1 Reativo de Dragendorff: observando a formação de precipitado de coloração laranja ou vermelho; Tubo 2 Reativo de Wagner: observando a formação de precipitado de coloração alaranjado.

2.9 Triterpenos

Em um tubo de ensaio foram adicionados 2 mL da solução etanólica e 5 mL de clorofórmio. Após a filtração o extrato foi dividido em duas partes. Em cada um dos tubos foi realizado as reações de Liebermann-Burchard e Salkowski. Os triterpenos desenvolvem coloração estável e os esteroides desenvolvem coloração mutável com o tempo. Coloração de amarelo ao roxo confirma a presença.

3. Resultados e Discussão

Os resultados encontrados permitem observar que as plantas estudadas apresentam diferentes constituintes em relação as espécies *P. tuberculatum* e *P. hispidum* (Tabela 1 e 2).

Tabela 1. Metabólitos presentes no extrato de *Piper tuberculatum* L.

Metabólitos	Espécies/Reação		
	<i>P. tuberculatum</i> (folha)	<i>P. tuberculatum</i> (talo)	<i>P. tuberculatum</i> (inflorescência)
Alcaloides - Reagente de Dragendorff	+	+	+
Alcaloides - Reagente de Wagner	-	-	+
Saponinas	+	+	-
Flavonoides	+	+	+
Taninos condensados	+	+	+
Taninos hidrolisáveis	-	-	-
Compostos fenólicos	+	-	-
Cumarinas	+	+	+
Antraçnona	-	-	-
Antraçnona: teste de Borntrager	-	-	-
Triterpenos	-	+	+

Fonte: Autores (2022).

Tabela 2. Metabólitos presentes no extrato de *Piper hispidum*.

Metabólitos	Espécies/Reação		
	<i>P. hispidum</i> (folha)	<i>P. hispidum</i> (talo)	<i>P. hispidum</i> (inflorescência)
Alcaloides - Reagente de Dragendorff	+	+	+
Alcaloides - Reagente de Wagner	-	+	-
Saponinas	-	+	-
Flavonoides	-	+	+
Taninos condensados	-	+	+
Taninos hidrolisáveis	+	-	-
Compostos fenólicos	+	-	+
Cumarinas	+	+	+
Antraçnona	-	-	-
Antraçnona: teste de Borntrager	-	-	-
Triterpenos	-	+	+

Fonte: Autores (2022).

Os alcaloides foram analisados utilizando dois reagentes, o reagente de Dragendorff e o reagente de Wagner, tendo este segundo demonstrado positividade da reação apenas em inflorescência de *P. tuberculatum* e talo de *P. hispidum*. Corroborando com estudos de Gonçalves e Lima (2016), que também evidenciaram a presença de alcaloides em inflorescência de *P. tuberculatum* por meio dos reagentes de Dragendorff e de Wagner.

Os triterpenos foram encontrados em talos e inflorescência de *P. tuberculatum* e *P. hispidum*. Esses compostos são conhecidos por suas atividades anti-inflamatórias, antiadipogênica, antinociceptiva, antibacteriana, antibiofilme e anticâncer (Silva et al., 2020).

As saponinas foram observadas nas folhas e talos de *P. tuberculatum* e talos de *P. hispidum*, substância esta, presente em muitas espécies vegetais e com ação antifúngica, anti-inflamatória e antiviral (Fritzen et al., 2016).

Os compostos fenólicos foram encontrados na folha de *P. tuberculatum* e folha e inflorescência de *P. hispidum*. Os flavonoides foram observados em cinco das seis partes avaliadas de *P. tuberculatum* e *P. hispidum* mostrando sua ampla distribuição nas plantas. A presença deste composto também foi observada em folhas, talos e inflorescência de *Piper mollicomum* Aubl. (Almeida et al., 2019), esse composto destaca-se em virtude de suas atividades biológicas e terapêuticas (Silva et al., 2020).

Tanto os taninos hidrolisáveis como os condensados foram observados nas amostras testadas, os taninos hidrolisáveis foram encontrados na amostra de folha de *P. hispidum* e os taninos condensados nas amostras de talo e inflorescência da mesma. Na espécie *P. tuberculatum* todas as amostras testaram positivo para taninos condensados.

Os taninos tem potencial para serem utilizados como coagulante no tratamento de efluente de lavagem de automóveis e utilização como substrato para agricultura (Fernandes et al., 2015), efeito larvicida provocando a morte de larvas de *Aedes aegypti* e efeito inseticida em plantas de *Bambusa tuldoidea* (Colli et al., 2007; Valotto et al., 2011).

Nenhuma amostra apresentou antracnosa em sua composição, já as cumarinas foram observadas em todas as amostras.

As cumarinas podem ser encontradas em mais de 800 espécies de plantas, atuando como agentes antimicrobianos e possuindo ação inseticida, ação realizada por bloqueio da transcrição e reparo do DNA, causando a morte celular (Garcia et al., 2009).

Facundo e colaboradores (2008) avaliando os constituintes químicos de talos e frutos de *Piper tuberculatum* e raízes de *P. hispidum* observaram a presença de fenilpropanóides e sesquiterpenos, os fenilpropanóides foram encontrados em maior quantidade nas raízes de *P. hispidum* e os sesquiterpenos em talos e frutos de *P. tuberculatum*.

As espécies avaliadas neste estudo demonstraram grande similaridade dos compostos quando comparados com o trabalho de (Pinto et al., 2016), distinguindo apenas em relação aos taninos hidrolisáveis encontrados em *P. hispidum*, este fato se deve provavelmente ao fato de existirem diferentes constituintes e em diferentes concentrações nas diferentes partes das plantas, este fato também pode ser atribuído a diferença na composição das plantas em relação a sazonalidade (Facundo et al., 2008); (Ribeiro et al., 2018; Paulus et al., 2013; Xavier, 2015).

4. Conclusão

A espécie *P. tuberculatum* possui em sua composição: alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos condensados, compostos fenólicos, cumarinas e triterpenos.

A espécie *P. hispidum* possui alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, compostos fenólicos, cumarinas e triterpenos.

Agradecimentos

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

FAPERO – Fundação de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas e Tecnológicas e a Pesquisa - RO.

UNIR – Universidade Federal de Rondônia.

Referências

- Almeida, K. P. C., Barros, A. C. V., Pantoja, T. M. A., Cavalcante, F. S. A. & Lima, R. A. (2019) Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *Revista gestão e sustentabilidade ambiental*, 8(3), 550-565.
- Bastos, J. S. F., Fernandes, C. F., Vieira Junior, J. R., Fonseca, A. S., Freire, T. C., Sangi, S. C., Ogrodowczyk, L., Oliveira, K. C. C., Rocha, R. B. & Barbieri, F. S. (2017) Potencial de controle de espécies de *Piper* sobre fungos fitopatogênicos. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 9(8), 260-272. <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0023>
- Braga, A. G. S., Barbieri, F. S., Brito, L. G., Celestiano, C. O., Costa, T. S. & Facundo, V. A. (2017) Atividade pesticida de extratos de *Piper tuberculatum* Jacq sobre *Homatobia irritans* L. *Biotropica*, 49(1), 54–57.
- Cardoso, J. C., Oliveira, M. E. B. S. & Cardoso, F. C. I. (2019) Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira* 37: 124-132. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190201>.
- Colli, A., Nascimento, A. M., Xavier, L. M. & Rubim, I. B. (2007) Propriedades físico-químicas e preservação, com boro e tanino, do *Bambusa tuldoidea* (Munro). *Floresta e Ambiente*, 14(1), 56–64.
- Facundo, V. A., Polli, A. R., Rodrigues, R. V., Militch, J. S. L. T., Stabelli, R. G. & Cardoso, C. T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amazonica*, 38(4), 733-742, 2008. [doi.org/10.1590/S0044-59672008000400018](http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672008000400018).
- Fernandes, M., Skoronski, E., Trevisan, V., Alves, M. V., Ely, C. & João, J. J. (2015) Aplicação de tanino como coagulante no resíduo da água de lavagem de automóveis e a utilização do lodo na agricultura. *Revista Eletrônica do PRODEMA Fortaleza*, Brasil, 9(1), 06-16.
- Fritzen, M., Dutra, R. L. & Crivelli, S. R. M. *Farmacognosia I*. SESES. 2016.
- Garcia, A. A. & Carril, E. Perez-Urria. (2009) Metabolismo secundário de plantas. *Raduca (Biologia)*. Serie Fisiologia Vegetal. 2(3), 119-145.
- Gonçalves, A. P. S. & Lima, R. A. (2016) Identificação das classes de metabolitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* Jacq. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. (2), 100-109
- Guimarães, E. F., Carvalho-Silva, M., Monteiro, D., Medeiros, E. S. & Queiroz, G. A. 2015 *Piperaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB190>>.
- Oliveira, M. L. B., França, T. A. R., Cavalcante, F. S. A. & Lima, R. A. (2020) O gênero *Piper* no Brasil: o estado da arte da pesquisa. *Biodiversidade*. 19(3), 198.
- Paulus, D., Valmorbid, R., Toffoli, E. & Nava, G. A. 2013. Teor e composição química de óleo essencial de cidrô em função da sazonalidade e horário de colheita. *Horticultura Brasileira* 31: 203-209.
- Pinto, E. G., Lana, A. J. D. & Lima, R. A. (2016) Estudo fitoquímico do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ. sobre cepas de *Escherichia coli* in vitro. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 3(2), 27-36.
- Radi, P. A. & Terrones, M. G. H. (2007) Metabolitos secundários de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmácia*, 20(2), 18-22.
- Ribeiro, S. M., Bonilla, O. H. & Lucena, E. M. P. (2018) Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Castings. *Iberingia, Série Botânica*, 73 (1): 31-38.
- Sangi, S. C., Vieira Junior, J. R., Fernandes, C. F., Bastos, J. S. F., Fonseca, A. S., Freire, T. C., Ogrodowczyk, L., Nunes, J. D. K., Oliveira, K. C. C., Rocha, R. B. & Barbieri, F. S. (2018) Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematóides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 9(8), 212-223. <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0019>.
- Silva, A. D., Kowalski, L., Pagnó, A. R. & Piana, M. (2020) Atividade antimicrobiana de flavonoides: uma revisão da literatura. *Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas*, 4(1), 51-65.
- Silva, F. C. O., Farsaia, M. K. A., Silva, A. W., Matos, M. G. C., Magalhães, F. E. A., Silva, P. T., Bandeira, P. N., Menezes, J. E. S. A. & Santos, H. S. (2020) Biotividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. *Revista Virtual de Química*, 12(1)
- Valotto, C. F. B., Silva, H. H. G., Cavasin, G., Garis, R., Rodrigues Filho, E. & Silva, I. G. (2011) Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno labdano, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e a uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 44(2), 194-200
- Wink, M. (2013) Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 89, 164–175. [10.1016/j.sajb.2013.06.006](http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.006).
- Xavier, M. N. Estudo da composição química, variação sazonal e atividade biológica do óleo essencial de *Cardiophyllum calophyllum*. *Dissertação (Mestrado em Agroquímica)* – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, 2015.