



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

DISSERTAÇÃO

**Investigação da atividade de extratos orgânicos de *Piper dicaricatum* e suas
frações sobre a germinação e crescimento do alface**

Silvânia Alves Martins

Areia, PB

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



**Investigação da atividade de extratos orgânicos de *Piper dicaricatum* e suas
frações sobre a germinação e crescimento do alface**

Silvânia Alves Martins

Orientação

Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos

Co-orientação

Dra. Alessandra Resende Ramos

Dissertação submetida como requisito para
obtenção do grau de Mestre em Agronomia, no
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Areia, PB

2017

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

M386i Martins, Silvânia Alves.

Investigação da atividade de extratos orgânicos de *Piper divaricatum* e suas
frações sobre a germinação e crescimento do alface / Silvânia Alves Martins. -
Areia: UFPB/CCA, 2017.

52 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.

Bibliografia.

Orientadora: Roseane Cavalcanti dos Santos.

1. *Piper dicaricatum* – Extratos orgânicos
 2. *Piper dicaricatum* – Alelopatia
 3. Alface – Germinação
- I. Santos, Roseane Cavalcante dos (Orientadora) II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Investigação da atividade de extratos orgânicos de *Piper dicaricatum* e suas frações
sobre a germinação e crescimento do alface

Silvânia Alves Martins

Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM
AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela Comissão Examinadora:

Roseane Sank.

Dra. *Roseane Cavalcanti dos Santos*, Embrapa Algodão/UFPB
(Orientadora)

Carliane Rebeca C. da Silva
Dra. *Carliane Rebeca Coelho da Silva*, Prof. Dep. Biologia/UFPB
(Examinadora)

Valeska Silva Lucena
Dra. *Valeska Silva Lucena*, Prof. Dep. Biomedicina/ FMN/FCG
(Examinadora)

Data da realização: 24 de Fevereiro de 2017

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista a Deus, por tudo que tenho e pelas bênçãos recebidas

A minha tia Elvira, por tudo que sou, no aspecto moral e ensinamentos de vida

A meu esposo, Francisco Diogo, pelo companheirismo, apoio e por ser meu porto seguro em todos momentos de minha vida

A toda minha família, minha mãe, Gelcira, Victor Gabriel, Simone, Roberto D. Ana, Sr. Raimundo, Diego, Milene, Leila, Juliana, Guilherme por todo bem que me faz e sem o qual eu não teria toda sustentação necessária para continuar

AGRADECIMENTOS

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da UFPB pela oportunidade na realização do curso;

A Embrapa Algodão, ao Lab. de Engenharia de Produtos Naturais (LEPRON-UFPB) e ao Lab. Multifuncional do Curso de Biologia, da UNIFESSPA, pelas infraestruturas concedidas para execução da pesquisa;

A Capes, pela concessão da bolsa de estudo;

A Dra. *Roseane Cavalcanti dos Santos*, da Embrapa Algodão pela orientação, investimento na minha capacitação e por todos suportes técnico e pessoal concedidos durante a realização do curso;

A Profa. Dra. *Alessandra Rezende*, pela oportunidade de ingressar na pesquisa, sob sua orientação, e posterior incentivo na Pós-Graduação, com ensinamentos valiosos para minha formação;

A Profa. Dra. *Joyce Kelly da Silva*, pelo acesso e disponibilidade da infraestrutura do LEPRON, para condução dos experimentos;

Aos colegas de LEPRON, *Pablo Figueiredo, Erisléia, Rafaela Cabral, Rafaela Oliveira e Joice* pela valiosa ajuda na condução dos trabalhos;

Aos amigos Luciana, *Maria da Graças, Selí, Bruna, Sherly, Wal, Patrick, Leonardo Dantas, Maria Lúcia, Karol, João Paulo e Juan*, pelos momentos de descontração, convívio e apoio na condução dos trabalhos na UNIFESSPA;

A *Jean Pierre Cordeiro Ramos*, pelo companheirismo e dedicação dispensada a todos colegas da Pós-Graduação, especialmente na realização das análises estatísticas;

A Dona *Dalva Lira*, secretária da Embrapa Algodão, pelo exemplo de bondade e atenção, me acolhendo em sua residência, no início do Curso;

A *Josemar Felix* e a *Natália Milhomem*, pela atenção dispensada durante os translados em Recife;

Finalmente, a todas aquelas pessoas que, embora aqui não estejam citadas, participaram de alguma forma para realização desse objetivo.

Sumário

Introdução	8
Referências.....	11
Capítulo I: Revisão de literatura.....	13
Alelopatia: conceito e aplicações na defesa de plantas contra ervas daninhas.....	14
Silvânia Alves Martins, Roseane Cavalcanti dos Santos, Alessandra Rezende Ramos, Pablo Luís Baia Figueiredo, Joyce Kelly do Rosário da Silva.....	26
Introdução	30
Material e Métodos.....	32
Resultados e Discussão	34
Conclusão	42
Referências	43

Resumo

O Brasil é detentor de uma das maiores biodiversidades do planeta, abrangendo espécies vegetais nativas e outras introduzidas, de larga adaptação aos diversos climas que definem a ecogeografia do país. Várias dessas espécies são ricas em compostos orgânicos de amplo aproveitamento nos segmentos farmacêutico, agrícola, veterinário, culinário, entre outros. As espécies do gênero *Piper* são conhecidas mundialmente pelo extenso número de metabolitos secundários que produzem, tais como ligninas, flavonóides, fenilpropanóides, terpenos, entre outros, todos com registro de atividades biológicas. *P. dicaricatum* é uma das espécies reportadas na literatura, com alto potencial larvicida e fungicida, em função da elevada bioatividade do óleo essencial. Não há relato, contudo, do potencial dessa espécie para fins alelopáticos. O presente trabalho teve como objetivo investigar a atividade de extratos orgânicos de *P. dicaricatum* e suas frações sobre a germinação e crescimento do alface e posteriormente, identificar as classes de compostos responsáveis pelos efeitos alelopáticos. As frações dos extratos aquoso e alcoólico foram obtidas a partir de solventes com diferentes polaridades, usando etanol/metanol (F-EEM), metanol (F-M), clorofórmio (F-C), Acetato de etila (F-AE) e hexano (F-H). Os ensaios foram conduzidos em BOD, usando sementes de alface, semeadas em Placas de Petri, contendo 1,5 ml de cada extrato e fração, durante 7 dias. As variáveis analisadas foram taxa de germinação, comprimento de raiz e altura da plântula. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente com auxílio do programa SISVAR. Para identificação das sub-classes de compostos, utilizou-se Cromatografia de Camada Delgada (CCD) das frações mais inibitórias a alface. Os resultados demonstraram que os extratos hexano e metanol causaram danos na germinação e no crescimento da alface, contudo, a fração clorofórmio, do extrato aquoso (F-EA-C) foi a mais danosa para as plântulas porque inibiu 100% da germinação das sementes e ainda o crescimento das plântulas. A análise de CCD revelou presença de cumarinas e alcalóides nessa fração, ambos reportados na literatura como altamente tóxicos para a alface por inibir a germinação, alterar o processo de divisão celular e lesionar tecidos, atestando que a espécie *P. divaricatum* possui potencial alopático. Os resultados dessa pesquisa oferecem subsídios para uma possível produção de bioherbicida a partir dos metabolitos secundários que foram identificados.

Introdução

O mercado mundial de alimentos tem sido largamente demandado por produtos de qualidade, saudáveis e com menor resíduo de defensivos químicos. O Brasil é um expoente agrícola com grande importância econômica mundial, por ser fornecedor de alimentos e produtos agrícola, tais como, cereais, oleaginosas, açúcar e algodão, carne e laticínios (FAO, 2015). A pesquisa agropecuária tem tido papel relevante na economia nacional devido às várias tecnologias que desenvolve, para os segmentos de agricultura extensiva e familiar, garantindo competitividade e elevada produção, especialmente para as grandes commodities. Apesar das várias tecnologias atualmente disponíveis no segmento agropecuário, um dos grandes problemas que afetam estas culturas é a ocorrência de pragas (patógenos, insetos e ervas daninhas), que causam perdas não apenas na produção das culturas, mas também elevam os custos de produção devido aos preços dos insumos.

Além dos métodos convencionais de controle de pragas, o controle alternativo por meio de bioativos vegetais é um dos segmentos que tem sido largamente estimulado devido aos vários benefícios ambientais que os derivados de plantas proporcionam. A literatura disponibiliza vários trabalhos focalizados nesse tema. A Embrapa Algodão também desenvolve tecnologias nesse segmento, de modo a contribuir com um manejo mais agroecológico e sustentado. Entre os principais trabalhos realizados pela empresa nesse segmento, ressalta-se os conduzidos por Martins et al. (2016) avaliaram a bioatividade do manjericão (*Ocimum basilicum* L.) para o controle de ácaros (*Tetranychus urticae* Koch.), em amendoim, com base em ensaios moleculares, bioquímicos e agronômicos. Os autores descobriram que o extrato de manjericão a 15% apresentou alta toxicidade para as fêmeas do ácaro. A taxa de mortalidade foi de 75% e inibição completa da fecundidade foi encontrada. Com fungos, Melo et al (2013) avaliaram a ação tóxica e preventiva de óleos essenciais na inibição de crescimento da ramulose do algodoeiro (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*), baseando-se em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os autores encontraram que o óleo de cravo (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry) a 500 ppm inibiu fortemente o crescimento do fungo. A severidade da doença foi reduzida a 60%, indicando o benefício potencial desse óleo para controle desse patógeno.

No segmento de alelopatia, Santos et al. (2014) verificaram o efeito inibitório de (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), contra ervas daninhas usando ensaios moleculares e fitotécnicos. Os autores relataram um transcrito tóxico do sorgo, chamado *sor1*, que foi expresso no início da emergência. Em casa de vegetação, as plantas cultivadas em solo contendo extrato de plantas com alta atividade de *sor1* apresentaram inibição na produção de matéria seca (brotos e raízes) das ervas daninhas (*Cenchrus echinatus* L.) e (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.).

As ervas daninhas são uma das pragas mais danosas às lavouras, por serem em grande número e diversificadas, afetando as plantas pelo elevado nível de competição, por espaço, nutriente e luz (HE et al., 2012; AN et al., 2013; CHENG e CHENG, 2015). As formas mais convencionais de controle envolvem limpas manuais ou mecanizadas, sendo os herbicidas sintéticos os de maior eficiência, apesar dos sérios danos causados ao homem e ao ambiente (ALBUQUERQUE et al., 2010).

Há várias décadas, inúmeros grupos de pesquisadores têm unido esforços no sentido de investigar formas alternativas de controle de plantas daninhas através da utilização de metabolitos secundários presentes em espécies vegetais. As espécies do gênero *Piper* têm sido muito reportadas na literatura por possuírem classes de metabolitos secundários importantes para defesa de plantas, como fenilpropanoides, terpenos, lignanas, flavonoides, esteróides entre outros, com potencial para uso nas indústrias farmacêutica, medicinal e pesticida, em geral (DYER e PALMER, 2004; SILVA et al., 2014). O gênero *Piper* contém mais de 2000 espécies, dentre elas 283 tem ocorrência no Brasil (DI STASI et al., 2002). A espécie *Piper nigrum* L., conhecida popularmente como pimenta preta ou pimenta-do-reino, é a representante mais conhecida, devido sua importância econômica na indústria de condimento. Outras espécies como a (*P. crassinervium* Kunth), conhecida como jaborandi, é usada para fins fitoterápicos e na indústria de cosméticos (ALBIERO et al., 2005). A espécie (*P. hispidinervum* C. DC.), presente na região Amazônica e conhecida como pimenta-longa, é produtora de óleo essencial rico em safrol, utilizado nas indústrias de cosméticos. Já o óleo essencial de *P. aduncum* L. possui dilapiol, que revelou ação fungicida contra *Crinipellis perniciosa*. Oras espécies têm sido reportadas na literatura, onde o papel de seu metabolito principal tem sido explorado (MAIA et al., 1998; SILVA et al., 2014).

O potencial de espécies de *Piper* para o segmento alelopático ainda é pouco explorado. Há um estudo de Lustosa et al., (2007), que testaram extratos aquosos de *P. aduncum* e *P.*

tectoniifolium Kunth nas concentrações de 1% a 5% sobre a germinação e crescimento do alface e observaram que os extratos inibiram a germinação em 74%, além do crescimento das plântulas. Em estudos prévios conduzidos pela equipe da Embrapa Algodão, em parceria com a UFPA e a Embrapa Amazonia Oriental, foram identificados vários acessos de *Piper* com elevada bioatividade contra plantas de alface, em ensaios in vitro (RAFALSKI, 2017). Dando continuidade a essa linha de estudo, o presente trabalho teve como objetivo aprofundar os conhecimentos sobre a toxicidade dos metabolitos, focalizando em ensaios bioquímicos por meio de extratos hexânicos, alcoólicos e suas frações usando-se plantas de alface como modelo.

Referências

- ALBUQUERQUE, M.B., SANTOS, R. C., LIMA, L. M., MELO-FILHO, P. A., NOGUEIRA, R. J. M. C., CÂMARA, C.A.G. REZENDE, R. A. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. a review. **Agronomy For Sustainable Development**, v. 31, n.2, p.379-395, 2010.
- AN, Y; MA, Y; SHUI, J. Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) plants and switchgrass residue reduce the biomass and density of associated weeds. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science**, v. 63, n.2, p.107-113, 2013.
- CHENG, F; CHENG, Z. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. **Frontiers In Plant Science**, v. 6, p.1-16, 2015.
- DI STASI, L. C., OLIVEIRA, G. P., CARVALHAES, M. A., QUEIROZ-JUNIOR, M., TIEN, O. S., KAKINAMI, S. H., Reis, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. 69-91, 2002.
- DYER, L. A., PALMER, A. D. N. *Piper: A Model Genus for Studies of Pytochemistry, Ecology, and Evolution*. Kluwer Academic Publisher/New York, 2004.
- HE, H.B.; WANG, H.B.; FANG, C.X.; LIN, Z.H.; YU, Z.M; LIN W.X. Separation of allelopathy from resource competition using rice/barnyardgrass mixed-cultures. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p.1-6, 2012.
- LAMICHHANE, JR., BISCHOFF-SCHAEFER, M., BLUEMEL, S., DACHBRODT-SAAYDEH, S., DREUX, L., JANSEN, JP., MESSÉAN, A. Identifying obstacles and ranking common biological control research priorities for Europe to manage most economically important pests in arable, vegetable and perennial crops. **Pest Management Science**, v.1, n.1, p.1-22, 2016.
- MARTINS, M.I.G., SANTA A.N.A., A.E.G., VASCONCELOS, F.M.T., SILVA, W. L., LIMA, L.M. CARVALHO, R., MELO-FILHO, P. A., SANTOS, R.C. Bioactivity of basil (*Ocimum basilicum* L.) on control of the spider mite (*Tetranychus urticae* Koch.) in peanut. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, p.1597-1607, 2016.

MELO, R. M. C.A., MELO FILHO, P.A., CAMARA, M. P S. LIMA, W.G., SANTOS, R. C. Preventive control of cotton ramulosis using clove oil at low concentration. **International Journal of Agricultural Science Research**, v. 2, p.60-66. 2013.

MISHRA, S., UPADHYAY, R. S. Nautiyal, CS. Unravelling the beneficial role of microbial contributors in reducing the allelopathic effects of weeds. **Appl. Microbiol Biotechnol**, v. 97, n.13, p.5659-5668, 2013.

NEGREIROS, J .R. S., MIQUELONI, D. P., CARTAXO, C. B. C. Yield of essential oil and safrole content based on fresh and dry biomass of long pepper in the Brazilian Amazon. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 1, p. 75-80, 2015.

RAFALSKI, C. Bioatividade de Piper sobre crescimento de ervas daninhas, baseada em análise de crescimento e enzimáticas. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia. 2017.

Relatório OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2015-2024. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/b-i4761o.pdf>>. Acesso em: 19 maio 2016.

SANTOS, R.C., FERRAZ, G. M. G., ALBUQUERQUE, M.B., LIMA, L.M., MELO FILHO, P. A., RAMOS, A. R. Temporal expression of the sor1 gene and inhibitory effects of Sorghum bicolor L. Moench on three weed species. **Acta Botanica Brasílica**, v. 28, p.361-366, 2014.

SHAH, NA; IQBAL, J; ULLAH, A; YANG, G; YOUSAF, M; FAHAD S; TANVEER, M; HASSAN, W; TUNG, SA; WANG, L; WU, Y. Allelopathic potential of oil seed crops in production of crops: a review. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 12, n.1, p.1-14, 2016.

THI, H.L., CHUNG-HO, L., SMEDA, R. J., LEIGH, N.D., WYCOFF, W,G., FRITSCHI, F. B. Isolation and identification of an allelopathic phenylethylamine in rice. **Phytochemistry**, v.108, p.109-121, 2014.

Capítulo I: Revisão de literatura

Alelopacia: conceito e aplicações na defesa de plantas contra ervas daninhas

O termo alelopacia foi utilizado pela primeira vez há 300 a.c. por um discípulo de Aristóteles, que observou que o extrato de grão de bico (*Cicer arietinum* L.), afetou o crescimento de uma planta invasora e ainda melhorou a qualidade do solo (ALBUQUERQUE et al., 2010). Em 1937, Hans Molisch iniciou os experimentos envolvendo plantas alelopáticas e daí por diante, vários relatos foram publicados e o conceito consolidado. Rice (1984) definiu alelopacia como sendo os efeitos prejudiciais ou benéficos que uma planta poderia causar sobre outra, incluindo os microorganismos que contribuiriam nos processos, auxiliando na liberação dos aleloquímicos. Em 1996, o termo alelopacia foi ampliado pela Sociedade Internacional de Alelopacia, como sendo qualquer tipo de processo que envolva metabólitos secundários de plantas, os quais, dependendo das concentrações, podem causar efeitos que interferem diretamente no desenvolvimento de plantas, desde a germinação até a fase adulta (BUTNARIU, 2012).

Plantas com potencial alelopático produzem e liberam substâncias ou grupos de composto químicos com capacidade de estimular ou inibir outra espécie vegetal (ALBUQUERQUE et al., 2010; WATANABE et al., 2014).

A atividade alelopática de algumas espécies vegetais tem sido reportada vastamente na literatura. Samedani et al. (2013) demonstraram que a utilização do extrato aquoso de grama sempre verde (*Axonopus compressus* (Sw.) P. Beauv.), na concentração 50g/L, não alterou a germinação das ervas daninhas *Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson) e capim elefante (*Pennisetum polystachion* (L.) Schult.), contudo alterou o crescimento de ambas. Thi et al. (2014) testaram um aleloquímico presente em uma variedade de arroz (*Oryza sativa* L.), denominado N-trans-cinnamoyltyramine (NTCT), sobre a germinação de capim-arroz (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.), erva de capoeira agrião (*Lepidium sativum* L.) e erva chinesa (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees). Os resultados mostraram que o NTCT, que contém β-feniletilamina em sua composição, inibiu o crescimento da erva chinesa em 50%, a partir de 0,24 µM. Em alface e capim arroz, a letalidade das plântulas superou 80%, na concentração 2,4 µM. Os autores sugerem que esse tipo de arroz pode ser utilizado para controle de ervas daninhas, baseando-se no potencial do NTCT.

Os relatos da bioatividade de metabólitos vegetais com potenciais alelopáticos são de grande relevância para manejos agroecológicos porque podem contribuir para

expandir a adoção pelos agricultores, reduzindo o uso de herbicidas sintéticos, que causam tantos danos ao homem e ao meio ambiente. O apelo ecológico de alelopáticos naturais é largo porque, além dos benefícios para sanidade das plantas, contribuem para conservação da microflora do solo, são na maioria atóxicos e podem ser obtidos na fazenda, minimizando custos adicionais na aquisição comercial do produto (MISHRA et al., 2013; CHENG E CHENG, 2015). Em várias partes do mundo, a sociedade tem estado mais atenta para a qualidade dos produtos que consome especialmente os vegetais que, frequentemente carregam uma grande quantidade de resíduos tóxicos para controle de pragas. Uma agricultura mais autossustentada é o que se busca para os próximos cenários, tanto em termos econômicos quanto social (LAMICHHANE et al., 2016).

Os compostos químicos oriundos do metabolismo secundário podem ser sintetizados em qualquer órgão da planta, sendo frequentemente mais concentrados nas folhas, raízes, caule e sementes (BUTNARIU, 2012; SHAH et al., 2016). Esses metabólitos desencadeiam reações bioquímicas, geralmente associadas a respostas de defesa em situações quando as plantas se deparam com exposição a fatores bióticos ou abióticos (LI et al., 2016). O conhecimento dessas reações é importante para explorar a função dos aleloquímicos, e consequentemente, auxiliar no uso para controle de pragas nas lavouras, quer seja de forma isolada ou em sistemas integrados de defesa.

O Brasil é detentor de uma das maiores biodiversidade do planeta, distribuídas em todas as cinco regiões fisiográficas. A região amazônica é uma das mais abundantes em termos de biodiversidade da flora. Grande parte das espécies medicinais, aromáticas, condimentares, inseticidas, repelentes, tóxicas e bactericidas é encontrada nessa região e tem fornecido subsídio para exploração técnica e empírica de uso e funções nos aspectos alimentar, farmacêutico e agrícola (CANDIDO et al., 2016).

No segmento agrícola, várias espécies têm sido registradas como potentes alopáticas, cujos princípios ativos podem se constituir em bioherbicidas para controle de ervas daninhas (CHENG e CHENG, 2015). Algumas espécies da família Lamiaceae, por exemplo, liberam citotóxicos que dificultam o desenvolvimento de outras plantas, tais como R- e A-pineno, canfeno, limoneno, R-felandreno, p-cimeno, 1,8-cineol, borneol, pulegona, e cânfora, carvacrol, y-terpineno (LIMA e CARDOSO, 2013). A família Piperaceae é muito reportada em função da alta quantidade de princípios ativos e valor econômico para a indústria de condimentos. Na literatura, há vários trabalhos reportando sobre seu uso como bioinseticida, na indústria de cosmético, medicinal e produção de óleos essenciais ricos em metabolitos

como monoterpenos, sesquiterpernos como também outros grupos de substâncias capazes inibir o desenvolvimento de outros organismos vivos (SILVA et al., 2014).

O modo de ação do aleloquímico depende muito do princípio ativo principal. Há situações em que o composto isolado surte pouco efeito alelopático, contudo, quando interage com outro, a bioatividade é aumentada. Casos de sinergismo e antagonismo são bastante discutidos na literatura (ISLAM e KATO-NOGUCHI, 2014; CHENG e CHENG, 2015).

A família Piperaceae e seu potencial culinário, farmacêutico e pesticida

O nome da família Piperaceae foi usado pela primeira vez pelo autor Rich, na obra intitulada *Nova Genera et Species Plantarum* de Kunth descrita por Humboldt (YUNCKER, 1958), baseando-se em um número relativamente pequeno de novas espécies coleções do continente sul-americano. Em 1826, Blume, ex-diretor do herbário de apresentou um extenso relatório monográfico sobre espécies leste da Índia (NAIR, 2011). Essas espécies são constituídas por plantas dicotiledôneas, com porte arbustivo, herbáceo ou arbóreo e caule com estrutura articulada e nodosa, embora haja formas trepadeiras em algumas espécies (MAIA e ANDRADE, 2009). A família possui 10 gêneros: *Arctottonia*, *Macropiper*, *Ottonia*, *Peperômia*, *Piper*, *Photomorphe*, *Sarcorhachis*, *Trianeopiper* e *Zippelia* (JARAMILLO e MANOS, 2001; JARAMILLO E CALLEJAS, 2004), *Maneki* (WANKE et al., 2007).

Com o número de espécies variado entre 1400 a 2500, com a preferência por lugares úmidos com sombra. No Brasil as espécies da família Piperaceae tem ocorrência na região Amazônica, inúmeras espécies já foram estudadas como *P. belte* L., *P. amapaense* Ynck., *P. duckei* C. DC., *P. bartlingianum* (Miq.) C. DC. e *P. arboreum* Aubl. (MAIA et al., 1977; NASCIMENTO et al., 2015).

O nome *Piper* foi proposto em memória ao naturalista americano C.V Piper e o pesquisador Rheede (1678) foi o primeiro a descrever o gênero *Piper*, originário do continente indiano. Com 2000 espécies, é considerado o maior gênero da família Piperaceae, das quais mais de 283 espécies ocorrem no Brasil (JARAMILLO E CALLEJAS, 2004; WANKE et al., 2006; BALDOQUI et al., 2009), principalmente nas regiões norte (MAIA e ANDRADE, 2009). Várias espécies são muito reportadas por serem detentoras de metabolitos com propriedades pesticida, fungicida, além de compostos fitoterápicos, presentes em extratos e nos óleos essenciais (MAIA et al., 1977; BERNUCI et al., 2016). Citam-se como exemplo *P. arboreum* Aubl. com função fungicida, *P. tuberculatum* Jacq, com função inseticida, e *P. marginatum* Jacq., com forte poder bactericida (SILVA et al., 2002). No segmento culinário,

P. nigrum L. é a mais usada, sendo conhecida por pimenta preta ou pimenta-do-reino. Uma síntese das funções de algumas espécies de *Piper* é encontrada na Quadro 1.

Quadro 1. Funções de algumas espécies de *Piper* reportadas na literatura.

Espécie	Função	Referência
<i>P. hispidinervum</i> C. DC e <i>P. aduncum</i> L.	Contem safrol, usado na indústria de cosméticos, além do uso na fabricação de inseticidas piretróides	NUNES et al., 2007; ALBIERO et al., 2005
<i>Piper regnellii</i> Miq.	Possui compostos fenilpropanóides e neolignanas, com atividade anti-leishmania e anti-tripanossoma	NAKAMURA et al., 2006
<i>P. marginatum</i> Jacq.	Combate a doenças gastrointestinais, monoterpenoides, sesquiterpenoides e fenilpropanoides	BRÚ e GUZMAN, 2016
<i>P. hispidinervum</i> C. DC.	Contem como componente majoritário o Safrol e agentes antiinflamatórios; usados na indústria de perfumes como fixadores e atividade antimicrobiana	LIMA et al., 2009.
<i>P. krukofii</i> Ynck. e <i>P. aduncum</i> L. <i>Piper hispidinervum</i> C.DC.	O óleo essencial contém dilapiol; possui propriedades fungicida, tumoral e larvicida	SILVA et al., 2010
<i>Piper divaricatum</i> G. Mey.	Contem metileugenol e eugenol no óleo essencial, com propriedade fungicida, antioxidante	SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2014

***Piper divaricatum* G. Mey. : Propriedades pesticida para agricultura**

P. divaricatum é popularmente conhecida como pau-de-angola ou jaborandi-manso. Trata-se de uma planta arbustiva, de aproximadamente 9 metros de altura, com inflorescência em forma de espigas e folhas estipuladas, alternas, pecioladas e inteiras (Figura 1). Está

distribuída na América do Sul, em países como Bolivia, Colombia, Ecuador, Peru, Suriname (YUSUF et al., 2001). Também é encontrada em alguns estados brasileiros como Amazonas, Amapá, Pará, Ceará, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Mato Grosso. Segundo a literatura, é uma das espécies com larga diversidade em metabolitos secundários, que merece ser explora para fins agronômicos, em função de potentes componentes de potencial biopesticidas, como monoterpeno, sesquiterpenos e fenilpropanóides. *P. divaricatum* também possui óleo essencial, cujos compostos são eugenol e metileugenol, que agem como fungicidas naturais, por inibirem o crescimento micelial de vários patógenos (SILVA et al, 2010 e 2014).



Figura 1. Acesso de *P. divaricatum*

crescido em casa de vegetação da Universidade Federal do estado do Pará.

Em destaque a inflorescência da espécie.

Fonte: MARTINS, 2016.

Silva et al., (2010) estudaram a fungitoxicidade do óleo essencial de *P. divaricatum* contra os fungos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* e verificaram que ambos foram fortemente inibidos, com redução do crescimento micelial similares ao encontrado com o Miconazol, em baixa concentração (0,5 µg mL⁻¹). Com *Fusarium solani* f. Sp. *Piperis*, Silva et al., (2014) testaram os componentes majoritários do óleo essencial de *P. divaricatum* e verificaram que metileugenol e eugenol revelaram reduções do crescimento micelial do fungo, entre 70% e 100%.

Não há relatos sobre bioatividade de *P. divaricatum* sobre ervas daninhas, contudo, considerando o largo número de compostos que a espécie detém, em folhas, caule e inflorescências, é possível que, pelos menos nas principais classes de metabolitos secundários, haja algum tipo de atividade alelopática, que possa ser aproveitada uso de defesa de plantas contra ervas daninhas.

Referências

- ALBIERO, A.L. M., PAOLI, A. A. S., SOUZA, L. A. D., MOURÃO, K. S. M., Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* HB; K. (Piperaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v 19, n.2, p.305-312, 2005.
- ALBUQUERQUE, M.B., SANTOS R.C., LIMA, L. M., MELO FILHO, A.P., NOGUEIRA, R. J. M, C.,Câmara, CAG; Rezende, RA. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n.2, p.379-395, 2010.
- ANDRADE, E. H. A., GUIMARÃES, E.F., MAIA, J. G. S. Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia. Belém: Faculdade de Engenharia Química/UFPA, 2009.
- BALDOQUI, D.C., BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Flavonas, lignanas e terpeno de *Piper umbellata* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 32, n.5, p.1107-1109. 2009.
- BERNUCI, K., IWANAGA, C.C., FERNADEZ, A. C.M.M., LORENZETTI, F.B. TORRES, S. E. C., FAIÕES, V. D. S., CARDOSO, R. F. Evaluation of chemical composition and antileishmanial and antituberculosis activities of essential oils of *Piper* species, **Molecules**, v. 21, n.12, p.1-12, 2016.
- BERTO, A; RIBEIRO, AB; SENTANDREU, E; SOUZA, NE; MERCADANTE, AZ; CHISTÉ, RC; FERNANDES, E. The seed of the amazonian fruit *Couepia bracteosa* exhibits higher scavenging capacity against ROS and RNS than its shell and pulp extracts. **Food Function**, v. 6, n.9, p.3081-3090, 2015.
- BRÚ, J., GUZMAN, J. D. . Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum* Jacq. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 6, p. 767-779, 2016.
- BUTNARIU, M. An analysis of sorghum halepense's behavior in presence of tropane alkaloids from *Datura stramonium* extracts, **Chemistry Central Journal**, v.6, n.1, p.1-6, 2012.

CANDIDO, L. P., VARELA, R. M., TORRES, A., MOLINILLO, J. M., GUALTIERI, S. C., MACÍAS, F. A. Evaluation of the allelopathic potential of leaf, stem, and root extracts of *Ocotea pulchella* Nees et Mart. **Chemistry Biodiversity**, v.13, n.8, p.1058-1067, 2016.

CHAVES, M. C. O., OLIVEIRA, A. H., SANTOS, B. V. O., Aristolactams from *Piper marginatum* jacq (Piperaceae). **Biochemical Systematics And Ecology**, 34:1, 75-77, 2006.

CHENG, B. J. W., DURING, H. J., ANTEN, N. P. R. Detect thy neighbor: identity recognition at the root level in plants. **Plant Science**, v.195, p.157–167, 2012.

CHENG, F; CHENG, Z. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. **Frontiers In Plant Science**, v.6, p.1-16, 2015.

CUNICO, M. M., MIGUEL, O. G., MIGUEL, M. D., KERBER, V. A. MONTRUCCHIO, D. P. AUER, C.G., GRIGOLETTI, J. A. Avaliação da atividade antibacteriana de *Ottonia martiana* miq., Piperaceae. **Revista Ciência farmácia**, v.24, n.2, p.141-145, 2003.

GOBBO-NETO, L., LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GORDON, A., CRUZ, A. P. G., CABRAL, L.M.C., FREITAS, S.C., TAXI, C. M. A. D., DONANGELO, C. M., MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açaí fruits (*Euterpe oleracea* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, 133, 256–263, 2012.

ISLAM, A. K. M. M., KATO-NOGUCHI, H. Phytotoxic activity of *Acimum tenuiflorum* extracts on germination and seedling growth of different plant species. **The Scientific World Journal**, p.1-8, 2014.

JARAMILLO, M. A., CALLEJAS, R. Current perspectives on the classification and phylogenetics of the genus *Pipe*, In: dyer, la, palmer, A. (Eds.), *Piper: a model genus for studies of phytochemistry*, **Ecology and Evolution**, v.1, p.179–198, 2004.

JARAMILLO, M.A., MANOS, P.S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, v.88, n.4, p.706-716, 2001.

KARYO MORPHOLOGICAL ANALYSIS IN PIPERACEAE diponivel em http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/6442/7/07_part%201.pdf Acesso em 19 de março 2017.

LI, YONG-HUA., XIA, ZHI-CHAO., KONG, CHUI-HUA. Allelobiosis in the interference of allelopathic wheat with weeds. **Pest Management Science**, v.72, n.11, p.2146-2153, 2016.

LIMA, R. K., CARDOSO, M. G., MORAES, J. C., MELO, B. A., RODRIGUES, V. G., GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009.

LOPES, L.C., MEDEIROS, F. A., MEDEIROS, AAN. Estudo químico das folhas da espécie *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae). In: Encontro de Iniciação Científica da UFPB, 1, 2005.

MAIA, J. G. S., ZOGHBI, M. G. S., ANDRADE, E. H. A., SANTOS, A. S., SILVA, M. L., LUZ, A. I. R., BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing in the Amazon Region. **Flavour and Fragrance Journal**, v.13, p.269-272, 1998.

MAIA, J.G.S., ANDRADE, E. H.A., Database of the amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, 32:3, 595-622, 2009. Maia, JGS; Silva, MD; Luz, AI; Zoghbi, MDG; Ramos, LS. Espécies de *Piper* da amazônia ricas em safrol. **Química Nova**, v.10, n.3, 200-204, 1987.

MEDEIROS, F. A. D., MEDEIROS, A. A., TAVARES, J.F., BARBOSA FILHO, J. M., LIMA, E. D.O., SILVA, M. S. D. Licanol, a new flavanol, and other constituents from the *Licania macrophylla* Benth. **Química Nova**, v.35, n.6, p1179-1183, 2012.

NAIR, K. P. P. Agronomy and Economy of Black Pepper and Cardamom: The " king" and " queen" of Spices. **Elsevier**, 2011.

NAKAMURA, C. V., SANTOS, A. O., VENDRAMETTO, M. C., LUIZE, P. S., DIAS FILHO, B. P., CORTEZ, D. A., UEDA-NAKAMURA, T. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 61-66, 2006.

NASCIMENTO, S. B., LIMA, A. M., BORGES, B. N., SOUZA, C. R. B. Endophytic bacteria from *Piper tuberculatum* Jacq.: isolation, molecular characterization, and in vitro screening for the control of *Fusarium solani* f. sp piperis, the causal agent of root rot disease in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Genetics and Molecular Research**, v.14, n.3, p.7567-757, 2015.

NUNES, J.D., TORRES, G. A., DAVIDE, L. C., SALGADO, C. C. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42 n.7, p.1049-1052, 2007.

RIBEIRO, J.C., ANTUNES, L. M. G., AISSA, A. F., DARIN, J.D. C., ROSSO, V., V., MERCADANTE, A. Z., BIANCHI, M. L. P. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açaí pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.695, p.22–28, 2010.

RICE, EL. Allelopathy. Academic press. schaefer m. **Assessing**. v.2, n.4, p.74-80, 1984.

SHAH, A. N., IQBAL, J., ULLAH, A., YANG, G., YOUSAF, M., FAHAD, S., KHAN, A. Allelopathic potential of oil seed crops in production of crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, p.1-14, 2016.

SILVA, E. M. J., MACHADO, S. R. Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. regnellii (Piperaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.22, n.2, p.117-124, 1999.

SILVA, J. K. R., PINTO, L. C., BURBANO, R. M. R., MONTENEGRO, R. C., GUIMARÃES, E. F., ANDRADE, E. H. A., MAIA, J. G. S. Essential oils of amazon piper species and their cytotoxic, antifungal, antioxidant and anti-cholinesterase activities. **Industrial Crops And Products**, v.58, p.55-60, 2014.

SILVA, J. K. R., SILVA, J. R. A., NASCIMENTO, S.B., LUZ, F. M., MEIRELES, E. N., ALVES, C. N., RAMOS, R. A., MAIA, J. G. S. Antifungal activity and computational study of constituents from *Piper divaricatum* essential oil against *Fusarium* infection in black pepper. **Molecules**, v.19, n.11, p.17926-17942, 2014.

SILVA, J.K., ANDRADE, E. H., GUIMARAES, E. F., MAIA, J. G. Essential oil composition, antioxidant capacity and antifungal activity of *Piper divaricatum*. **Natural Product Communications**, v.5, n.3, p.477-480, 2010.

SILVA, JA; OLIVEIRA, FF; GUEDES, ES; BITTENCOURT, MAL; OLIVEIRA, RA; Antioxidant activity of *Piper arboreum*, *Piper dilatatum*, and *Piper divaricatum*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16 n.3, p.700-706, 2014.

SILVA, M. F. R., BEZERRA, S. P. C., LIRA, C. S., LIMA, A. B. N., NETO, A. C. A., PONTUAL, E. V., NAVARRO, D. M. D. A. F. Composition and biological activities of the essential oil of *Piper corcovadensis* (Miq.) C. DC (Piperaceae). **Experimental Parasitology**, v.165, p.64-70, 2016.

SILVA, R. V., NAVICKIENE, H. M. D., KATO, M. J., BOLZANI, V. D. S., MÉDA, C. I., YOUNG, M. C. M., FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 5, p. 521-527, 2002.

TORMA, P. D. C. M. R., BRASIL, A. V.S., CARVALHO, A. V., JABLONSKI, A., RABELO, T. K., MOREIRA, J. C. F., OLIVEIRA, R. A. Hydroethanolic extracts from different genotypes of açaí (*Euterpe oleracea*) presented antioxidant potential and protected human neuron-like cells (SH-SY5Y). **Food Chemistry**, 2016.

WANKE, S., JARAMILLO, M. A., BORSCH, T., SAMAIN, M. S., QUANDT, D., NEINHUIS, C. Evolution of Piperales-matK gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Molecular Phylogenetics And Evolution**. v.42, n.2, p.477-497, 2007.

WANKE, S., SAMAIN, M.S., VANDERSCHAEVE, L., MATHIEU, G., GOETGHEBEUR, P., NEINHUIS, C. phylogeny of the genus *Peperomia* (Piperaceae) inferred from the t Mrnk/matK region (cpDNA). **Plant Biology**, v.8, n.1, p.93-102, 2006.

WATANABE, Y., NOVAES, P., VARELA, R. M., MOLINILLO, J. M., KATO-NOGUCHI, H., MACÍAS, F.A. Phytotoxic potential of *Onopordum acanthium* L.(Asteraceae). **Chemistry & biodiversity**, v.11, n.8, p.1247-1255, 2014.

YUNCKER, T. G. The Piperaceae - a family profile. **Brittonia**, v.10, p.1-7, 1958.

YUSUF, A., TYAGI, R. K., MALIK, S. K. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf segments of *Piper colubrinum*. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 65, n. 3, p. 255-258, 2001.

Capítulo II: Artigo **Identificação de aleloquímicos inibidores de crescimento, oriundos de extratos orgânicos e frações de *Piper divaricatum***

Silvânia Alves Martins, Roseane Cavalcanti dos Santos, Alessandra Rezende Ramos, Pablo Luís Baia Figueiredo, Joyce Kelly do Rosário da Silva.

Submetido para revista Pesquisa Agropecuária Brasileira - PAB

1 **Identificação de aleloquímicos inibidores de crescimento oriundos de extratos orgânicos e**
2 **frações de *Piper divaricatum***

3 Silvânia Alves Martins⁽¹⁾, Roseane Cavalcanti dos Santos⁽²⁾, Alessandra de Rezende
4 Ramos⁽³⁾, Pablo Luís Baia Figueiredo⁽⁴⁾ e Joyce Kelly do Rosário da Silva⁽⁵⁾
5 Programa de Pós-graduação em agronomia PPGA/UFPB ppga.cca.ufpb@gmail.com,
6 silvania20alves@hotmail.com⁽¹⁾ Embrapa Algodão sac@cnpa.embrapa.br,
7 roseane.santos@embrapa.br⁽²⁾ Universidade Federal Sul e Sudeste do Pará
8 /UNFESSPA, rezende@unifesspa.edu.br⁽³⁾ Programa de Pós-graduação em
9 Química/Universidade Federal do Pará/UFPA ppgq@ufpa, pablolbf@ufpa⁽⁴⁾
10 Universidade Federal de Pará/UFPA, joycekellys@ufpa.br⁽⁵⁾

11 **Resumo** – Alelopatia é o fenômeno pelo qual uma espécie vegetal influencia, tanto de
12 modo positivo quanto negativo, o crescimento e desenvolvimento de outra ao seu redor.
13 Diversas espécies já foram identificadas com tal propriedade, porém poucos estudos se
14 dedicaram ao gênero *Piper*. O presente trabalho objetivou avaliar a bioatividade de *P.*
15 *divaricatum* por meio de extratos orgânicos e suas frações, com fins de identificar os
16 aleloquímicos responsáveis pela inibição de crescimento de plantas, tomando-se a
17 planta de alface como modelo. As sementes foram postas para germinar em placas de
18 Petri contendo papel de filtro embebido em 1 ml de cada extrato e suas respectivas
19 frações. As placas foram incubadas em BOD durante 7 dias. A identificação dos
20 aleloquímicos foi feita por cromatografia de camada delgada. Verificou-se que a fração
21 clorofórmio do extrato aquoso apresentou elevada inibição na germinação e crescimento
22 das plântulas de alface. Alcalóides e cumarinas foram identificados nessa fração, ambos
23 reportados na literatura como potentes inibidores da germinação porque causam
24 alterações nos processos de divisão celular além de lesões nos tecidos e interferir nos

25 transportes de solutos da membrana. Outros aleloquímicos também foram identificados
26 nas frações do extrato etanol/metanol, como terpenos/triperpenos, ácidos graxos,
27 flavonoides e fenilpropanoides, todos envolvidos com resposta de defesa de plantas.
28 Dois outros compostos, ácidos graxos e derivados antracenos, ainda não foram
29 reportados como aleloquímicos em *Piper*.

30 Termos para indexação: Alelopatia, bioatividade, *Lactuca sativa*, cromatografia

31

32 **Abstract**

33

34 Allelopathy is the phenomenon by which a vegetal specie influences in growth of
35 another around it. Several species have already been identified with this ability, but few
36 studies have been reported with genus *Piper*. The present work aimed to evaluate the
37 bioactivity of *P. divaricatum* by using organic extracts and their fractions, in order to
38 identify allelochemicals responsible for growth inhibition of plants, based on lettuce, as
39 reference. Seeds were put to germinate in Petri dishes containing filter paper soaked in 1
40 ml of each organic extract and their respective fractions. Plates were incubated in BOD
41 for 7 days. Identification of the allelochemicals was done by thin layer chromatography.
42 It was verified that the chloroform fraction of the aqueous extract showed high
43 inhibition to germination and growth of lettuce seedlings. Alkaloids and coumarins were
44 identified in this fraction, both reported in the literature as potent inhibitors of
45 germination because cause alterations in cell division processes besides tissue damages
46 and interference in transport of membrane solutes. Other allelochemicals were also
47 identified in fractions of ethanol/methanol extract, such as terpenes/triperpenes, fatty
48 acids, flavonoids and phenylpropanoids, all involved in plant defense response. Two

49 other compounds, fatty acids and anthracene derivatives, have not yet been reported as
50 allelochemicals in *Piper*.

51 **Key words:** alelopathy, bioactivity, lettuce, cromatography

52

53 **Lista de abreviaturas**

54

55 BOD - Demanda Bioquímica de Oxigênio

56 CCD - Cromatografia em Camada Delgada

57 EBA - Extrato Bruto Aquoso

58 EBH - Extrato Bruto Hexano

59 EBEM - Extrato Bruto Etanol/Metanol

60 EA - Extrato Aquoso

61 EH - Extrato Hexano

62 EEM - Extrato Etanol/Metanol

63 F-EA-H - Fração Extrato Aquoso-Hexano

64 F-EA-C - Fração Extrato Aquoso-Clorofórmio

65 F-EA-AE - Fração Extrato Aquoso-Acetato Etila

66 F-EA-M - Fração Extrato Aquoso-Metanol

67 F-EEM-H - Fração Extrato Etanol/Metanol-Hexano

68 F-EEM-C - Fração Extrato Etanol/Metanol- Clorofórmio

69 F-EEM-AE - Fração Extrato Etanol/Metanol- Acetato Etila

70 F-EEM-EM - Fração Extrato Etanol/Metanol- Etanol/Metanol

71 UFPA - Universidade Federal do Pará

72 UNIFESSPA - Universidade Federal Sul e Sudeste do Pará

73

Introdução

74 O Brasil é um expoente agrícola de grande importância econômica no mercado
75 mundial de alimentos, fibras e derivados. A pesquisa agropecuária tem contribuído
76 expressivamente nesse segmento devido às várias tecnologias que desenvolve,
77 garantindo competitividade e elevada produção, especialmente para as grandes
78 commodities agrícolas. Apesar das várias tecnologias atualmente disponíveis no
79 segmento agropecuário, os produtores frequentemente enfrentam dificuldades de ordem
80 climática, que desencadeiam em problemas de natureza abiótica ou biótica. Sobre esse
81 último, a ocorrência de pragas (patógenos, insetos e ervas daninhas) é o fator mais
82 limitante da produção, devido aos elevados custos dos insumos agrícolas (Freire e Vidal
83 Neto, 2013; Araniti et al., 2015).

84 Ervas daninhas são consideradas as pragas mais danosas às lavouras comerciais,
85 devido a larga diversificação e poder competitivo (He et al., 2012; Araniti et al., 2015).
86 O controle usual é feito por meio de defensivos químicos, que apesar de eficientes,
87 oneram e causam sérios prejuízos à saúde humana e ao meio ambiente. A busca por
88 formas alternativas de controle de ervas daninhas tem sido objeto de estudos de vários
89 centros de pesquisa, os quais focam em manejos mais autossustentáveis e
90 agroecológicos. Essa tendência tem levado ao aprofundamento de estudos na área de
91 alelopatia, focalizando na prospecção de aleloquímicos oriundos de espécies vegetais,
92 com potencial de exterminar ou inibir o crescimento de outras plantas circunvizinhas
93 (Albuquerque et al., 2010). Dentre os mais reportados citam-se os terpenóides,
94 cumarinas, flavonóides, catequinas, quinonas e taninos (Friedjung et al., 2013). A
95 maioria deles são absorvidos naturalmente pelo solo sem danos a biodiversidade (Shah
96 et al., 2016).

97 O território brasileiro é detentor da maior biodiversidade vegetal do planeta, com
98 espécies nativas e domesticadas nas várias ecorregiões fisiográficas. A Amazônia
99 representa o bioma mais rico por agregar um vasto número de espécies com potencial
100 para uso nos segmentos medicinal, condimentar, pesticida, farmacêutico, entre outros
101 (Candido et al., 2016). Dentre as espécies vegetais representativas, destaca-se a família
102 Piperaceae, representada principalmente pelo gênero *Piper*, que se distribui desde o
103 México até o sudoeste da Argentina, abrangendo cerca de 2000 espécies distribuídas em
104 regiões tropicais, das quais mais de 283 espécies ocorrem no Brasil (Jaramillo e
105 Callejas, 2004; Wanke et al., 2006; Baldoqui et al., 2009). Uma das características
106 dessas espécies é a produção de vários metabolitos secundários com propriedades
107 farmacêuticas, medicinais e pesticidas, presentes nos extratos e óleos essenciais
108 (Lustosa et al. 2007; Bernuci et al., 2016).

109 *P. divaricatum*, popularmente conhecida como pau-de-angola ou jaborandi-
110 manso, é uma espécie rica em metabolitos secundários de largo potencial para a
111 indústria de pesticidas, como os fenilpropanóides, metileugenol e eugenol, presentes nas
112 raízes, flores e inflorescências. Segundo Silva et al.,(2010, 2014), o óleo essencial de *P.*
113 *divaricatum* possui alta atividade antifúngica contra *Cladosporium cladosporioides*, *C.*
114 *sphareospermum* e *Fusarium solani* f. sp. *piperis* Alb.

115 No aspecto alelopático, Rafalski, (2017) demonstrou que o extrato aquoso de *P.*
116 *divaricatum* a 1,5% inibiu a emergência e crescimento de carrapicho (*Cenchrus*
117 *echinatus* L.), picão preto (*Bidens pilosa* L.) e capim amargoso (*Digitaria insularis* (L.)
118 Fedde), em ensaios *in vivo*, conduzidos em casa de vegetação. Esses resultados
119 motivaram a continuidade da pesquisa, no intuito de aprofundar os conhecimentos sobre
120 os compostos responsáveis por tal inibição. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou
121 avaliar a bioatividade de extratos orgânicos e frações de *P. divaricatum* com fins de

122 identificar os aleloquímicos responsáveis pela inibição de crescimento de plantas,
123 tomando-se como modelo plântulas de alface.

124 **Material e Métodos**

125 ***Coleta do material e obtenção dos extratos brutos***

126 Folhas de *P. divaricatum* G. Mey (acesso MG 200.151) foram coletadas no
127 *campus* da UFPA, município de Belém/PA (-1.473155, -48.457753). Os tecidos foram
128 desidratados a 50°C em estufa de circulação e posteriormente triturados em moinho de
129 facas para preparo dos extratos aquoso, alcoólico e hexânico. O EBA foi produzido por
130 maceração a frio de 116 g de folhas em 750 mL de água destilada. O extrato foi filtrado
131 e posteriormente levado ao liofilizador (LOC-1 Christ), resultando numa massa de 7,0
132 g. EBEM e EBH foram obtidos a partir da maceração de 50 g de folhas em 450 mL de
133 etanol/metanol (1:1) e hexano, respectivamente. Após a evaporação do solvente, foram
134 preparadas soluções nas concentrações de 13,3 mg/mL para o extrato hexânico e 40
135 mg/mL para o extrato etanol/metanol. Para uso nos bioensaios, ambas soluções foram
136 diluídas nas seguintes concentrações: 2,5, 5,0, 7,5 e 10 mg/mL.

137 ***Obtenção das frações dos extratos EA e EEM***

138 Para obtenção das frações, preparou-se previamente uma alíquota dos extratos EA (7,0g
139 da massa obtida no EBA/100 ml de água destilada) e EEM (3,0 g/100 ml de metanol e
140 água, 1:1). Ambos extratos foram particionados em funil de decantação com 100 mL de
141 hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. O solvente de cada fração foi eliminado
142 em evaporador rotativo. As frações foram solubilizados em água e Tween 20 (5%),
143 sendo utilizadas na concentração de 2,5 mg/mL. O Quadro 1 contém a discriminação
144 das frações estudadas.

145

146

147 **Quadro 1.** Discriminação das frações usadas a partir dos extratos aquoso (EA) e
148 etanol/metanol (EEM) de *P. divaricatum*

Extrato	Solvente	Fração obtida
EA	Hexano	F-EA-H
	Clorofórmio	F-EA-C
	Acetato de etila	F-EA-AE
	Metanol	F-EA-M
EEM	Hexano	F-EEM-H
	Clorofórmio	F-EEM-C
	Acetato de etila	F-EEM-AE
	Etanol/metanol	F-EEM-EM

149

150 **Bioatividade dos extratos e frações sobre alface (*Lactula sativa L.*)**

151 Os bioensaios foram conduzidos em câmara de germinação, tipo BOD, mod.
152 Limotec, utilizando-se sementes de alface adquiridas comercialmente (Feltrin,
153 Farroupilha, RS). Em cada placa de Petri (90 mm Ø) foram acondicionadas 30 sementes
154 de alface sobre papel de filtro duplo, pré-umedecido com 1,5 mL dos extratos EEM e
155 EH, e as frações apresentadas no Quadro 1. As placas foram acondicionadas em BOD
156 (26 °C ±1) e fotoperíodo 12:12 h, durante 7 dias. Após 48 h e 96 h, as placas receberam
157 500 µL de água, e foram novamente acondicionadas em BOD, até o final do ensaio.
158 Todos os testes foram conduzidos com 4 repetições. Ao final do ensaio foram
159 registradas as seguintes variáveis: taxa de germinação, comprimento da radícula e altura
160 da plântula. As sementes foram consideradas germinadas quando apresentavam
161 protuberância radicular maior do que dois milímetros (Maquire, 1962).

162 **Análise estatística**

163 Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias
164 comparadas pelo teste de Skot-Knot (5%), utilizando-se o programa estatístico
165 programa SISVAR.

166 ***Detecção das classes de compostos por Cromatografia de Camada Delgada***

167 **(CCD)**

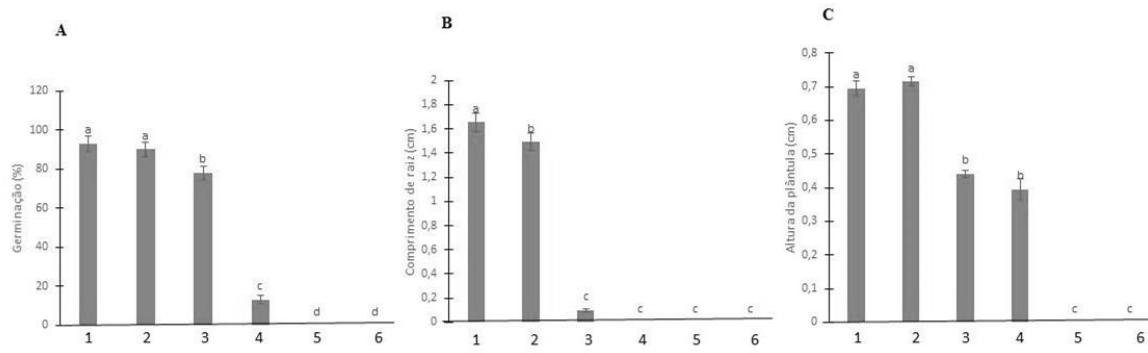
168 Para as análises de CCD foi utilizando placa sílica gel (Sigma-Aldrich), com
169 granulometria de 70-230 e aplicados 8 µL de cada fração. As amostras foram aplicadas
170 em duplicata, com o auxílio de um capilar. As frações F-EA-C, F-EEM-C, F-EEM-H
171 foram eluídas com hexano e acetato de etila (60:40) e para as as frações F-EEM-AE e F-
172 EEM-EM, o acetato de etila foi usado como eluente. Para a revelação das placas
173 cromatográficas foi adotada metodologia descrita por Wagner e Bladt, (1996),
174 borrifando os reagentes específicos para cada classe de compostos. As classes dos
175 compostos foram visualizadas por luz ultravioleta, nas faixas de comprimento entre 254
176 e 366 nm.

177 **Resultados e Discussão**

178 ***Bioatividade do EBH e EEM sobre plântulas de alface***

179 Os extratos hexano e alcoólico, e as frações representadas no Quadro 1 de *P.*
180 *divaricatum* foram usados neste experimento com objetivo de avaliar a toxicidade sobre
181 a emergência e crescimento de alface, em bioensaios conduzidos *in vitro*. A alface foi
182 escolhida por ser considerada planta modelo, uma vez que apresenta alta sensibilidade a
183 aleloquímicos, em baixas concentrações (Ferreira e Aquila, 2000; Lustosa et al, 2007).

184 A análise dos resultados de EH evidenciou inibição na germinação,
185 crescimento das raízes e altura das plântulas a partir de 5,0 mg/L. No entanto, a inibição
186 total de todo processo fisiológico foi observada a partir de 7,5 mg/L (Figura 1). Nas
187 plântulas remanescentes houve crescimento anormal, com raízes primárias atrofiadas e
188 defeituosas, além de ausência de raiz secundária. No tratamento EEM, nenhuma
189 semente germinou em quaisquer concentrações, indicando que este extrato foi
190 potencialmente tóxico nas sementes de alface.



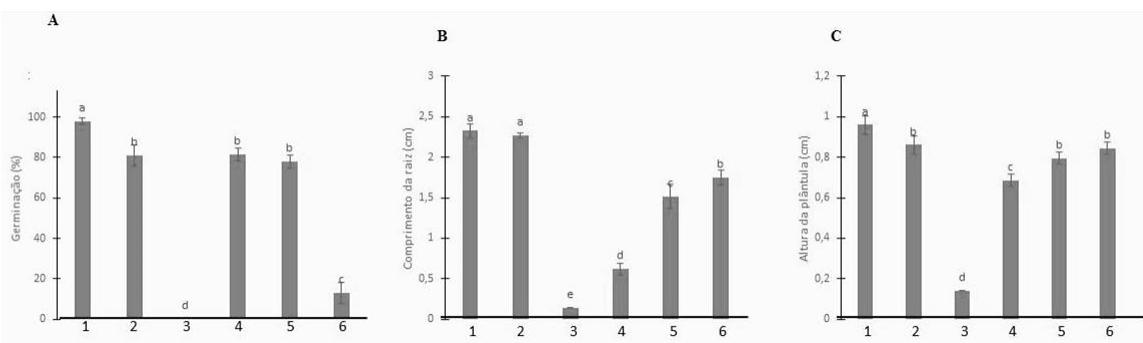
191
 192 Médias de germinação (A), comprimento da raiz (B) e altura das plântulas (C) de alface
 193 submetidas ao EH, nos tratamentos Controle (1), Controle + Tween 20 (2), EH a 2,5
 194 mg/L (3), EH a 5,0 mg/L (4), EH a 7,5 mg/L (5) e EH a 10,0 mg/L (6). Medias seguidas
 195 da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Skot-Knot ($p \leq 0,05$). **Figura 1.**

196 Na literatura, alguns autores têm demonstrado o poder de inibição no
 197 crescimento de algumas espécies, em função dos componentes presentes em extratos
 198 alcoólicos de espécies potencialmente alelopáticas, sendo que o efeito varia em função
 199 da quantidade dos aleloquímicos presente no extrato. Oliveira et al, (2014) avaliaram a
 200 toxicidade da casca de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk sobre a germinação e
 201 crescimento do alface, usando extrato alcoólico, nas concentrações de 2,5% a 15%.
 202 Embora os autores tenham trabalhado com concentrações elevadas, não observaram
 203 alterações na germinação das plântulas, porém verificaram danos no desenvolvimento
 204 da raiz e da parte aérea, associando os efeitos à presença de esteroides e triterpenos,
 205 presentes no extrato. Silva et al, (2010) avaliaram a toxicidade do extrato etanólico de
 206 folhas de angico (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e aroeira (*Astronium*
 207 *graveolens* Jacq) sobre a germinação de couve (*Brassica chinensis* L.) e alface, nas
 208 concentrações de 5, 10 e 20 mg/mL. Os autores verificaram elevada toxidez dos extratos
 209 sobre a germinação do couve e alface em todas as concentrações usadas nos extratos de
 210 ambas espécies, e inferiram que a elevada inibição apresentada com o extrato de aroeira
 211 e angico foi influenciada pela presença de flavonoides, associada as proantocianidinas,

212 além de polifenois, tais como ligninas e taninos, baseando-se em estudos de Monteiro et
213 al, (2005) e Moraes et al, (2015).

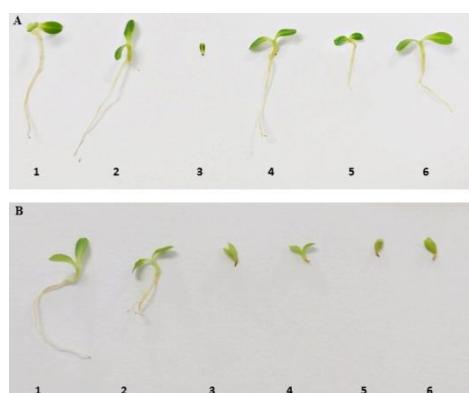
214 **Bioatividade das frações obtidas de EA e EEM sobre plântulas de alface**

215 Oito frações obtidas a partir dos extratos aquoso e alcoólico de *P. divaricatum*
216 (Quadro 1) foram testadas nos bioensaios de germinação e crescimento do alface, em
217 BOD. Verificou-se que a fração clorofórmio (F-EA-C) foi a que apresentou maior
218 inibição sobre germinação, crescimento das raízes e altura das plântulas de alface
219 (Figura 2). Dentre as plântulas remanescentes, o comprimento das raízes e a altura
220 foram severamente afetados quando comparado às outras frações (Figura 3).



221 Médias de germinação (A), comprimento da raiz (B) e altura das plântulas (C) de alface
222 submetidas as frações do extrato aquoso de *P. divaricatum*, a 2,5 mg/mL. Controle (1),
223 Controle+Tween (2), F-EA-C (3), F-EA-AE (4), F-EA-H (5) e F-EA-M(6). Medias
224 seguidas da mesma letra não difere estatisticamente pelo teste Skot-Knot ($p \leq 0,05$)

226 **Figura 2.**

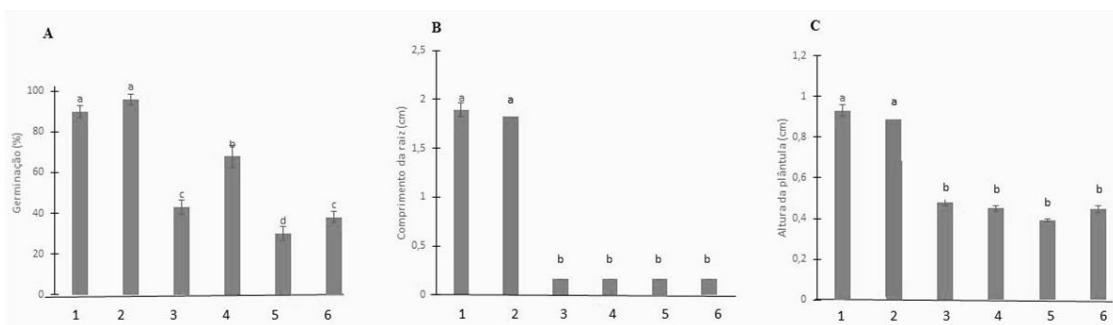


232

233

234 Aspecto das plântulas de alface submetidas a crescimento com frações de extratos EA
235 (A): Controle (1), Controle+ Tween 20 (2), F-EA-C (3), F-EA-AE (4), F-EA-H (5), F-
236 EA-M (6), e EEM (B): Controle (1), Controle+ Tween 20 (2), F-EEM-C (3), F-EEM-
237 AE (4), F-EEM-H (5) e F-EEM-EM (6). **Figura 3.**

238 Com relação ao extrato alcoólico, verificou-se que a germinação das sementes
239 de alface foi afetada por todas as frações, com efeitos maiores para F-EEM-C, F-EEM-
240 H e F-EEM-EM, cujas taxas de germinação foram de 42%, 36% e 40%,
241 respectivamente (Figura 3A). As raízes foram drasticamente reduzidas na presença da
242 fração apresentando crescimento ínfimo, inferior a 0,5 cm (Figura 3B).



243

244 Médias de germinação (A), comprimento da raiz (B) e altura das plântulas (C) de alface
245 submetidas as frações do extrato etanol/metanol de *P. divaricatum*. Controle (1),
246 Controle + Tween 20 (2), EEM-C (3), EEM-AE (4), EEM-H (5), e EEM-EM 10 (6).
247 Medias seguidas da mesma letra não difere estatisticamente pelo teste Skot-Knot ($p \leq$
248 0,05) **Figura 3.**

249 Estudos envolvendo fracionamento de extratos em bioensaios com espécies
250 alelopáticas fornecem informações valiosas para elucidar a identificação dos
251 componentes responsáveis pela inibição de propriedades fisiológicas, e ainda de efeitos
252 sinergísticos ou antagônicos, resultantes da interação entre eles. Matsumoto et al.,

253 (2010) investigaram o potencial alelopático do extrato foliar de uma Annonaceae e
254 verificaram que o extrato alcoólico e suas frações foram tóxicos sobre a germinação de
255 alface, além de outras espécies, como *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla* e
256 *Ipomoea grandifolia*. As classes predominantes dos compostos responsáveis pela
257 inibição foram triterpenos, taninos e flavonoides, que apresentaram efeitos deletérios
258 sobre o crescimento das plantas. Habermann et al., (2015) avaliaram a toxicidade de
259 extratos e frações de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg sobre plântulas de trigo
260 (*Triticum aestivum* L.) e verificaram que as frações acetato etila e hexânica inibiram a
261 elongação dos coleóptilos, inclusive com efeitos fitotóxicos equivalentes ou superiores
262 aos observados pelo herbicida GOAL BR (Dow Agrosciences, EUA), nas mesmas
263 concentrações.

264 ***Identificação de composto nas frações por CCD***

265 Em função da alta taxa de inibição no crescimento das plântulas de alface
266 submetidas a fração clorofórmio do extrato aquoso (Figura 2, F-EA-C), utilizou-se esse
267 tratamento para as análises em CCD. Para as frações do extrato alcoólico, foram
268 utilizadas amostras uma vez que todas as frações surtiram efeitos deletérios sobre o
269 crescimento de alface, especialmente sobre o crescimento da raiz (Figura 4B).

270 A eluição cromatográfica e os cálculos dos referidos valores do fator de retenção
271 (Rf) indicaram a presença de cumarinas e alcaloides, na amostra F-EA-C (Tabela 1) e
272 derivados antracenos, terpenos e fenilpropanoides, em todas as frações do EEM, sendo
273 que em F-EEM-AE e F-EEM-EM foram detectadas a maior quantidade de classes com
274 potencial aleloquímico, incluindo cumarinas e ácidos graxos.

275 Compostos encontrados nas frações dos extratos aquoso e alcoólico de *P. divaricatum*,
276 via cromatografia de camada delgada, em sílica gel. EA- Extrato aquoso e EEM –
277 extrato etanol/metanol. A e B: fração clorofórmio (F-EA-C) mostrando cumarinas

278 simples (A, azul) e alcalóides (B, marron). C a F: fração hexano (F-EEM-H) mostrando
279 ácidos graxos no visível (C, azul) e em UV a 365 nm (D, vermelho), terpenóides (E,
280 violeta), fenilpropanóides (F, marron-amarelado). G-J: fração clorofórmio (F-EEM-C)
281 mostrando ácidos graxos (G), terpenóides (H), fenilpropanóides (I) e cumarinas
282 glicosídeas (J, azul esverdeado) **Figura 5.**

283 As cumarinas, identificadas nesse trabalho nas frações dos extratos aquoso e
284 alcoólico, são compostos fenólicos reportados na literatura como potentes inibidores da
285 germinação e crescimento de alface, *Arabidopsis thaliana* (L.) e de algumas espécies
286 daninhas, como *Amaranthus retroflexus* L. e *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.
287 (Rice, 1984; Willis, 2010; Araniti et al, 2015). Abenavoli et al., (2006) avaliaram os
288 efeitos associados a inibição da germinação de trigo duro (*Triticum turgidum* ssp.
289 Durum Desf.), expondo as sementes a várias concentrações de cumarina. Os autores
290 verificaram que acima de 200 μ M a germinação do trigo foi inibida de forma
291 crescente e justificam que as possíveis causas da inibição foram às alterações nos
292 processos fisiológicos deletérios das plantas, como inibição na captação de água,
293 capacidade de retenção de eletrólitos e de consumo de O₂. Adicionalmente, foram
294 observados danos oxidativos, expressos pelo retardo na reativação de peroxidases e
295 aumento na atividade da superóxido dismutase.

296 Os achados reportados por Abenavoli et al., (2006) fornecem evidências para
297 atestar que a maioria dos efeitos de inibição das plântulas de alface encontrados no
298 presente trabalho foi devida, principalmente, a ação das cumarinas que além dos efeitos
299 fisiológicos reportados, influenciam ainda no bloqueio da mitose, reduz a absorção de
300 água na célula e interferir diretamente na síntese de proteínas.

301 Zobel e Brown, (1995) relatam que as cumarinas têm importante papel na
302 proteção das plantas em seu ambiente natural, podendo influenciar no crescimento de

303 outras espécies devido a capacidade que tem de inibir a mitose de espécies vizinhas,
304 impedindo a germinação das espécies potencialmente concorrentes.

305 Os alcalóides, também identificados nas frações dos extratos EA e EEM, são
306 potencialmente tóxicos às células. Além de funcionar como uma reserva de nitrogênio,
307 atuam como reguladores do crescimento, são produtos de detoxificação de substâncias
308 nocivas geradas pelo metabolismo primário, entre outras funções (Mattocks, 1986). São
309 constituídos por um vasto número de substâncias com grande diversidade estrutural.
310 Trata-se de compostos nitrogenados com potencial para bloquear a mitose de células, tal
311 como as cumarinas, em algumas espécies sensíveis (Souza Filho et al., 2011). Na
312 natureza, são liberados por volatilização, lixiviação da parte aérea ou da matéria em
313 decomposição no solo e também por exsudação das raízes (Alves et al., 2003; Souza
314 Filho et al., 2011; Nebo et al., 2014).

315 Alves et al., (2003) testaram a toxicidade de frações obtidas a partir de extratos
316 de frutos de *Solanum crinitum* Lam. sobre plântulas de alface e verificaram que a
317 solasonina, identificada na fração de alcalóides glicosilados, foi responsável pela
318 elevada inibição do crescimento das plântulas. Nebo et al., (2014) testaram a
319 bioatividade de três alcaloides, obtidos a partir de extratos de 11 espécies pertencentes
320 as famílias Meliaceae e Rutaceae, sobre o crescimento de agrião (*Lepidium sativum* L.),
321 alface, tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e cebola (*Allium cepa* L.) e verificaram
322 que todos foram muito tóxicos contra estas espécies, revelando níveis de toxicidade
323 similares ao herbicida Logran (Syngenta, EUA).

324 Além de cumarinas e alcalóides, outros metabólitos foram encontrados nas
325 amostras das frações obtidas a partir do EEM, alguns deles já reportados na literatura
326 nos processos de defesa de plantas, como terpenos que constituem o maior grupo de
327 metabolitos secundários, formados a partir da condensação de isopreno (C5), por meio

328 da via de acetato-mevalonato (Simões et al., 1994). São classificados de acordo com o
329 número de carbonos na sua estrutura, sendo os monoterpenos (C10), sesquiterpenos
330 (C15) e diterpenos (C20) os mais comumente encontrados (Bakkali et al., 2008).

331 Os terpenos são metabólitos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das
332 plantas. Muitos sesquiterpenos também são voláteis, assim como os monoterpenos, e
333 estão associados na defesa de plantas contra doenças e pragas (Tsanuo et al, 1993; Seo
334 et al., 2008).

335 Fenilpropanoides, ácidos graxos e derivados de antrocenos também foram
336 encontrados nas frações de EEM. Fenilpropanóides são metabolitos secundários
337 pertencentes à classe de compostos fenólicos, formados por um esqueleto carbônico
338 com um anel aromático ligado a uma cadeia de três carbonos. Desempenham funções
339 importantes como no crescimento vegetal, agem em outros diversos processos de defesa
340 vegetal contra microorganismos e insetos. Em plantas superiores os fenilpropanóides
341 atuam na resistência a doenças, ferimentos ocasionados por ataque de patógeno,
342 contaminação por metais pesados e oferecem ainda proteção das plantas contra raios
343 ultravioletas (Barros et al., 2010).

344 Quanto aos ácidos graxos e derivados de antrocenos, não há relatos sobre o
345 papel desses compostos nos processos diretamente ligados com defesa de plantas contra
346 pragas de lavouras, porém Wink, (2003) tece comentários sobre os derivados de
347 antrocenos, como as antraquinonas, que possuem características adaptativas para a
348 planta com função de proteção contra vírus, bactérias, fungos, plantas concorrentes e
349 contra os herbívoros.

350 Os estudos de prospecção de espécies vegetais com potencial pesticida, seguidos
351 da identificação bioquímica de seus bioativos, representam um segmento da área
352 biológica que tem crescido anualmente em várias instituições de pesquisa,

353 especialmente em países de larga biodiversidade, como o Brasil. Tais espécies oferecem
354 a oportunidade de serem usadas como pesticidas biológicos, contribuindo para
355 sustentabilidade dos manejos agrícolas, considerando-se a dificuldade de aquisição e
356 custo dos pesticidas sintéticos, além de maior preservação da segurança ambiental
357 (Albuquerque et al, 2010; Araniti et al., 2015).

358 A rica biodiversidade da flora amazônica tem sido reportada em vários trabalhos
359 na literatura, focalizando em propriedades intrínsecas, de largo aproveitamento em
360 vários segmentos industriais (Silva et al, 2014; Berto et al, 2015; Torma et al, 2017). A
361 família *Piper* é largamente reportada, especialmente devido à riqueza dos componentes
362 dos óleos essenciais, de alto efeito fungicida, incluindo *P. divaricatum*. Os achados
363 encontrados nesse trabalho confirmam a vasta quantidade de compostos fenólicos
364 presentes em vários tecidos dessa espécie, cujas propriedades pesticidas a habilitam
365 como forte candidata para uso em defesa de plantas, contra fungos e ervas daninha
366 (Lustosa et al, 2007; Silva et al, 2010; Rafalski, 2017). Considerando-se a
367 disponibilidade de trabalhos disponíveis com essa espécie na literatura, é provável que
368 os relatos sobre os metabolitos encontrados nessa espécie como potencial aleloquímico
369 esteja sendo reportado pela primeira vez.

370 **Conclusão**

371 *P. divaricatum* é uma espécie detentora de vários metabolitos secundários
372 responsivos para defesa de plantas contra pragas de lavouras, especialmente
373 fitopatógenos. Nesse trabalho foi constatada as propriedades adicionais, como a
374 presença de vários aleloquímicos presentes nos extratos de folhas, a maioria reportada
375 como potentes inibidores de germinação e crescimento de plantas, como as cumarinas e
376 alcaloides. Essa espécie precisa ser mais explorada em ensaios biológicos, de modo a

377 atestar a ação e formas de uso contra ervas daninhas de lavouras, visando posterior
378 recomendação como bioherbicida.

379 **Agradecimentos**

380 Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da UFPB, a Embrapa
381 Algodão, ao Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais (LEPRON-UFPA) e ao
382 Laboratório Multiuso de Biologia do Curso de Ciências Biológicas, da UNIFESSPA, e
383 a Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

384 **Referências**

- 385 ABENAVOLI, M.; CACCO, G.; SORGONÁ, A.; MARABOTTINI, R.; PAOLACCI,
386 A; CIAFFI, M; BADIAMI, M. The inhibitory effects of coumarin on the germination of
387 durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum, cv. Simeto) seeds. **Journal of Chemical**
388 **Ecology**, v. 32, p.489-506, 2006.
- 389 ALBUQUERQUE, M.B.; SANTOS, R.C.; LIMA, L.M.; MELO-FILHO, P.A.;
390 NOGUEIRA, R.J.M.C.; CÂMARA, C.A.G.; REZENDE, de R. A. Allelopathy, an
391 alternative tool to improve cropping systems. a review. **Agronomy For Sustainable**
392 **Development**, v.31, p.379-395, 2010.
- 393 ALVES, C.C.F.A.; ALVES, J.M.; SILVA, T.M.S.; CARVALHO, M.G.; NETO, J. J.
394 Atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e**
395 **Ambiente**, v.10, p.93 – 97, 2003.
- 396 ARANITI, F.; MANCUSO, R.; LUPINI, A.; GIOFRÈ, S.V.; SUNSERI, F.;
397 GABRIELE, B.; ABENAVOLI, M.R. Phytotoxic potential and biological activity of
398 three synthetic coumarin derivatives as new natural-like herbicides. **Molecules**, v.20,
399 p.17883-17902, 2015.
- 400 BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects
401 of essential oils. **Revista Food and Chemical Toxicology**. v.46, p.446–475, 2008.

- 402 BALDOQUI, D.C.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M. Flavonas, lignanas e terpeno de
403 *Piper umbellata* (Piperaceae). **Química Nova.** v.32, p.1107-1109, 2009.
- 404 BARROS, F.C.; SAGATA, E.; CASTRO FERREIRA, L.C.; JULIATTI, F.C. Indução
405 de resistência em plantas à fitopatógenos: Induction of resistance in plants against
406 phytopathogens. **Bioscience Journal**, v.26, p.1-9, 2010.
- 407 BERNUCI, K.; IWANAGA, C.C.; FERNADEZ, A.C.M.M.; LORENZETTI, F.B.;
408 TORRES, S.E.C.; FAIÓES, V.D.S.; Cardoso, RF. Evaluation of chemical composition
409 and antileishmanial and antituberculosis activities of essential oils of *Piper*
410 species, **Molecules**, v.12, p.1-12, 2016.
- 411 BERTO, A.; RIBEIRO, A. B.; SENTANDREU, E.; SOUZA, N. E.; MERCADANTE,
412 A.Z.; CHISTÉ, R. C.; FERNANDES, E. The seed of the amazonian fruit couepia
413 bracteosa exhibits higher scavenging capacity against ROS and RNS than its shell and
414 pulp extracts. **Food and Function**, v.6, p.3081-3090, 2015.
- 415 CANDIDO, L.P.; VARELA, R.M.; TORRES, A.; MOLINILLO, J.M.; GUALTIERI,
416 S.C.; MACÍAS, F. A. Evaluation of the allelopathic potential of leaf, stem, and root
417 extracts of *Ocotea pulchella* Nees et Mart. **Chemistry Biodiversity**, v.13. p.1058-1067,
418 2016.
- 419 FREIRE E.C.; VIDAL NETO F.C. Melhoramento genético do algodoeiro. IN: VIDAL
420 NETO FC, CAVALCANTI JJV. (Ed.) **Melhoramento Genético de Plantas no**
421 **Nordeste** - Brasília, DF: Embrapa, 2013. 49-83p.
- 422 FRIEDJUNG A.Y.; CHOUDHARY S.P.; DUDAI, N.; RACHMILEVITCH, S.
423 Physiological conjunction of allelochemicals and desert plants. **Plos One**, v.8, p.1-14.
424 2013.

- 425 HABERMANN, E.; PEREIRA, V.C.; IMATOMI, M.; PONTES, F.C.; GUALTIERI,
426 S.C.J. Fitotoxicidade e fracionamento biodirigido dos extratos de cascas de
427 *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg (Myrtaceae). **Biotemas**, v.28, p.37-44, 2015.
- 428 HE, H.B.; WANG, H.B.; FANG, C.X.; LIN, Z.H.; YU, Z. M.; LIN W.X. Separation of
429 allelopathy from resource competition using rice/barnyardgrass mixed-cultures. **Plos
430 One**, v.7, p.1-6, 2012.
- 431 JARAMILLO, M.A.; CALLEJAS, R. Current perspectives on the classification and
432 phylogenetics of the genus *Pipe*, In: dyer, la, palmer, A. (Eds.), *Piper: a model genus for*
433 *studies of phytochemistry, Ecology and Evolution*, v.1, p.179–198, 2004.
- 434 LUSTOSA, F.L.F.; OLIVEIRA, S.C.C.; ROMEIRO, L.A. Efeito alelopático de extrato
435 aquoso de *Piper aduncum* L. e *Piper tectoniifolium* Kunth na germinação e crescimento
436 de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p.849-851, 2007.
- 437 MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling
438 emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.
- 439 MATSUMOTO, R.S.; RIBEIRO, J.P.N.; TAKAO, L.K.; LIMA, M.I.S. Potencial
440 alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica
441 Brasilica**, v.24, p.631-635, 2010.
- 442 MATTOCKS, A.R. *Chemistry and Toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids*. Front Cover,
443 1986. 393p. Academic Press.
- 444 MONTEIRO, J.M.; NETO, E.M.F.L.; AMORIM, E.L.C.; STRATTMANN, R.R;
445 ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE, U.P. Teor de taninos em três espécies medicinais
446 arbóreas simpátricas da caatinga. **Revista Árvore**, v.29, p.999-1005, 2005.
- 447 MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A.; QUEIROZ, C.R.A.A.; PILÓ-VELOSO, D.;
448 DRUMOND, M.G. Studies on Polyphenols and Lignin of *Astronium urundeava* Wood.
449 **Journal of the brazilian chemical society**, v.10, p.447-452, 1999.

- 450 NEBO, L.; VARELA, R.M.; MOLINILLO J. M. G.; SAMPAIO O. M.; SEVERINO, V.
451 G. P.; CAZAL, C. M.; FERNANDES, F. G.; FERNANDES, J. B.; MACIAS; F. A..
452 Phytotoxicity of alkaloids, coumarins and flavonoids isolated from 11 species belonging
453 to the Rutaceae and Meliaceae families. **Phytochemistry Letters**, v.8, p.226–232,
454 2014.
- 455 OLIVEIRA, A.K.; PEREIRA K.C.; MULLER J.A.; MATIAS R. Análise fitoquímica e
456 potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de
457 alface. **Horticultura Brasileira**, v.7, p.458-465, 2014.
- 458 RAFALSKI, C. **Bioatividade de Piper sobre crescimento de ervas daninhas,**
459 **baseada em análise de crescimento e enzimáticas.** 2017. 52 f. Dissertação (Mestrado
460 em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- 461 RICE, E. L. **Allelopathy.** New York: Academic Press, 1984. 422p.
- 462 SEO, S.; JU, S.; CHUNG, H.; LEE, D.; PARK, S. Acute effects of glucagon-like
463 peptide-1 on hypothalamic neuropeptide and AMP activated kinase expression in fasted
464 rats. **Endocrine Journal**, v.55, p.867–874, 2008.
- 465 SHAH, N.A.; IQBAL, J.; ULLAH, A.; YANG, G.; YOUSAF, M.; FAHAD S.;
466 TANVEER, M.; HASSAN, W.; TUNG, S.A.; WANG, L.; W.U.Y. Allelopathic
467 potential of oil seed crops in production of crops: a review. **Environmental Science**
468 **And Pollution Research**, v.12, p.1-14, 2016.
- 469 SILVA, J.K.R.; ANDRADE, E.H.; GUIMARAES, E.F.; MAIA, J.G. Essential oil
470 composition, antioxidant capacity and antifungal activity of *Piper divaricatum*. **Natural**
471 **Product Communications**, v.5, p.477-480, 2010.
- 472 SILVA, J.K.R.; SILVA, J.R.A.; NASCIMENTO, S.B.; LUZ, F.M.; MEIRELES, E.N.;
473 ALVES, C.N.; RAMOS, R.A.; Maia, J. G. S. Antifungal activity and computational

474 study of constituents from *Piper divaricatum* essential oil against *Fusarium* infection in
475 black pepper. **Molecules**, v.19, p.17926-17942, 2014.

476 SILVA, R.M.G.; SARAIVA, T.S.; SILVA R.B.; GONÇALVES, L.A.; SILVA, L.P.
477 Potencial alelopático de extrato etanólico de *Anadenanthera macrocarpa* e *Astronium*
478 *graveolens*. **Biosciences Journal**, v.26, p. 23-637, 2010.

479 SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN,
480 J.R.1994, p.173. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do sul**, Editora da
481 Universidade UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

482 SOUZA FILHO, A.P.S.; TREZZI, M.M.; IOUE, M. H. Sementes como fonte
483 alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**, v.29,
484 p.709-716, 2011.

485 TORMA, P.D.C.M.R.; BRASIL, A.V.S.; CARVALHO, A.V.; JABLONSKI, A.;
486 RABELO, T.K.; MOREIRA, J.C.F.; OLIVEIRA, R.A. Hydroethanolic extracts from
487 different genotypes of açaí (*Euterpe oleracea*) presented antioxidant potential and
488 protected human neuron-like cells (SH-SY5Y). **Food Chemistry**, v.222, p.94-104,
489 2017.

490 TSANUO, M.K.; HASSANALI, A.; JONDIKO, I. J. O.; TORTO, B. Mutangin, a
491 dihydroagarofuranoid sesquiterpene insect antifeedant from *Elaeodendron buchananii*.
492 **Phytochemistry**, v.34, p.665-667, 1993.

493 WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**,
494 1996. p.384. Springer Science e Business Media.

495 WANKE, S.; SAMAIN, M.S.; VANDERSCHAEVE, L.; MATHIEU, G.;
496 GOETGHEBEUR, P.; NEINHUIS, C. phylogeny of the genus *Peperomia* (Piperaceae)
497 inferred from the t Mrnk/matk region (cpDNA). **Plant biology**, v.8, p.93-102, 2006.

498 WILLIS, R.J. **The history of allelopathy**, 2010. 330 p. New York: Springer Verlag.

- 499 WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular
500 phylogenetic perspective. **Phytichemistry**, v.64, p.3-19, 2003.
- 501 ZOBEL, A.M.; BROWN, S.A. Coumarins in the interactions between the plant and its
502 environment. **Allelopathy journal**, v.2, p.9–20, 1995.

503 Classe de compostos presente nas frações do EA e EEM identificadas via CCD. **Tabela**

504 **1**

Frações	DA	TT	AG	CS	F	FP	A
EA-C	-	-	-	+	-	-	+
EEM-C	+	+	+	-	-	+	-
EEM-AE	+	+	+	-	-	+	-
EEM-H	+	+	+	-	-	+	-
EEM-EM	+	+	+	-	-	+	+

505

506 DA- derivados antracenos, TT- terpenos/triperpenos, AG- ácidos graxos, CS-
507 cumarinas, F- flavonoides, FP- fenilpropanoides, A- alcaloides. +: presença, -: ausência
508 de compostos químicos.