

ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS EXTRATOS DE *Piper alatabaccum* TREL & YUNCKER (PIPERACEAE) EM MUDAS DE ALFACE (*Lactuca sativa*)

Amanda Feitosa Cidade^{1,3}, Dhessi Rodrigues², Emelly B. S. Santos², Elza Paula Silva Rocha¹, Ernando Balbinot⁴, Gabriela C. Oliveira², Jamile Macedo Mariano¹, Jean Carlos Vuolo Machado⁴, João Vitor Souza de Oliveira², Jonas Soares de Mesquita², Maria Vitória Dunice Pereira², Minelly Azevedo da Silva¹, Nilton Fagner de Araújo¹ e Rebeca da Costa Rodrigues².

¹ Pesquisadores do Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO

² Estudantes de IC do Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO

³ Orientadora - Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO

⁴ Pesquisadores do Laboratório de Sementes do Instituto Federal de Rondônia – Colorado do Oeste/RO

Resumo:

As plantas possuem uma grande variedade de metabólitos, oriundos dos metabolismos primário e secundário. Os metabólitos presentes nas plantas podem ser liberados ao meio ambiente pela lixiviação dos compostos, causada pela ação da água, pela volatilização dos produtos presente na parte aérea, pela exsudação das raízes e pela decomposição da matéria morta. Esses metabólitos são originários de duas rotas: a rota do acetato mevalonato (terpenos, esteroides, ácidos orgânicos solúveis em água, cetonas, quinonas complexas e outros) e a rota do ácido chiquímico (fenóis simples, cumarinas, alcaloides, flavonoides, purinas, derivados de quinonas e taninos hidrolisáveis e condensados). Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito alelopático dos extratos da folha, fruto e raiz da espécie *Piper alatabaccum* sobre a germinação e desenvolvimento inicial da alface (*Lactuca sativa*). Pois, dentre as inúmeras plantas, o gênero *Piper* tem espécies que são usadas na medicina popular.

Palavras-chave: *Piper alatabaccum*; metabólicos secundários; germinação.

Apoio financeiro: Instituto Federal de Rondônia – IFRO; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Introdução:

A alelopatia é considerada importante para os fundamentos evolutivos e desenvolvimento de uma planta no meio em que vive, já que há uma grande variedade de metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são responsáveis pela manutenção fundamental da sobrevivência e do desenvolvimento da planta, que são: os carboidratos, lipídios e aminoácidos (Taiz & Zeiger, 2013). No metabolismo secundário estão presentes compostos químicos desenvolvidos pela planta que auxiliam na sua sobrevivência e evolução, sendo as substâncias nele produzidas são específicas de cada espécie, enquanto que os compostos produzidos pelo metabolismo primário são comuns entre todas as espécies do reino vegetal (Almeida *et al.*, 2008).

Dentre as inúmeras plantas, o gênero *Piper* se destaca por ser utilizadas pela medicina popular, principalmente devido a presença de composto oleíferos em suas estruturas (Gogosz *et al.*, 2012; Guimarães *et al.*, 2015). Na literatura, podem ser encontrados diversos trabalhos com atividades biológicas deste gênero, como inseticida e, inclusive alelopática, (Bastos & Albuquerque, 2004; Murillo *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2015; Souza Filho *et al.*, 2009). Uma destas espécies *Piper alatabaccum*, possui estudos que relatam as seguintes ações biológicas: Atividade larvicida (*Anopheles darlingi*) com os extratos e substâncias isoladas (Piplartina, piplartina-di-hidropiplartina e 5,5',7-trimetoxi-3',4'-metilenodioxiflavona); Atividade inseticida (contra *Hypothenemus hampei*) do extrato acetônico; avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico das folhas, fração de acetato de etila das folhas, extrato etanólico das raízes, óleo essencial das folhas, as substâncias isoladas das folhas: piplartina, 5,5',7-trimetoxi-3',4'-metilenodioxiflavona e dilapiol (componente majoritário do óleo essencial) sobre *Aedes aegypti*; atividade antifúngica do óleo essencial das folhas (Trindade *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2013; Santana, 2012; Nascimento, 2011). Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar a atividade alelopática dos extratos bruto de *Piper alatabaccum* Trel e Yuncker (Piperaceae) em mudas de alface (*Lactuca sativa*) por meio de bioensaios de germinação de sementes e crescimento inicial.

Metodologia:

O material vegetal foi coletado e encaminhado ao laboratório de Química Orgânica do IFRO – Campus Colorado do Oeste, para o preparo do extrato aquoso das folhas, frutos e raízes e realização da Atividade Alelopática. O mesmo foi higienizado com auxílio do papel toalha, posteriormente foram picados e pesados (60 g cada). O material pesado foi colocado em liquidificador e acrescido 120 ml de água destilada, e triturados por 3 minutos, para obtenção do extrato com concentração de 500 g/L ou relação de peso/volume de 50%. O material triturado foi peneirado e filtrado para remoção de partículas grandes. A obtenção da concentração de 400 g/L foi com a retirada de 80 ml de extrato na concentração de 500 g/L e diluído para 100 ml com água destilada em balão volumétrico. Para a concentração de 300 g/L foram diluídos 75 ml de extrato da concentração de 400 g/L para 100 ml com água destilada em balão volumétrico. Os bioensaios foram realizados em placa de Petri, de 9 cm de diâmetro, com duas folhas de papel filtro como substrato, ambos previamente autoclavados. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em

esquema fatorial de 4x3 (4 concentrações dos extratos e 3 partes da planta), totalizando-se assim 12 tratamentos. Cada um foi composto por 4 repetições de 50 sementes de alface. Dispostas as sementes sobre o papel filtro, aplicou-se 3 mL dos extratos e da água destilada no controle e encaminhado para Incubadora BOD da Solab modelo SL – 224/364, a 20°C constante e o fornecimento de luz por 12h/dia, conforme especificado na RAS (Brasil, 2009).

As avaliações realizadas foram: Índice de Velocidade de Germinação (IVG); Porcentagem de Germinação: 1ª contagem (4 dias após início do teste) e última contagem; mensuração do comprimento de planta e Matéria Seca de Plântula (MSP). O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi realizado pela contagem diária de plantas que germinarão, considerando apenas as que apresentavam radícula maior que 1mm de comprimento. Para o cálculo do índice utilizou-se a fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + (Gn/Nn), \text{ em que:}$$

G1, G2, G3, Gn = número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem;

N1, N2, N3, Nn = número de dias da semente à primeira, segunda, terceira e última contagem.

A Porcentagem de Germinação foi obtida pela contagem de plântulas normais aos 4 e 7 dias após sementeira. As plântulas normais foram consideradas apenas aquelas que apresentavam as estruturas normais, hipocótilo, radícula e cotilédone, e que mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento (Brasil, 2009). A Mensuração de Comprimento de Plântulas, em milímetros, foi realizada por interpretação de imagens utilizando o software ImageJ. A quantidade de Matéria Seca de plântula foi obtida pela média do peso seco total da parcela pelo número de plântulas normais existente na parcela. O material foi seco em estufa de circulação força de ar, à temperatura de 60°C por 48 horas.

Resultados e Discussão:

O IVG das sementes de alface variou em função da parte da planta usada e concentração dos extratos. Os resultados apresentam uma relação inversa entre a concentração aplicada do extrato e o IVG das sementes de alface, sendo as reduções mais intensas observadas no extrato da folha de *P. alatabaccum*, principalmente nas concentrações de 400 e 500 g/L⁻¹ (Tabela 1).

Tabela 1 - Teste de Tukey para comparação das médias da interação das fontes de extrato com a concentração do extrato aplicado, no Índice de Velocidade de Germinação (IVG).

Parte da planta	Concentração (g/L ⁻¹)			
	0	300	400	500
Raiz	22,5225 aA	19,3950 Ab	16,9775 aB	18,8725 aB
Fruto	21,0200 aA	18,5200 aAB	15,8350 aBC	14,4575 bC
Folha	21,4150 aA	12,7925 bB	8,8525 bC	5,2300 cD
DMS da Coluna	2,4861		DMS da linha	2,7515

Nota: As letras minúsculas referem-se à comparação na coluna e as letras maiúsculas a comparação nas linhas. As médias seguidas com a mesma letra não se diferenciaram ao nível de 5% de probabilidade.

Na primeira contagem dos tratamentos observou-se uma reduzida porcentagem de plântulas normais presentes. Isso poderia estar relacionado ao IVG, pois os tratamentos que apresentaram menor IVG tiveram o desenvolvimento mais lento e assim levaram mais tempo para que as plântulas pudessem ser consideradas normais.

De todos os tratamentos, o extrato bruto da raiz de *P. alatabaccum* na concentração de 300 g L⁻¹ foi o único que apresentou uma porcentagem de germinação estatisticamente semelhante à testemunha, sendo que nos demais tratamentos, ora houve uma porcentagem reduzida de plântulas normais, ora nenhuma plântula normal (Tabela 2).

Tabela 2 - Teste de Tukey para comparação das médias da interação das fontes de extrato com a concentração do extrato aplicado na Primeira Contagem (%).

Parte da planta	Concentração (g/L ⁻¹)			
	0	300	400	500
Raiz	73,00 aA	69,00 aA	17,50 aB	2,50 aC
Fruto	72,50 aA	6,50 bB	5,00 bB	0 aB
Folha	70,50 aA	0 bB	0 bB	0 aB
DMS da Coluna	10,27		DMS da linha	11,32

As letras minúsculas referem-se à comparação na coluna e as letras maiúsculas a comparação nas linhas. As médias seguidas com a mesma letra não se diferenciaram ao nível de 5% de probabilidade.

Na contagem final houve uma evolução na porcentagem de plântulas normais em todos os tratamentos. O extrato da raiz deixou de ter uma diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de 300 e 400 g/L⁻¹, devido à evolução das plântulas anormais no decorrer dos dias. As concentrações de 300, 400 e 500 g/L⁻¹ também não diferiram entre si, ou seja, o efeito alelopático do extrato da raiz é mais eficaz na

concentração de 300, 400 e 500 g/L⁻¹.

Para o extrato bruto do fruto, foram observados efeitos alelopáticos nas concentrações de 400 e 500 g/L⁻¹, enquanto que o extrato da folha apresentou eficácia em todas as concentrações (Tabela 3).

Tabela 3 - Teste de Tukey para comparação das médias da interação das fontes de extrato com a concentração do extrato aplicado na Contagem Final (G%).

Parte da planta	Concentração (g/L-1)			
	0	300	400	500
Raiz	75,50 aA	72,50 aAB	64,50 aAB	54,00 aB
Fruto	74,00 aA	68,00 aA	48,00 aB	47,50 aB
Folha	77,00 aA	37,00 bB	9,50 bC	0 bC
DMS da Coluna	17,51		DMS da linha	19,30

Nota: As letras minúsculas referem-se à comparação na coluna e as letras maiúsculas a comparação nas linhas. As médias seguidas com a mesma letra não se diferenciaram ao nível de 5% de probabilidade.

Comparando o IVG da primeira contagem e da contagem final observa-se uma evolução das plântulas com o decorrer do tempo em alguns tratamentos. As menores concentrações tiveram uma menor absorção destes compostos pelas plântulas de alface, pois estas talvez passaram a ser metabolizadas com o desenvolvimento das plântulas, uma vez que já é bem conhecida a variação ontogenética de metabólitos secundários em organismos vegetais (Moore *et al.*, 2013), de modo que, houve uma diminuição no efeito fitotóxico. É possível que os compostos químicos tenham sido perdidos por degradação ou por volatilização. Nas concentrações maiores houve uma maior absorção dos compostos em um curto intervalo de tempo quando comparado com a menor concentração.

O comprimento médio das plântulas de alface diferiu entre os tratamentos avaliados. O tratamento com extrato da folha de *P. alatabaccum* apresentou maior redução no crescimento de plântula, seguido do extrato da raiz. O crescimento das plântulas de alface, por outro lado, teve menor influência quando estas foram submetidas ao extrato do fruto. No entanto, houve uma significativa diferença estatística em relação à testemunha (Tabela 4).

Tabela 4 - Teste de Tukey para comparação das médias da interação das fontes de extrato com a concentração do extrato aplicado no Comprimento Médio Total de Plântula (CMP).

Parte da planta	Concentração (g/L-1)			
	0	300	400	500
Raiz	2,9484 bA	0,9095 bB	0,5279 bB	0,5018 bB
Fruto	3,0963 abA	1,7321 aB	1,3097 aBC	0,9812 aC
Folha	3,4216 aA	0,8589 bB	0,4176 bC	0 cC
DMS da Coluna	0,3843		DMS da linha	0,4237

As letras minúsculas referem-se à comparação na coluna e as letras maiúsculas a comparação nas linhas. As médias seguidas com a mesma letra não se diferenciaram ao nível de 5% de probabilidade.

A diferença entre as testemunhas está relacionada à diferença do vigor das sementes selecionadas em cada tratamento, pois cada semente apresenta uma quantidade de reserva diferente. Com o aumento da concentração do extrato houve uma diminuição no comprimento das plântulas de alface. No entanto, o extrato da raiz não apresentou diferença estatisticamente significativa. Para o extrato do fruto houve diferença nas concentrações de 300 e 500 g/L⁻¹ e a concentração de 400 g/L⁻¹ não diferiu muito da de 300 e da de 500 g/L⁻¹ apresentando-se estatisticamente semelhantes.

O extrato bruto das raízes de *P. alatabaccum* teve uma menor influência na fase inicial da germinação. A provável explicação é a de que os aleloquímicos apresentam-se em menor concentração nos tecidos das raízes, devido a sua constante liberação ao meio (Weston; Ryan, Watt, 2012). O efeito do fruto já foi moderadamente superior ao da raiz, indicando que esta parte da planta apresenta certa quantidade destes compostos para poder eliminar ou controlar a germinação de outras plântulas que venham a germinar próximos às suas sementes. Os extratos das folhas apresentaram o maior efeito alelopático em relação aos demais, e desta forma, é provável que os aleloquímicos estivessem presentes em maior concentração nos tecidos deste órgão.

Estes resultados podem estar relacionados ao período de coleta do material, ocorrido ao final do período de frutificação e início do período seco do ano (Pavarini *et al.*, 2012). A influência do extrato aquoso das folhas de *Piper mikianium* na germinação e crescimento inicial de sementes de rabanete corroboram com os dados aqui apresentados, porém a massa seca ficou inalterada (Borella *et al.*, 2012). No estudo realizado com o óleo essencial de *Piper hispidinervium*, também foi possível observar um aumento na taxa de inibição de germinação, no comprimento de radícula, hipocótilo de malícia e mata pasto à medida que a concentração do óleo aumentava (Souza Filho *et al.*, 2009).

Conclusões:

Dentre as partes da planta utilizadas na obtenção dos extratos em diferentes concentrações, as folhas são mais recomendadas, pois apresentaram maior atividade alelopática na maior parte dos ensaios. Há necessidade de estudos mais aprofundados para determinar qual ou quais compostos químicos presentes na espécie poderia ser responsável por tal atividade.

Referências bibliográficas

- ALMEIDA, G. D. de; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237–4247, 2008.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do Óleo de *Piper aduncum* no Controle em Pós-Colheita de *Colletotricum musae* em *Banana*. **Fitopatol. Bras.**, v. 29, n. 5, p. 555–557, 2004
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de semente**, v. Brasília, n. 1, p. 398, 2009.
- FILHO, A. P. da S.; VASCONCELOS, M. A. M. de; ZOGHBI, M. das G.; BICHARA; CUNHS, R. L. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 389–396, 2009
- GOGOSZ, A. M.; BOEGER, M. R. T.; NEGRELLE, R. R. B.; BERGO, C. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero *Piper* (Piperaceae). **Rodriguésia**, v. 63, n. 2, p. 405– 417, 2012.
- GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E.S.; QUEIROZ, G.A. *Piperaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB190>>. Acesso em: 18 Nov. 2015.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177. 1962
- MOORE, B. D. et al. Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. *New Phytologist*, v. 201, n. 3, p. 733-750, 2014.
- MURILLO, M. C. Á.; SUAREZ, L. E. C.; SALAMANCA, J. A. C. Actividad Insecticida sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) de los Compuestos Aislados de la Parte Aérea de *Piper septuplinervium* (Miq.) C. DC. y las Inflorescencias de *Piper subtomentosum* Trel. & Yunck. (Piperaceae). **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 442–446, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000300009&lng=en&nrm=iso&tlng=es>. Acesso em: 25 ago. 2015.
- PAVARINI, D. P. et al. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. *Animal Feed Science and Technology*, v. 176, n. 1, p. 5-16, 2012.
- Santana, H. T. (2012) Estudo fitoquímico de *Piper alatabaccum* Trel & Yunck, 1950 e avaliação da atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: culicidae) em condições de campo simulado. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Rondônia. Disponível em: [http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/2807_estudo_fitoquimico_de_piper_alatabaccum_\(hilamani_santana_&_valdir_alves_facundo\).pdf](http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/2807_estudo_fitoquimico_de_piper_alatabaccum_(hilamani_santana_&_valdir_alves_facundo).pdf). Acesso realizado em 09 de novembro de 2017, às 22h32min
- SANTOS, F. P.; ALVES, H. da S.; LIMA, E. de O.; CHAVES, M. C. de O. Flavonoides de *Piper glandulosissimum* Yuncker (Piperaceae). **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 172–177, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422015000200172&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 8 jun. 2015
- SILVA, J. E. N. da; MELHORANÇA FILHO, A. L.; ARAÚJO, M. L. de; SILVA, R. G. P. de O. e. Efeito alelopático de *Piper hispidinervium* sobre desenvolvimento inicial de milho (*Zea mays*). **Revista Agrarian**, v. 6, n. 20, p. 1–7, 2013.
- SOUZA FILHO, A. P. da S.; VASCONCELOS, M. A. M. de; ZOGHBI, M. das G.; BICHARA; CUNHS, R. L. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 389–396, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p. TAVEIRA, L. K. P. D.; SILVA, M. A. P. da; LOIOLA, M. I. B. Allelopathy in five species of *Erithroxylum*. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 325-331, 2013.
- TRINDADE, F. T., STABELI, R. G., FACUNDO, V. A., CARDOSO, C. T., SILVA, M. A. D., GIL, L. H., & SILVA-JARDIM, I.. Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of *Piper alatabaccum* branches and *P. tuberculatum* leaves and compounds isolated against *Anopheles darlingi*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(5), 979-984, 2012
- WESTON, L.A.; MATHESIU, U. Root Exudation: The Role of Secondary Metabolites, Their Localisation in Roots and Transport into the Rhizosphere. In: Morte A., Varma A. (eds) *Root Engineering*. Soil Biology, vol 40. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 221-247, 2014.