



FITOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE *Piper amalago* EM BIOENSAIO VEGETAL

PHITOTOXICITY OF THE AQUOSOUS EXTRACT OF PIPER AMALAGO IN PLANT BIOASSAY

***Thayllon de Assis Alves*¹, *Thammyres de Assis Alves*¹, *Mitsue Ito*¹, *Vitor Vargas Schwa*²,
*Milene Miranda Praça Fontes*¹.**

1 Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, thayllonalves@gmail.com, thammyresalves@gmail.com, mitsue.ito@gmail.com, vitor.schwan@hotmail.com, milenemiranda@yahoo.com.br

Apresentado na 30ª Semana Agronômica do CCAE/UFES - SEAGRO 2019

16 à 20 de Setembro de 2019, Alegre - ES, Brasil

RESUMO - Para manutenção da segurança alimentar o uso de agrotóxicos tem aumentado a cada ano em todo o mundo, sendo o Brasil o seu maior consumidor desde 2009. Uma forma de amenizar o uso dos agrotóxicos é substituí-los por compostos naturais, encontrados em plantas com propriedades alelopáticas. A *P. amalago* apresenta propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante e calmante. Em razão de sua constituição química, essa espécie é indicada para estudos de alelopatia. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático do extrato aquoso de *P. amalago* através de bioensaios com *Lactuca sativa*. Para isso, foram coletadas folhas de *P. amalago*, que foram liofilizadas e o extrato preparado nas concentrações de 100mg/mL, 50mg/mL, 25mg/mL e 12,5mg/mL. Posteriormente foram realizadas as análises de fitotoxicidade. Os resultados obtidos mostraram inibição de todas as variáveis fitóticas. Tais resultados permitem concluir que o extrato testado apresentou efeito tóxico ao desenvolvimento inicial de *L. sativa*, sendo um potencial bioherbicida.

PALAVRAS-CHAVE: alelopatia, bioensaio vegetal, bioherbicida.

KEYWORDS: allelopathy, plant bioassay, bioherbicide.

SEÇÃO: Biotecnologia e melhoramento de plantas



INTRODUÇÃO

Uma quantidade considerável dos compostos que estão na fórmula dos agrotóxicos pode promover danos irreversíveis aos organismos. Em março de 2015, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) publicou que o herbicida glifosato, por exemplo, é um provável agente carcinógeno. Entretanto, a grande preocupação se dá pelo fato, de que, a utilização de agrotóxicos vem aumentando consideravelmente no mundo, sendo o Brasil seu maior consumidor desde 2009 (INCA, 2015). Assim, há a necessidade de pesquisar alternativas para a diminuição do uso de agrotóxicos nas lavouras e plantações, mantendo a produtividade.

Nesse cenário, a aplicação de compostos naturais extraídos de plantas com propriedades medicinais ou alelopáticas, vem ganhando cada vez mais espaço no mercado consumidor por possuir um número reduzido de efeitos colaterais e contraindicações em relação à saúde humana, quando comparados com moléculas sintéticas (BANDEIRA et al., 2011).

A *P. amalago* é uma espécie do gênero *Piper* e apresenta distribuição do México ao Brasil (PARMAR et al., 1997; BEZERRA et al., 2008; SANTOS et al., 2015). Estudos farmacológicos realizados demonstraram que essa espécie possui propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante e calmante (SANTOS et al., 2015; MULLALLY et al., 2016). Segundo Alvarenga et al (2015), o que determina a propriedade medicinal de uma planta são os metabólitos secundários, também responsáveis pela ocorrência de outras interações biológicas.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial alelopático do extrato aquoso foliar de *P. amalago* através de testes realizados com o modelo vegetal *L. sativa*, a partir de avaliações de fitotoxicidade do extrato aquoso foliar de *P. amalago*.

METODOLOGIA

Para o preparo das amostras, foram coletadas folhas adultas de diferentes indivíduos de *P. amalago*, localizados no Parque Estadual de Mata das Flores, no município de Castelo – ES. Estas folhas foram submetidas à liofilização por 72h. Para preparo do extrato aquoso foram pesados 30g de folhas trituradas e colocadas em 300mL de água destilada aquecida a 100°C. Após 10 minutos de descanso obteve-se o primeiro tratamento utilizado, 100mg/mL, feito através da filtragem do extrato que foi aquecido. Os outros três tratamentos (50mg/mL, 25 mg/mL e 12,5 mg/mL) foram obtidos a partir da diluição do extrato mais concentrado (ALMEIDA et al., 2006; PRICHOA et al., 2013).

A germinação foi realizada em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com papel filtro fino e regadas com os tratamentos. Foram utilizados as quatro concentrações e o controle negativo supracitadas. As placas foram lacradas com papel filme e acondicionadas a uma câmara de germinação (BOD) a 24°C ± 2°C, onde ficaram armazenadas durante o experimento.

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado, sendo cada tratamento constituído por cinco repetições com 25 sementes cada. Foi analisado o processo de germinação em períodos de 8 em 8 horas até completar 48 horas, de modo a avaliar o índice de velocidade de germinação (IVG) e a porcentagem de germinação ao final das 48h. Após 48h, com o auxílio de um paquímetro digital, o comprimento da raiz de cada semente foi aferido para determinar o crescimento radicular (CR) e após 120h as partes aéreas das plântulas foram medidas para determinar o crescimento aéreo (CA).

Os dados obtidos com as análises foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com teste de Dunnett a 5% de significância, no programa GENES (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos com as análises de fitotoxicidade do extrato aquoso de *P. amalago*, demonstraram que a porcentagem de germinação das sementes da alface foi inibida nos tratamentos 100, 50 e 25 mg/mL, quando comparados com o controle. As sementes tratadas com concentração de 100 e 50mg/mL não germinaram e a de 25



mg/mL apresentou uma inibição de 43% (Tabela 1). Esse fato impossibilitou a análise citotóxica das sementes tratadas nas duas maiores concentrações uma vez que sem a germinação das sementes não foi possível obter meristemas para análise citogenética.

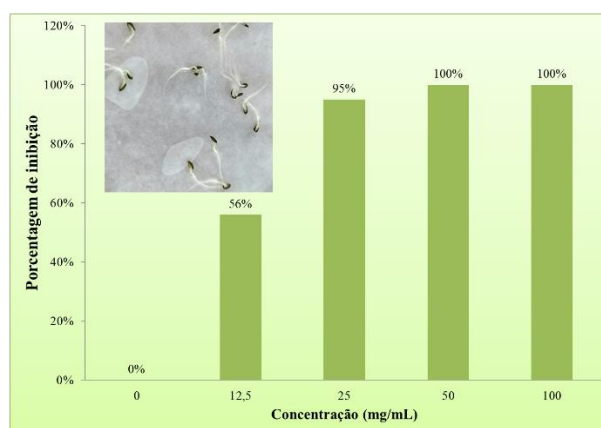
Tabela 1 – Variáveis fitotóxicas avaliadas após exposição das sementes de *Lactuca sativa* ao extrato aquoso foliar de *Piper amalago* nas concentrações 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL e 12,5 mg/mL e controle negativo.

Tratamento	Germinação	IVG	CR	CA
100 mg/mL	0,00	0,00	0,00	0,00
50 mg/mL	0,00	0,00	0,00	0,00
25 mg/mL	52,00	3,38	0,39	0,46
12,5 mg/mL	88,00a	8,09	3,38	5,51
Água destilada	92,00a	10,89a	7,65a	12,22a

*as médias seguidas pela letra a, na coluna, se igualaram ao controle negativo (água destilada) de acordo com o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

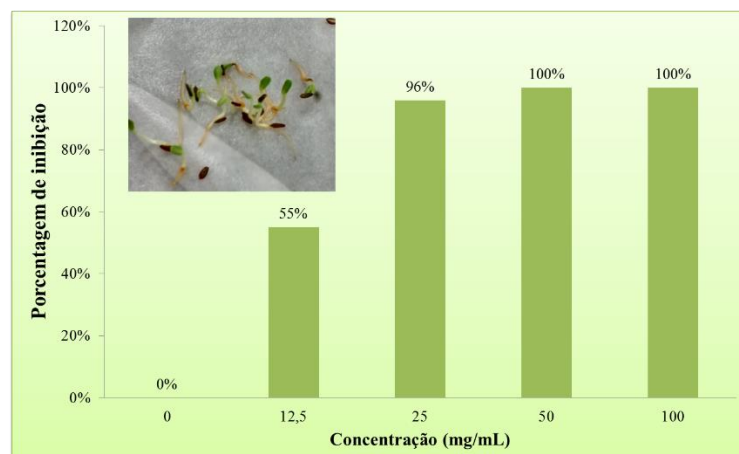
Na variável IVG, houve inibição de 69% e 26% nas concentrações de 25 e 12,5 mg/mL, respectivamente (Tabela 1). Além do efeito na porcentagem de germinação, outro efeito causado pela alelopatia ocorre no atraso do IVG. Esse parâmetro é o mais afetado no âmbito da germinação, pois alguns compostos alelopáticos apresentam uma inibição no IVG e não apresentam diminuição significativa na germinação final (COSTA et al., 2017). Além disso a presença de cumarina, encontrada neste trabalho, se relaciona com a inibição do IVG (PEREZ; MORAES, 1991).

As variáveis mais afetadas dentre os parâmetros de fitotoxicidade foram o CR e CA, que tiveram diminuição significativa de 95% e 96%, respectivamente, na concentração de 25 mg/mL e de 56% e 55%, respectivamente, na concentração de 12,5 mg/mL (Tabela 1, Figura 03 e 04). Os parâmetros de crescimento são os mais sensíveis dentre os avaliados em ensaios de fitotoxicidade, sendo o CR considerado a variável mais sensível mostrada pela plântula que está sujeita a agentes tóxicos (ARAGÃO et al., 2017).



Fonte: O autor.

Figura 01 – Porcentagem de inibição do crescimento radicular (CR) de *Lactuca sativa* tratada com diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de *Piper amalago* e ilustração do crescimento radicular de *L. sativa*, tratada com água destilada.



Fonte: O autor.

Figura 02 – Porcentagem de inibição do crescimento aéreo (CA) de *Lactuca sativa* tratada com diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de *Piper amalago* e ilustração do crescimento aéreo de *L. sativa*, tratada com água destilada.

CONCLUSÃO

Os dados acessados demonstram o efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *P. amalago*, a partir da fitotoxicidade expressa na inibição da porcentagem de germinação, no índice de velocidade de germinação, no crescimento radicular e no crescimento aéreo de sementes e plântulas de *L. sativa*. Tais resultados demonstram que o mesmo apresenta potencial para uso como bioherbicidas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à capes, fapes, cnpq e UFES, pela infraestrutura e por todos os projetos e bolsas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, K. C.; BARBOSA, T. R.; SILVA, R. N. R.; JACQUES, D. S.; FREIRE, R. B. Efeito citotóxico do infuso aquoso de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 87, p. 60-62, 2006.
- ALVARENGA, I. C. A.; BOLDRIN, P. F.; PACHECO, F. V.; SILVA, S. T.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. Effects on growth, essential oil content and composition of the volatile fraction of *Achillea millefolium* L. cultivated in hydroponic systems deficient in macro- and microelements. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 329–338, 2015.
- ARAGÃO, F. B.; QUEIROZ, V. T.; FERREIRA, A.; COSTA, A. V.; PINHEIRO, P. F.; CARRIJO, T. T.; ANDRADE-VIEIRA, L. F. Phytotoxicity and cytotoxicity of *Lepidaploa rufogrisea* (Asteraceae) extracts in the plant model *Lactuca sativa* (Asteraceae). **Revista de Biologia Tropical**. v. 65, p. 1-10, 2017.
- BANDEIRA, J. M.; BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. M. P.; RODRIGUES, I. C. S.; BACARIN, M. A.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, p. 157-164, 2011.
- BEZERRA, D. P.; MOURA, D. J.; ROSA, R. M.; VASCONCELLOS, M. C.; SILVA, A. C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A.; HENRIQUES, J. A.; COSTA-LOTUFO, L. V.; SAFFI, J. Evaluation of the



genotoxicity of piplartine, an alkaloid of *Piper tuberculatum*, in yeast and mammalian V79 cells. **Mutation Research**, v. 30, 2008.

CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy (Online)**. v. 35, p. 271-276, 2013.

INCA, Posicionamento do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva Acerca dos Agrotóxicos, Disponível em:<

http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento_do_inca_sobre_os_agrotóxicos_06_abr_15.pdf>. Acesso em: 20 de junho de 2018.

MULLALLY, M.; CAYER, C.; MUHAMMAD, A.; WALSHE-ROUSSEL, B.; AHMED, F.; SANCHEZ-VINDAS, P. E.; ROJAS, M. O.; MERALI, Z.; CAL, V.; DURST, T.; TRUDEAU, V. L.; ARNASON, J. T. Anxiolytic activity and active principles of *Piper amalago* (Piperaceae), a medicinal plant used by the Q'eqchi' Maya to treat susto, a culture-bound illness. **Journal Ethnopharmacol.** v. 5, p. 185:147, 2016.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the Genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, p. 591-673, 1997.

PEREZ, S. C. J. G. A.; MORAES, J. A. P. V. Efeito da cumarina e de sua interação com giberelina na germinação de *Prosopis juliflora* (Sw) D.C. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V. 26, p. 1493-1501, 1991.

PRICHOA, F. C.; LEYSER, G.; OLIVEIRA, J. V.; CANSIAN, R. L. Comparative allelopathic effects of *Cryptocarya moschata* and *Ocotea odorifera* aqueous extracts on *Lactuca sativa*. **Acta Scientiarum**. v. 35, p. 197-202, 2013.

SANTOS, V. L. P.; FRANCO, C. R. C.; AMANO, E.; MESSIAS-REASON, I. J.; BUDEL, J. M. Anatomical investigations of *Piper amalago* (jaborandi-manso) for the quality control. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 85-91, 2015.