



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
VEGETAL

ENES FOLLADOR NOGUEIRA

HERBICIDA SELETIVO A PARTIR DE EXTRATOS DE *PIPER NIGRUM* L.

VITÓRIA - ES

2019

ENES FOLLADOR NOGUEIRA

HERBICIDA SELETIVO A PARTIR DE EXTRATOS DE *PIPER NIGRUM* L.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador(a): Prof.^a. Dr.^a Viviana Borges Corte

VITÓRIA - ES

2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

N778h Nogueira, Enes Follador, 1973-
Herbicida seletivo a partir de extratos de *Piper nigrum* L. /
Enes Follador Nogueira. - 2019.
111 f. : il.

Orientadora: Viviana Borges Corte.
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Piperina.. 2. Capim colônia.. 3. Alelopatia.. 4. Enzimas antioxidantes.. 5. Pimenta do reino.. I. Corte, Viviana Borges. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

HERBICIDA SELETIVO A PARTIR DE EXTRATOS DE *PIPER NIGRUM* L.

ENES FOLLADOR NOGUEIRA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em XX de XXXX de 20XX.

Comissão Examinadora:

Dr^a. Viviana Borges Corte - UFES
Orientadora e Presidente da Comissão

Dr. Hildegardo Seibert França - IFES
Examinador Interno

Dr. Elias Werner - UFES
Examinador Interno

Dr. Vitor de Laia Nascimento - UFTO
Examinador Externo

Dr. Leandro Elias Morais - IFMG
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

À Prof^ª. Dra. Viviana Borges Corte com carinho, respeito e admiração, pelas oportunidades oferecidas, profissionalismo, competência, amizade, paciência e, principalmente, pelos conhecimentos adquiridos, sobretudo quanto aos atos de humanidade e compreensão.

Meu eterno agradecimento.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes) pela oportunidade oferecida;

Ao PPGBV que me propiciou as condições necessárias para desenvolver o meu projeto de pesquisa;

Ao Instituto Federal do Espírito Santo (Ifes) que permitiu a realização desse trabalho, tanto como mantenedor como provedor de vários recursos que foram indispensáveis ao mesmo;

À Deus, pela tua graça e infinita generosidade pois, em todo instante, senti tua mão me amparando e teu amor me guiando.

À minha família, razão pela qual tive condições emocionais para superar toda e qualquer dificuldade que tive durante o desenvolvimento desse trabalho;

Ao meu filho Davi Ramos Nogueira, minha maior motivação e razão principal da minha existência e sem o qual nada disso faria sentido, pelo amor e alegria diários tão contagiantes;

À minha esposa Ana Paula Ramos Nogueira pelo carinho, amor, paciência e compreensão ao longo da realização deste trabalho;

Aos meus grandes amigos (as) e companheiros (as) do Labsef Anderson Mariquito, Alessandro Bermudes, Flávio Perini, Josinei, Camila, Tarsila e Rayane pelo carinho no desalento, pelos pensamentos e conversas lúdicas.

Aos professores (as) e amigos (as) Dr. Rômulo Ramos, Dr. Gutenberg Almeida Nascimento., Dr. Alex Borges e Msc. Paola pela colaboração intelectual, pela amizade, oportunidade, incentivo e, principalmente pelos conhecimentos adquiridos.

Ao professor Dr. Victor Nascimento pela colaboração indispensável, pela disponibilidade e pelas discussões que enriqueceram, de forma incomensurável, o meu trabalho.

Ao professor e amigo Msc. Kelvin pela amizade, colaboração, discussões, disponibilidade, solidariedade, parceria e risadas sem as quais o caminho teria sido muito mais árduo.

Aos amigos (as) que indiretamente compartilharam comigo este momento, contribuindo para meu otimismo, perseverança, perspicácia e sensatez.

Meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. OBJETIVO GERAL.....	19
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
5.1 Uso de agrotóxicos no Brasil e no mundo	24
5.2 Alelopatia	26
5.3 Plantas invasoras.....	28
5.4 Família Piperaceae.....	31
5.5 Gênero Piper	31
5.6 Piper nigrum L.	35
5.7 Piperina	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 1	53
Potencial alelopático de extratos foliares e de sementes de Piper nigrum L. sobre a germinação e crescimento inicial de Lactuca sativa L. e Panicum maximum Jacq.	53
RESUMO	54
ABSTRACT	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAIS E MÉTODOS	58
2.1 Delineamento experimental.....	58
2.2 Determinação do potencial hídrico dos extratos utilizados nos bioensaios de germinação e crescimento inicial de Panicum maximum e Lactuca sativa.	58
2.3 Bioensaios de germinação e crescimento inicial de Panicum maximum e Lactuca sativa submetidos aos extratos foliares e de sementes de Piper nigrum L.	58
2.4 Análise estatística	59
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
3.1 Potencial hídrico dos extratos foliares e de sementes de Piper nigrum L.	60

3.2 Influência dos extratos foliares e de sementes de Piper nigrum L. sobre a germinação e crescimento inicial de sementes e plântulas de Lactuca sativa L.	61
3.3 Influência dos extratos foliares e de sementes de Piper nigrum L. sobre a germinação e crescimento inicial de sementes e plântulas de Panicum maximum Jacq.	65
4. CONCLUSÕES	75
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
CAPÍTULO 2	80
Fitotoxicidade da Piperina sobre a germinação e crescimento inicial de Lactuca sativa L. e Panicum maximum Jacq.	80
RESUMO.....	81
ABSTRACT	82
1. INTRODUÇÃO	83
2. MATERIAIS E MÉTODOS	84
2.1 Delineamento experimental.....	84
2.2 Obtenção dos extratos de sementes de pimenta do reino	85
2.3 Bioensaios de germinação e crescimento	86
2.4 Prospecção fitoquímica dos extratos fracionados.....	86
2.5 Avaliação da massa seca e da concentração de metabólitos primários (glicose, frutose, sacarose e amido).....	87
2.6 Concentração de clorofila a, clorofila b e carotenóides,	87
2.7 Produção dos extratos para avaliar atividade enzimática	87
2.8 Determinação da atividade enzimática	88
2.8.1 Determinação da atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6)	88
2.8.2 Determinação da atividade da peroxidase (POX, EC 1.11.1.7)	88
2.8.3 Determinação da atividade das superóxido dismutase (SODs, EC 1.15.1.1)	89
2.9 Análise estatística	89
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
4. CONCLUSÕES	103
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

RESUMO

O aumento da demanda mundial por alimentos tem como consequência um maior consumo de agrotóxicos. Nesse cenário, o Brasil desponta como um dos principais consumidores mundiais de pesticidas, em especial, herbicidas (cerca de 45% do consumo total), agentes altamente nocivos ao ambiente e à saúde humana. Nesse contexto, pesquisas têm investigado produtos naturais com atuação mais sustentável. Nesse sentido, a alelopatia se mostra como uma alternativa viável. O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes e Ecofisiologia Florestal da Universidade Federal do Espírito Santo - LASEF/UFES. O Objetivo dessa pesquisa foi avaliar a atividade alelopática de extratos de sementes e folhas de *Piper nigrum* L. e do alcaloide piperina sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Panicum maximum* Jacq. Para isso foram avaliados as variáveis IVG; G; TMG; IA; a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e POX; teores de açúcares solúveis e amido e as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides em plântulas de *Panicum maximum* Jacq. (capim colônia), submetidas à extratos contendo piperina, visando compreender o efeito alelopático desse alcalóide sobre a daninha. Os extratos de sementes de *Piper nigrum* L., em especial o extrato EAQS800, inibiram a germinação e o crescimento inicial de capim colônia sem, entretanto, afetar de forma significativa a germinação e crescimento inicial da alface. O aleloquímico mais abundante encontrado na prospecção fitoquímica dos extratos de sementes de pimenta do reino foi o alcaloide piperina e, possivelmente, é o principal componente responsável pelo efeito alelopático desses extratos sobre a planta daninha. Houve uma redução das concentrações de glicose, frutose e sacarose nas plantas expostas ao EAQS800, entretanto, também se observou um aumento proporcional da concentração de amido quando comparado com o controle. Ocorreu um incremento na atividade antioxidante da enzima POX acompanhado de uma redução da atividade das enzimas SOD e CAT que, provavelmente, promoveu uma lignificação das paredes celulares inibindo o crescimento das plântulas de capim submetidas aos extratos.

Palavras-chave: Piperina • capim colônia • Alelopatia • enzimas antioxidantes • pimenta do reino

ABSTRACT

The increase in world demand for food leads to a higher consumption of agrochemicals. In this scenario, Brazil emerges as one of the world's leading consumers of pesticides, especially herbicides (about 45% of total consumption), which are highly harmful to the environment and to human health. In this context, researches have investigated natural products with a more sustainable performance. In this sense, allelopathy is shown as a viable alternative. The objective of this research was to evaluate the allelopathic activity of *Piper nigrum* L. and piperine alkaloid seeds and leaves extracts on the germination and initial growth of *Lactuca sativa* L. and *Panicum maximum* Jacq. For this, the IVG parameters were evaluated; G; TMG; IA; the activity of antioxidant enzymes SOD, CAT and POX; soluble sugars and starch contents and the concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids in seedlings of *Panicum maximum* Jacq. (guinea grass), submitted to extracts containing piperine, aiming to understand the allelopathic effect of this alkaloid on the weed. Seed extracts of *Piper nigrum* L., in particular the EAQS800 extract, inhibited germination and initial growth of guinea grass without, however, significantly affecting the germination and initial growth of lettuce. The most abundant allelochemical found in the phytochemical prospecting of the pepper seeds extracts of the kingdom was the piperine alkaloid and, possibly, is the main component responsible for the allelopathic effect of these extracts on the weed. There was a reduction in the concentrations of glucose, fructose and sucrose in the plants exposed to EAQS800, however, a proportional increase of the starch concentration was also observed when compared to the control. There was an increase in the antioxidant activity of the POX enzyme accompanied by a reduction in the activity of the SOD and CAT enzymes, which probably promoted a lignification of the cell walls inhibiting the growth of the grass seedlings submitted to the extracts.

Keywords: Piperina • guinea grass • allelopathy • antioxidant enzymes • black pepper

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Estrutura química do alcaloide Piperina	16
FIGURA 2 - Mapa de ocorrência e distribuição potencial de <i>Panicum maximum</i> Jacq. (Lozano, 2016).	29
FIGURA 1 (Cap. 1) - Regressão linear simples para G de sementes de capim colonião submetidas aos extratos metanólico e de acetato de etila de sementes de pimenta do reino.....	68
FIGURA 2 (Cap. 1) - Gráficos de interação (ou de perfil) para G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação) e TMG (Tempo médio de germinação) de sementes de capim colonião submetidas a extratos foliares e de sementes de <i>Piper nigrum</i> L.....	71
FIGURA 3 (Cap. 1) - Gráficos de comparação para G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), crescimento da parte aérea e da radícula em sementes de capim colonião submetidas a extratos foliares e de sementes de <i>Piper nigrum</i> L.....	73
FIGURA 1 (Cap. 2) - Espectros referentes aos componentes fitoquímicos encontrados, por meio da técnica FT-ICR MS/ESI, em cada um dos extratos fracionados.....	90
FIGURA 2 (Cap. 2) - G, IA, IVG, TMG, CPA e CR de sementes de capim colonião submetidas a extratos de sementes de <i>Piper nigrum</i> L.....	94
FIGURA 3 (Cap. 2) - G, IA, IVG, TMG, CPA e CR de sementes de alface submetidas a extratos de sementes de <i>Piper nigrum</i> L.....	97
FIGURA 4 (Cap. 2) - Atividade antioxidante das enzimas POX, SOD e CAT.....	101

LISTA DE TABELAS

TABELA1- Percentual de metabólitos secundários identificados em estudos fitoquímicos realizados com espécies de <i>Piper</i>	31
TABELA 1 (Cap. 1) - Potencial hídrico dos extratos de folhas e sementes (metanólico, hexânico e de acetato de etila).....	59
TABELA 2 (Cap. 1) - G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de alface submetidas a extratos foliares e de sementes de <i>Piper nigrum</i> L.....	62
TABELA 3 (Cap. 1) - Correlação de Pearson entre a concentração dos extratos metanólicos e os parâmetros <i>G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de capim colonião submetidas a extratos metanólicos de sementes de Piper nigrum L</i>	66
TABELA 4 (Cap. 1) - Correlação de Pearson entre a concentração dos extratos metanólicos e os parâmetros <i>G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de capim colonião submetidas a extratos de acetato de etila de sementes de Piper nigrum L</i>	67
TABELA 5 (Cap. 1) - G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de capim colonião submetidas a extratos foliares e de sementes de <i>Piper nigrum</i> L.....	69
TABELA 1 (Cap. 2) - Resultado da prospecção fitoquímica para os extratos fracionados.....	92

TABELA 2 (Cap. 2) - Análise de Variância e comparação de médias (5% Tukey) para os tratamentos com os extratos fracionados de semente de <i>Piper nigrum</i>	94
TABELA 3 (Cap. 2) - Análise de Variância e comparação de médias (5% Tukey) para os tratamentos com os extratos fracionados de semente de <i>Piper nigrum</i>	96
TABELA 4 (Cap. 2) - Concentração média de massa seca, açúcares solúveis em 50 mg de massa seca e amido.....	98
TABELA 5 (Cap. 2) - Concentração de pigmentos fotossintetizantes.....	99

1. INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas, a intensificação da atividade agrícola visando altas produtividades, tem aumentado a demanda pelo uso de agroquímicos, como fertilizantes, corretivos e, principalmente, defensivos agrícolas, tais como, herbicidas, fungicidas, inseticidas, nematicidas e outros (Paracampo et al., 2009; Pessanha et al., 2010; Pignatti et al., 2017; Oliveira et al., 2018). Considerando-se ainda que, em média, 30% a 40% da perda da produção agrícola mundial e o aumento dos custos de produção é atribuída a interferência de plantas daninhas (Brighenti e Oliveira, 2011), o controle de plantas invasoras torna-se de grande relevância nesse contexto (Barboza et al., 2018). A interferência de determinadas plantas sobre o desenvolvimento de outras em uma mesma área é conhecida há muito tempo, porém a origem de tais eventos é justificada por fenômenos de difícil explicação (Vianna et al., 2001). Essa interferência de um organismo vegetal sobre outro é denominada *Alelopatia*. De acordo com Mano (2006), o termo foi criado pelo pesquisador alemão Hans Molisch em 1937 que a definiu como a capacidade de plantas superiores ou inferiores produzirem substâncias químicas que liberadas no ambiente de outras plantas, influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento. Muitos autores têm utilizado definições similares e com maior ou menor abrangência conceitual (Rice, 1984; Lovett e Ryuntyu, 1992; Rizvi e Rizvi, 1992; Soares, 2000, Sangeetha e Baskar, 2015; Shah et al., 2016). Entretanto, em 1996, a IAS (International Allelopathy Society), ampliou a definição de alelopatia, agregando os processos que envolvem a produção de metabólitos secundários por plantas, micro-organismos, vírus e fungos que influenciam no crescimento e no desenvolvimento de sistemas florestais, agrícolas e biológicos.

Nesse sentido, a alelopatia se destaca por apresentar grande potencial como mecanismo de controle de pragas agrícolas pois, plantas que produzem compostos fitotóxicos, podem ser utilizadas como herbicidas naturais eficientes além de servirem como fontes para possíveis novos compostos com essa aplicação, contribuindo para o aumento da produtividade e menor impacto negativo sobre a qualidade dos cultivares bem como sobre as áreas de cultivo (Piña-Rodrigues e Lopes, 2001; Rezende et al., 2003; Mairesse et al., 2007; Appleton e Berrier, 2009; Silva et al., 2017; Feng et al., 2019).

A pesquisa por compostos alelopáticos com potencial uso herbicida se tornou uma opção pertinente, tanto do ponto de vista ambiental e econômico quanto da saúde pública. Ferreira e Borguetti (2004) afirmam que o estudo de substâncias alelopáticas de espécies vegetais pode resultar no isolamento de princípios ativos, que poderão ser utilizados como herbicidas naturais, com a vantagem de não provocarem os efeitos prejudiciais causados pelos herbicidas sintéticos (Yunes e Calixto, 2001).

A investigação do efeito alelopático a partir de extratos vegetais utilizando bioensaios de germinação e crescimento inicial de plantas sensíveis em laboratório é uma opção muito eficaz pois, é possível verificar parâmetros de difícil controle no campo ou em ambiente natural, recomendando-se que para esses testes sejam utilizadas sementes de espécies de fácil acesso e sensíveis a vários aleloquímicos (Coelho et al. 2011).

As plantas apresentam diferentes mecanismos de tolerância ou resistência aos metabólitos secundários sendo que algumas são reconhecidamente mais sensíveis, tais como, *Lactuca sativa* L. (alface), *Solanum lycopersicum* L. (tomate) e *Cucumis sativus* L. (pepino), sendo por isso consideradas indicadoras de atividade alelopática (Torres et al., 2004). Diferentes bioensaios preliminares realizados em laboratório tem avaliado o potencial fitotóxico destes compostos sobre espécies comerciais, como *Lactuca sativa* (Trevisan et al. 2012; Paula et al. 2014, Rial et al. 2014; Kato-Noguchi et al. 2014, Wang et al. 2014). As vantagens da utilização da alface nestes experimentos são a homogeneidade genética, germinação uniforme e fácil disponibilidade, ao contrário das espécies silvestres que são geneticamente mais heterogêneas e apresentam variada sensibilidade, além de falta de homogeneidade na germinação (Macías et al. 2000; Trevisan et al. 2012).

Entretanto, outras, tais como o capim colônia (*Panicum maximum* Jacq.), são invasoras altamente infestantes e grandes responsáveis por contaminações biológicas na agricultura (Rosa et al., 2011). Essa espécie, perene e heliófita, é uma gramínea oriunda da África e foi introduzida no Brasil para alimentar o rebanho bovino durante o período colonial (Silva, 1968). Forma touceiras resistentes e propaga-se de forma vegetativa e por dispersão de sementes pelo vento e por aves granívoras (Silva, 1969), sendo considerada uma daninha invasora agressiva que,

além de causar danos às reservas naturais, prejudica culturas como a da cana de açúcar (Kissmann, 1997). Diante dessa situação, é necessário que sejam realizados estudos de combate às gramíneas africanas no País utilizando diferentes técnicas de controle tais como a aplicação de herbicidas e o controle biológico (Pivello, 2008).

A pimenta do reino *Piper nigrum* L. (Família Piperaceae), também conhecida como pimenta da Índia, é uma planta trepadeira de grande produtividade e amplamente utilizada como condimento no mundo, com grande valor econômico, permitindo que essa atividade desenvolvida pelos pipericultores brasileiros seja altamente rentável (Magevski et al. 2011).

Diversos autores têm evidenciado o potencial alelopático de várias espécies do gênero *Piper* tanto sobre insetos e fungos quanto sobre plantas daninhas (Lustosa et al. 2007; Souza Filho et al. 2009; Almeida et al. 2011; Borella et al. 2012; Pinheiro et al. 2016). Pesquisas têm revelado que algumas espécies desse gênero, como a pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), contêm compostos fitotóxicos, solúveis em água que são liberados no ambiente por meio de diferentes partes da planta (Cardoso et al., 2005). A pimenta-do-reino é estudada do ponto de vista fitoquímico e farmacológico pela presença de alguns compostos secundários como alcaloides e óleos, podendo conter até 12 classes de metabólitos secundários (Silva e Bastos, 2007). As amidas alcaloidais constituem a classe mais abundante de metabólitos dentro do gênero *Piper*, correspondendo, na espécie *P. nigrum*, há cerca de 20% dos compostos já conhecidos (Pissinate, 2006). Dentre eles, destaca-se o alcaloide *piperina* (Figura 1) como uma das mais importantes e das primeiras amidas isoladas nesse Gênero (Parmar et al., 1997).

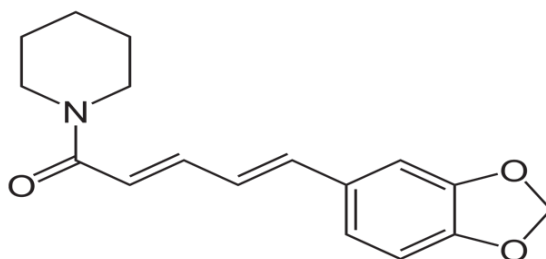


Figura 1: Estrutura química do alcaloide Piperina

Oliveira et al. (2014) afirmam que a Piperina (1-piperoil-piperidina) é o alcalóide principal da pimenta-do-reino ou pimenta preta (*Piper nigrum* L.), a qual é comumente usada como condimento e também em vários preparos tradicionais da medicina popular. Entre as suas atividades biológicas, a piperina apresenta atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antiparasitária (Doença de Chagas e Leishmaniose), propriedades antioxidantes, entre outras (Ferreira et al. 2011).

Considerando o contexto acima e o fato do Estado do Espírito Santo ser o segundo maior produtor de pimenta do reino no Brasil (Conab, 2015), o presente trabalho teve como objetivo responder aos seguintes questionamentos:

- a. Os extratos de pimenta do reino têm potencial no controle da daninha *Panicum maximum*?
- b. Os extratos de pimenta do reino poderiam ser utilizados no controle da daninha sem afetar a cultivar *Lactuca sativa*?
- c. Qual órgão da pimenta do reino (folha ou semente) forneceria o extrato mais eficaz no controle da daninha?
- d. O alcaloide piperina, principal componente químico dos extratos de pimenta do reino, apresenta efeito fitotóxico sobre a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de capim colônia (*Panicum maximum* Jacq.) e alface (*Lactuca sativa* L.)?
- e. Caso positivo, de que maneira a piperina afeta o metabolismo da daninha?

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial de inibição da piperina sobre a germinação e desenvolvimento inicial de sementes e de plântulas de *Lactuca sativa* L. e *Panicum maximum* Jacq..

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar qual extrato bruto (folha/semente) e qual concentração (200, 400, 600 ou 800 mg/L) são mais eficientes no controle da daninha;
- Identificar qual extrato bruto (folha/semente) e qual concentração (200, 400, 600 ou 800 mg/L) é menos nociva à cultivar;
- Avaliar o potencial hídrico dos extratos brutos utilizados;
- Realizar o fracionamento do extrato bruto mais eficaz;
- Realizar a prospecção fitoquímica dos extratos fracionados identificando qual o metabólito majoritário;
- Mensurar a produção de metabólitos primários (glicose, frutose, sacarose e amido) das plântulas expostas ao extrato escolhido;
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes SOD, POX e CAT nas sementes expostas ao extrato escolhido;
- Mensurar a concentração de clorofilas e carotenóides das plântulas expostas ao extrato escolhido;

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F. DE A. C.; SILVA JÚNIOR, P. J. DA; SILVA, J. F. DA; LINO, T. F. L.; SILVA, R. G. DA. Infestação e germinação em sementes de milho tratadas com extratos de *Piper nigrum* e *Anonas quamosa*. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n. Especial, p.411-426, 2011.
- APPLETON, B.; BERRIER, R.. **The walnut tree: allelopathic effects and tolerant plants**. Virginia: College Of Agriculture And Life Sciences, Virginia Polytechnic Institute And State University, 2009.
- BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z.; AMARANTE, L.; MORAES, D. M.; VILLELA, F. A.. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasilica** 26(2): 415-420. 2012.
- BRIGHENTI, A., M.; OLIVEIRA, M., F.. Biologia de plantas daninhas. In: Oliveira Junior, R.S.; CONSTATIN, J.; INOUE, M.H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. 1ª ed. Curitiba: Omnipax; 2011. Pag. 01–36.
- CARDOSO, J.FR. et al. Avaliação do efeito tóxico da Piperina isolada da pimenta do reino (*Piper nigrum* L) em camundongos. **Rev. Univ. Rural**, v.25, n.1, p.85-91, 2005.
- COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; OLIVEIRA A.K.;DIÓGENES,F.E.P. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Revista Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 29, n. 1, p. 108-111, 2011.
- FERREIRA A.G.; BORGUETTI F.. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Ed. Artmed; 2004. 222 p.
- FERREIRA, W.S.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N.D.; LIMA, M.E.F.. Piperina, seus análogos e derivados: Potencial como antiparasitários. **Revista Virtual de Química**. Vol. 04, nº 03. 2012.
- INTERNATIONAL ALLELOPATHY SOCIETY - IAS. Constitution and Bylaw of IAS. Cádiz-Spain: **IAS Newsletter**, 1996.
- KATO-NOGUCHI, H. et al. Phytotoxic substances with allelopathic activity may be central to the strong invasive potential of *Brachiaria brizantha*. **Journal of Plant Physiology**, v.171, n.7, p.525-530, 2014.
- KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: Basf, 1997.

LOVETT, J.V.; RYUNTYU, M. Allelopathy: broadening the context. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (ed.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman and Hall, 1992. p. 11-19.

LUSTOSA, F. L. F.; OLIVEIRA, S. C. C.; ROMEIRO, L. A. Efeito alelopático de extrato aquoso de *Piper aduncum* L. e *Piper tectoniifolium* kunth na germinação e crescimento de lactuca sativa L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 849-851, 2007.

MACÍAS, F.A. et al. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.2512-2521, 2000.

MAGEVSKI, G.C.; CZEPAK, M.P.; SCHMILDT, E.R.; ALEXANDRE, R.S.; FERNANDES, A.A.. Propagação vegetativa de espécies silvestres do gênero *Piper*, com potencial para uso como porta enxertos em pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). **Rev. bras. plantas medicinais**. vol.13. Botucatu. 2011.

MAIRESSE, L. A. S.; COSTA, E. C.; FARIAS, J. R.; FIORIN, R. A. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 14, n. 2, p. 1-12. 2007.

MANO, A. R. de O. Efeito alelopático do extrato aquoso de semente de cumaru (*Amburana cearenses*. S) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho. Fortaleza-CE. 2006. Ano de obtenção: 2006. 102p. **Dissertação de Mestrado em Agronomia** - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2006.

OLIVEIRA, G.O.; ALENCAR-FILHO, E.B; VASCONCELLOS, M.L.A.A.. A influência da piperina na biodisponibilidade de fármacos: uma abordagem molecular. **Quim. Nova**, Vol. 37, No. 1, 69-73, 2014.

PARACAMPO, N. E. N. P.; MULLER, A. H.; ALVES, S. de M.; SOUZA FILHO, A. P. da S.; GUILHON, G. M. S. P.; ARRUDA, M.S.P.; SANTOS, L. da S.; ARRUDA, A. C. Atividade fitotóxica e fungitóxica de extratos de *Vouacapoua cf americava Aublet* (leg.-caesalp.), essência florestal nativa da amazônia. **Revista ciências agrárias**, n. 52, p.9-22, 2009.

PARMAR, V, S; JAIN, S, C; BISHT, K, S; JAIN, R; TANEJA, P; JHA, A; TYAGI, O, M; PRASAD, A, K; WENGEL, J; OLSEN, C, E; BOLL, P, M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p.597-673, 1997.

- PAULA, C.S. et al. Atividade alelopática do extrato e frações das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.35, n.1, p.47-52, 2014.
- PESSANHA, A. C.; SANTOS, L. M. FREITAS, S. P.; HUZIWARA, E. Efeito alelopático de extrato de *Schinus Terebinthifolius* L. em *brachiaria decumbens*. **XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Ribeirão Preto, SP, julho, 2010.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M.. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2001.
- PINHEIRO, P. R.; SEVERIANO, R. L.; ABRÃO, C. F.; PEREIRA, M. D. Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface submetidas a extratos de pimentas. **Revista Agrarian**. v.9, n.32, p. 143-148, Dourados, 2016.
- PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. **Tese de Doutorado**. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006.
- PIVELLO, V. R. Invasões biológicas no cerrado brasileiro: efeitos da introdução de espécies exóticas sobre a biodiversidade. **Ecologia Info**, Suécia, n. 33, 2008.
- REZENDE, C de P.; PINTO, J. C.; EVANGELISTA, A. R.; SANTOS, I. P. A. **Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens plantas forrageiras**. Lavras: UFLA, 2003. 18 p. (Boletim Agropecuário).
- RIAL, C. et al. Phytotoxicity of Cardoon (*Cynara cardunculus*) Allelochemicals on Standard Target Species and Weeds. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v.62, n.28, p.6699-6706, 2014.
- RICE, E.L. **Allelopathy**. 2 ed. New York: Academic Press, 1984. 422 p.
- RIZVI, S. J. N.; RIZVI, V. **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman and Hall, 1992. 480 p.
- ROSA, D., M.; FORTES, A., M., T.; MAULI, M., M.; MARQUES, D., S.; PALMA, D. Potencial Alelopático de *Panicum maximum* JACQ sobre a Germinação de Sementes de Espécies Nativas. **Floresta e Ambiente**, 2011.

- SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de Espécies de *Piper* Sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici* Fitopatol. **Rev.Bras.** v.32, p143.-145. 2007.
- SILVA, S. A. F. Contribuição ao estudo do "Capim Colonião" (*Panicum maximum* Jacq. var. maximum). **Vellozia**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 3-8, 1968.
- SILVA, S. A. F. Contribuição ao estudo do "Capim Colonião" (*Panicum maximum* Jacq. var. maximum) II - Considerações sobre sua dispersão e seu controle. **Vellozia**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 3-21, 1969.
- SOARES, G.L.G.. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, .7: 190-197. 2000.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; VASCONCELOS, M. A. M.; Zoghbi, M., G. B.; CUNHA, R. L.. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta Amazônica** VOL. 39(2) 2009: 389- 396. 2009.
- TORRES, S. B.; INNECCO, R.; MEDEIROS, S. F. & ALVES, M. C. S.. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,.39: (11) 1083-1086. 2004.
- TREVISAN, R.R. et al.. Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, p.494-499, 2012.
- VIANA, E. M.; SILVA, H. G.; VILLALBA, J. P.; LARA, M. A. F.; SANTINHO, R. E.. Estudo do efeito alelopático da cultura de aveia sobre a cultura do milho. **Projeto**, Campo Grande, p. 1-5, 2001.
- WANG, Q. et al.. Allelopathic activity and chemical constituents of walnut (*Juglans regia*) leaf litter in walnut-winter vegetable agroforestry system. **Natural Product Research**, v.1, p.1-4, 2014.
- YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B.. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos; 2001.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 *Uso de agrotóxicos no Brasil e no mundo*

A população mundial em 2024 será superior a 8 bilhões de pessoas e, em 2050, superior a 9,5 bilhões (Boaretto, 2009; ONU, 2012). Esse aumento populacional, obviamente, resultará em uma maior demanda por alimentos. Consequentemente, considerando a produção de alimentos em larga escala, haverá uma demanda por agrotóxicos ainda maior do que a atual que, por sua vez, já é bastante expressiva. Samsidar et al. (2018) classificam os pesticidas em quatro grandes famílias, denominadas organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides e Mfarrej e Rara (2018) mencionam que no mundo, anualmente, cerca de 25 milhões de trabalhadores agrícolas sofrem envenenamentos acidentais ao manusear tais pesticidas. E ainda deve-se considerar a intoxicação por via alimentar que ocorre, de maneira crônica, nas populações que consomem os produtos agrícolas contaminados. Cabrera (2017), por exemplo, menciona que a exposição a pesticidas tem efeitos profundos na saúde humana, incluindo aumento do risco de câncer, diabetes, distúrbios genéticos e neurotoxicidade.

A preocupação com a presença de agrotóxicos nos alimentos é tão antiga quanto à introdução destes produtos químicos no controle de pragas e doenças que afetam a produção agrícola. Veiga (2007) cita que a relação entre agricultura e saúde pública sempre foi muito grande, seja na função de supridora de alimentos, seja pelos riscos à saúde humana e ao meio ambiente causados pela utilização de agrotóxicos. Cassal et al. (2014) mencionam que, no mundo todo, os efeitos dos impactos na saúde pública, bem como no ambiente vêm sendo percebidos. Esses autores seguem afirmando que, em relação à saúde pública, o uso cada vez mais crescente desses compostos tem causado severos efeitos, sejam eles agudos ou crônicos, em vários trabalhadores, principalmente da área rural, embora outros setores também sejam afetados. De acordo com Maraschin e Áquila (2005), a exposição involuntária da população através do consumo de alimentos com resíduos de agroquímicos também reforça a inadequação desse sistema de produção. Segundo Oliveira et al. (2018), o uso de agrotóxicos tem se difundido na agricultura, principalmente, nos últimos 30 anos. Cassal et al. (2014) comentam que, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o mercado

mundial destes produtos cresceu 93% nos últimos dez anos, sendo que no Brasil, este crescimento chegou a 190%. Barboza et al. (2018), citam que os pesticidas mais utilizados no Brasil são os herbicidas. E, nesse contexto, o Brasil se tornou o maior consumidor mundial de agrotóxicos em 2010 (Pignatti et al., 2017).

Elevados níveis de contaminação humana e ambiental têm sido encontrados em regiões agrícolas no Brasil. Dados indicam que um terço dos alimentos consumidos diariamente está contaminado pelos agrotóxicos, segundo análise de amostras coletadas em todas as 26 Unidades Federadas do Brasil, realizadas pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Anvisa (2012). De acordo com Cassal et al. (2014), para se produzir alimentos em larga escala, é imprescindível o uso racional de agrotóxicos como uma ferramenta a mais para garantir a proteção contra baixas produtividades ou perdas de culturas. Entretanto, esses mesmos autores, salientam que o controle químico só deve ser empregado após aplicação de todos os métodos de controles disponíveis, para se evitar problemas toxicológicos tanto para o homem quanto para o meio ambiente.

Segundo Souza et al. (2017), há um aumento do interesse por alimentos livres de pesticidas em consonância com os movimentos em prol do desenvolvimento sustentável e com o conhecimento e divulgação dos riscos que os agrotóxicos representam à saúde. Colturato et al. (2011), corroboram com essa afirmativa ao observarem uma busca crescente por métodos alternativos de controle, que sejam eficientes com o mínimo de impacto ambiental e danos à saúde dos seres humanos. Bessa et al. (2010), também destacam os efeitos impactantes dos compostos sintéticos utilizados na agricultura convencional, despertando estudos que demonstram os danos bioacumulativos no meio ambiente, com estudos de monitoramentos, da avaliação da persistência destes produtos e da utilização no meio ambiente.

A busca crescente por produtos que apresentem baixa toxicidade ao homem, menor impacto ambiental e menores custos de aquisição vem fazendo crescer a utilização dos recursos naturais renováveis como fonte de novas substâncias bioativas (Kim et al., 2003; Menezes, 2005; Pang et al., 2012). Portanto, a substituição desses ingredientes pelos compostos naturais seria um avanço significativo na proteção do meio ambiente (Shokouhian et al., 2016). Nesse cenário, a alelopatia vem se destacando como uma alternativa viável para

minimizar os efeitos nocivos ocasionados pelo uso excessivo de pesticidas sintéticos.

5.2 Alelopatia

A alelopatia pode ser definida como um tipo de interferência causada por alguns organismos, quando transferem para o ambiente, substâncias químicas ou produtos do metabolismo secundário, denominados de aleloquímicos, sintetizados através de processos metabólicos. Esses compostos possuem mecanismos de defesa que estão relacionados a processos fisiológicos da planta (Sangeetha e Baskar, 2015). Shah et al. (2016), definem aleloquímicos como metabólitos secundários, produzidos e liberados no ambiente pelas plantas, que afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas receptoras.

Os aleloquímicos liberados pelos vegetais são capazes de interferir na germinação das sementes, no desenvolvimento das plântulas, na assimilação de nutrientes, na atividade fotossintética e de várias enzimas e na perda de nutrientes pela permeabilidade da membrana celular (Bhowmik, 2003; Jabran et al., 2015). As plantas produzem e liberam aleloquímicos classificados como fenóis, terpenos e alcalóides via exsudados radiculares no solo. Esses metabólitos liberados no ambiente podem afetar os componentes da biota no entorno, através da redução de espécies vizinhas em função de suas propriedades físico-químicas (Silva, 2012; Sangeetha e Baskar, 2015). Na natureza, muitos compostos possuem propriedades alelopáticas e, quando liberados no ar ou no solo, esses compostos naturais podem matar ervas daninhas vizinhas ou inibir sua germinação e/ou crescimento (Feng et al. 2019). Segundo Qin et al. (2018) a alelopatia é mais importante do que a competição por recursos na redução da biodiversidade de espécies nativas nas plantações de *Eucalyptus urophylla*.

Diversos aleloquímicos podem ser utilizados como herbicidas naturais, em substituição aos compostos sintéticos de uso corrente na agricultura, com destaque para os alcaloides, benzoxazinonas, derivados do ácido cinâmico, coumarinas e compostos cianogênicos (Waller e Feug, 1999; Belz e Hurle, 2004; Qiming et al., 2006; Dayan et al. 2009). Os alcaloides constituem um vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural. Alguns são considerados tóxicos aos animais,

como exemplo, os alcaloides pirrolizidínicos encontrados no gênero *Senecio* e *Crotalaria* para ruminantes e equinos (Lucena et al., 2010). Outros possuem potencial alelopático, como a solasonina, um alcaloide glicosilado encontrado em frutos de *Solanum crinitum*, que inibe significativamente o comprimento da raiz principal de plântulas de alface (Alves et al., 2003). Esses compostos têm ocupado espaço promissor na química de produtos naturais a partir de métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação (Santore, 2013; Morais, 2013). A alelopatia tem despertado o interesse dos pesquisadores no campo de ecossistemas naturais como alternativa de manejo (Bieberich et al, 2018; Mignoni et al. 2018). Meiners et al. (2017), evidenciaram a estreita relação entre espécies que liberam aleloquímicos e a comunidade microbológica de seu entorno, potencializando ou minimizando o efeito desses aleloquímicos. A incorporação de substâncias com atividade alelopática na agricultura pode reduzir o uso de agrotóxicos causando assim a diminuição de danos ao meio ambiente (Maraschin e Áquila, 2005). Além disso, a aplicação da alelopatia tem sido utilizada na rotação de culturas, na utilização de plantas de cobertura (Soltys et al. 2013), no melhoramento de plantas, buscando-se a seleção de cultivares com maior atividade alelopática (Worthington e Reberg-Horton 2013). Silva et al. (2017) mencionam que inúmeras substâncias químicas sintetizadas no metabolismo secundário das plantas atuam, em sua grande maioria, como inseticidas e herbicidas naturais, repelindo ou matando os insetos e impedindo a germinação de outras espécies suscetíveis aos compostos volatilizados pelas plantas.

Verma et al. (2017) comentam que apesar dos aleloquímicos sejam diferentes em plantas diferentes, normalmente, as plantas medicinais têm efeitos inibitórios sobre o crescimento das ervas daninhas, e a exploração e utilização desses compostos como herbicidas naturais tem sido incentivada. Almeida et al. (2011) comentam que, antes da descoberta dos produtos fitossanitários sintéticos, as substâncias naturais extraídas dos vegetais eram amplamente utilizadas para erradicar os insetos, micro-organismos e plantas daninhas. Taiz e Zeiger (2013), informam que a alelopatia atrai grande interesse das pesquisas agrícolas, pois tem potencial de uso no controle de plantas daninhas na agricultura. Vargas et al. (2016) argumentam que o estudo da alelopatia é de extrema importância para a agricultura, sendo possível solucionar problemas relacionados a danos na cultura

com plantas invasoras que competem por nutrientes e liberam aleloquímicos, os quais podem causar danos a uma planta vizinha como patologias, ataque de insetos ou inibição de desenvolvimento. Silva et al. (2018), observaram que as pesquisas alelopáticas vem ganhando maior espaço no meio científico ao longo dos anos, ocorrendo o aumento no número de trabalhos publicados juntamente com os grupos de pesquisa. Revelar os efeitos alelopáticos de plantas medicinais sobre ervas daninhas pode ajudar a alcançar o objetivo da agricultura sustentável (Mahboobi e Heidarian, 2016). Nesse contexto, a alelopatia de espécies vegetais tornou-se um foco de pesquisa nos últimos anos (Zhang et al., 2018). Pelo acima exposto, a alelopatia parece ser uma alternativa viável para minimizar a problemática ocasionada pelo uso intenso de insumos agropecuários, em especial no Brasil.

5.3 Plantas invasoras

Os termos plantas invasoras, plantas daninhas, ervas daninhas, plantas ruderais, plantas silvestres, mato ou inço são empregados de forma indistinta na literatura. As invasoras são espécies de plantas que passaram por uma barreira biogeográfica com a ajuda de seres humanos. Kleunen et al. (2018) classificaram as espécies invasoras como casuais, naturalizadas e invasivas. As casuais são aquelas que superam a barreira ambiental subsequente à invasão e ocorrem na natureza, mas não formam populações persistentes; as espécies naturalizadas são aquelas que superam as barreiras ambientais e reprodutivas e estabelecem populações selvagens que persistem ao longo de múltiplas gerações e, por fim, as espécies invasivas são aquelas que constituem o subconjunto de espécies naturalizadas que superaram a barreira de dispersão e produzem descendentes reprodutivos, de forma eficiente, a uma distância considerável das plantas progenitoras.

Brighenti e Oliveira (2011) conceituam tais plantas como todo e qualquer vegetal que se instala em locais não desejados tendo como referência atividades humanas. Mack et al. (2000) citam que essas espécies podem ocasionar grandes perdas na diversidade biológica de ecossistemas naturais levando, inclusive, ao desaparecimento de espécies nativas por competição e alteração das características do ambiente em que se instalaram, modificando ciclos

biogeoquímicos, microclima e reciclagem dos nutrientes. Em fazendas agrícolas, as ervas daninhas são responsáveis por uma parte considerável das perdas econômicas, reduzindo a qualidade e quantidade do rendimento (Shokouhian et al. 2016). Por essa razão é necessário um monitoramento sistemático e contínuo de infestações de espécies exóticas em campos agrícolas e a implementação de medidas necessárias para conter e controlá-las (Follak et al., 2017).

Rockenbach et al. (2018), por exemplo, mencionam que o capimannoni (*Eragrostis plana* Nees), que foi introduzido no Brasil acidentalmente, tornou-se uma importante planta daninha pois seu crescimento e desenvolvimento em áreas agrícolas não permite o sucesso de várias espécies cultivadas. Favaretto et al. (2015) encontraram compostos como lipídios, fenóis, ligninas e alcaloides nas folhas do capimannoni e, nas raízes, identificaram os mesmos compostos e ainda o amido.

Nunes (2012) salienta que, no Brasil, destacam-se as invasões de espécies vegetais exóticas, principalmente gramíneas de origem africana. Como exemplos, o capimannoni (*Eragrostis plana* Nees) nos Campos Sulinos, os capins braquiária (*Brachiaria decumbens*), elefante (*Pennisetum purpureum*) e colômbio (*Panicum maximum*) nas regiões Sudeste e Centro Oeste (Ziller, 2013). Durigan et al. (2007) identificaram a invasão por gramíneas africanas como sendo a mais grave ameaça à biodiversidade dos remanescentes de Cerrado no estado de São Paulo, presente em 72% das áreas analisadas. No entanto, essas gramíneas já estão presentes em todo o Brasil, inclusive em unidades de conservação, principalmente em áreas de Cerrado do Centro Oeste e Sudeste (Ziller e Dechoum, 2013; Sampaio e Schmidt, 2013).

Dentre as gramíneas exóticas invasoras, destaca-se o capim-colômbio (*Panicum maximum* Jacq.). A figura 2 ilustra a área de ocorrência dessa gramínea africana na América do sul bem como as áreas mais suscetíveis à invasão por essa espécie.

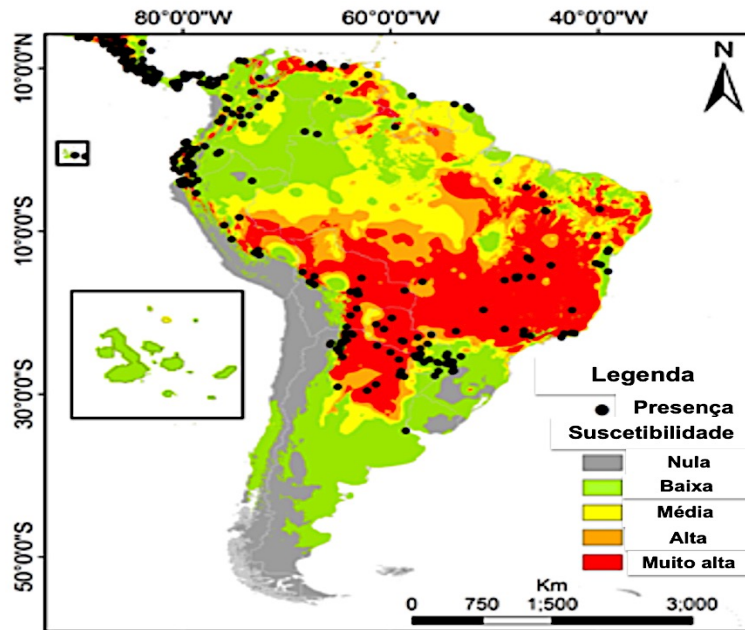


Figura 2: Mapa de ocorrência e distribuição potencial de *Panicum maximum* Jacq. (Lozano, 2016).

Perene e heliófita, essa gramínea é oriunda da África e foi introduzida no Brasil para se criar pastagens para o gado na época da colonização (Silva, 1968). De acordo com Kaushal et al. (2018), a gramínea *Panicum maximum* Jacq. é uma erva daninha perene, de elevada biomassa e bastante comum tanto em pastagens como em áreas cultivadas. Forma touceiras resistentes e propaga-se de forma vegetativa e por dispersão de sementes pelo vento e por aves granívoras (Silva, 1969). É considerada uma espécie invasora agressiva que, além de reservas naturais, prejudica certas culturas como a da cana-de-açúcar (Kissmann, 1997). Mantoani et al. (2012) mencionam que o capim-colômbio (*Panicum maximum* Jacq.) prejudica significativamente a instalação de espécies colonizadoras do sub-bosque, por ter-se tornado uma barreira física e competir com as espécies nativas, influenciando preferencialmente as espécies arbóreas. Silva et al. (2009) citam que a infestação por *Panicum maximum* reduziu em 33% a produtividade de cultivos de cana de açúcar. Pivello (2008) aponta a necessidade de estudos de combate às gramíneas africanas no país utilizando diferentes técnicas de controle (capina manual, capina mecânica, aplicação de herbicida, controle biológico) e de arranjo paisagístico (plantio de indivíduos de espécies de crescimento rápido para sombreamento e

espaçamento utilizado nos reflorestamentos). Nesse contexto, percebe-se uma necessidade em relação ao controle de espécies invasoras, em especial, as gramíneas africanas como o capim colônia (*Panicum maximum* Jacq.).

5.4 Família Piperaceae

A família Piperaceae pertence à ordem Piperales e constitui-se em uma das mais primitivas famílias entre as angiospermas (Soltis et al., 1999; Frodin, 2004; Wanke et al., 2007) e é composta por espécies vegetais amplamente distribuída na mata atlântica (Guimarães et al., 2013). Essa família é encontrada nas regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios (Kato e Furlan, 2007; Archibold et al., 2018) e compreende atualmente os quatro gêneros *Piper*, *Peperomia*, *Sarchorhachis* e *Ottonia*. Plantas dessa família podem apresentar hábito herbáceo, arbustivo ou arbóreo e são consideradas pioneiras, colonizando principalmente clareiras e bordas da floresta (Yuncker, 1974). São identificadas por apresentarem folhas simples, alternas, opostas ou verticiladas, sésseis ou pecioladas, inteiras, de consistência e formas diversas e por possuírem flores muito pequenas, aperiartadas, protegidas por bracteólas pediceladas ou sésseis, dispostas esparsas ou congestas em espigas, formando umbelas ou dispostas em racemos, axilares ou terminais, opostos ou não às folhas. O fruto é uma drupa, séssil ou pedicelado (Guimarães e Giordano, 2004; Archibold et al., 2018).

Os gêneros *Piper* e *Peperomia* são os mais representativos com aproximadamente 2000 e 1700 espécies, respectivamente (Souza e Lorenzi, 2005). No Brasil, ocorrem cerca de 450 espécies da família Piperaceae, sendo 265 espécies de *Piper* e 166 de *Peperomia* (Yuncker, 1972; 1973; 1974). Parra et al. (2011) citam que espécies do gênero *Piper* têm uma notável importância em fitoquímica, etnobotânica e atividade biológica.

5.5 Gênero Piper

O gênero *Piper* abrange desde árvores, arbustos, ervas e, raramente, lianas e epífitas, geralmente ocupa ambientes sombreados e úmidos de interior, clareiras e bordas de florestas, caracterizadas pelas folhas alternas e espigas ou racemos densamente floridos (Tebbs, 1989; 1993). Este gênero encontra-se distribuído por

todas as regiões do país e em todos os estados, com a região Norte abrigando mais de 185 espécies, 61 destas no estado de Rondônia, 37 em Roraima, 137 no Amazonas, 45 no Amapá, 22 no Maranhão, 14 em Tocantins, 84 no Acre, 67 em Mato Grosso e 104 no Pará (Guimarães et al., 2015).

O gênero *Piper* possui grande importância econômica, sendo *Piper nigrum* L. a espécie mais conhecida comercialmente, cujos frutos são fonte natural da pimenta-do-reino (Srinivasan, 2007). Essa especiaria é utilizada mundialmente e seu cultivo comercial é de grande importância para países como Índia, Indonésia, Vietnã, Malásia e Brasil (Simpson e Ogorzaly, 1995). Diversas revisões científicas sobre espécies do gênero *Piper* foram publicadas (Roersch, 2010; Gutierrez et al., 2013; Monzote et al., 2017). Inúmeras espécies dessa família têm sido utilizadas na medicina popular no tratamento de diversas doenças, principalmente em países do continente africano e na América do Sul. Miranda et al. (2002) salientam que o gênero *Piper* se destaca dentro da família por conter espécies que apresentam metabólitos secundários, como lignanas e amidas, usados na defesa contra a herbivoria.

Atualmente, o gênero *Piper* possui aproximadamente 2.000 espécies; entretanto, somente 112 foram investigadas fitoquimicamente, revelando a presença de 667 aleloquímicos diferentes (Dyer e Palmer, 2004). Reigada (2009) cita que, entre os aleloquímicos encontrados nesse gênero, os alcaloides são os compostos predominantes.

Tabela 1. Percentual de metabólitos secundários identificados em estudos fitoquímicos realizados com espécies de *Piper*.

Compostos isolados de <i>Piper</i>	
Composto	Quantidade
Alcalóides/ Amidas	28%
Lignanas/ Neolignanas	18%
Terpenos	14%
Propenilfenóis	6%
Flavonas/ Flavanonas	3%
Cavapironas	3%
Chalconas/ Diidrochalconas	3%
Esteróides	2%
Piperolídeos	1%
Compostos variados	22%

Fonte: Reigada, 2009.

A enorme variedade de compostos secundários encontrados em plantas do gênero *Piper* justifica o grande potencial dessas plantas na busca por novos inseticidas (Miyakado et al., 1989). O estudo fitoquímico do gênero *Piper* tem sido bem documentado por diversos autores (Parmar et al., 1998; Tripathi et al., 1995; Dyer e Palmer, 2004). Segundo Dyer e Palmer (2004), desde as revisões sobre o gênero elaboradas por Sengupta e Ray (1987) e Parmar et al. (1997), apenas 28 novas espécies foram investigadas e 69 novos compostos descobertos. Ainda segundo esses autores, apenas cerca de 10% de todas as espécies de *Piper* foram fitoquimicamente investigadas. Entre os compostos mais encontrados, destacam-se os alcalóides, amidas, lignanas, neolignanas, terpenos, propenilfenol, além de mais de 146 compostos diversos (Parmar et al., 1997).

Diversos aleloquímicos têm sido encontrados em todas as partes da planta e, por essa razão, as espécies do gênero *Piper* são amplamente estudadas, tanto na medicina em função das propriedades microbianas exibidas por seus constituintes quanto para controlar pragas e fungos fitopatogênicos de interesse agrônômico, além disso, podem apresentar efeito alelopático em certas culturas (Cabral, 2011; Junior Borella et al., 2012; Bigaton et al., 2013; Oliveira et al., 2013; Aires e Lima, 2014; Araújo et al., 2014; Figueredo et al., 2014; Piton et al., 2014). Feng et al. (2017) citam que os extratos etanólicos de *P. sarmentosum* têm forte atividade herbicida contra duas espécies de ervas daninhas, *E. crusgalli* e *A. retrofractum*.

Bernard (2011), testando a ação de diferentes óleos de diferentes espécies de plantas, verificou uma alta mortalidade dos insetos com o óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervum*), que causou 80% de mortalidade na concentração de 1,0%, e 100% de mortalidade nas concentrações mais altas (5,0 e 10,0%). Segundo o mesmo autor, seu óleo essencial é composto por 90% do fenilpropanoide safrol, que apresenta atividade inseticida contra inúmeros insetos. Estrela et al. (2006), em estudos referentes à composição química do gênero *Piper*, indicaram que seis amidas alcaloides isoladas especificamente da espécie *Piper guineense* Schum apresentaram atividade antialimentar para larvas de quinto instar de *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae), tendo as amidas mais ativas a piperina e a β e α -Diidropiperina. Além disso, esses autores testaram a atividade de amidas sintéticas análogas à piperina sobre a lagarta-do-cartucho e observaram, além da

mortalidade das lagartas, a ocorrência de anomalias morfológicas, prolongamento dos instares e redução do peso das larvas.

Fazolin et al. (2007) destacaram o potencial inseticida de *Piper hispidinervum*, relatando que o óleo essencial desta espécie é rico em safrol, componente químico aromático empregado como matéria-prima na manufatura de heliotropina, importante fixador de fragrâncias, e butóxido de piperonila, agente sinérgico natural de inseticidas. Costa e colaboradores (2004) consideraram satisfatório o controle da desfolha e a produtividade obtida com a utilização de extratos alcoólicos de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* comparados com o inseticida sintético carbaryl, no controle de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné na cultura da soja. Moralesa e colaboradores (2013) encontraram diferenças na composição de óleos da espécie *Piper hispidum*, atribuindo tal fato à localização geográfica, sazonalidade, idade fisiológica da planta e época de colheita. Neto et al. (2015) verificaram que extratos brutos, fracionados ou compostos isolados de *Piper corcovadensis* possuem potencial uso como herbicida em cultivos agrícolas.

Dyer et al. (2003) testaram o efeito inseticida de três amidas isoladas de *Piper cenocladum* sobre *Spodoptera frugiperda*. Os autores observaram que a mistura dessas amidas provocou um decréscimo no peso pupal, na sobrevivência e um aumento no tempo de desenvolvimento. A atividade inseticida de plantas desse gênero vem sendo testada principalmente em pragas de grãos armazenados, onde seu controle se mostrou eficiente para *Callosobruchus chinensis* L., *Sitophilus oryzae* L., *Rhyzopertha dominica* Fabr., *Acanthoscelides obtectus* Say. e *Callosobruchus maculatus* F. (Miyakado et al., 1979, 1980; Sighamony et al., 1986; Baier e Webster, 1992; Mbata et al., 1995; Kéï ta et al., 2000). A bioatividade de *Piper mollicomum* foi avaliada, por Lago et al. (2007), sobre fungos do gênero *Cladosporium* com resultados satisfatórios. Lopes et al. (2012) realizaram um estudo neurocomportamental com ratos para avaliar o efeito de extratos metanólicos de folhas de *Piper amalago*. Os autores verificaram que o extrato de dessa espécie afetou o sistema nervoso central dos ratos, diminuindo sua locomoção e exploração do ambiente, mas sem induzir toxicidade genética. Fadze et al. (2017) verificaram que a *Piper sarmentosum* reduz a pressão sanguínea em ratos hipertensos induzidos pela dexametasona. Já Brambilla et al. (2017), ao

estudarem técnicas de micoencapsulamento, relatam que extratos de *Piper regnellii* apresentam efeito antifúngico contra *Trichophyton rubrum*.

5.6 *Piper nigrum* L.

A *Piper nigrum* L. é conhecida como pimenta do reino ou pimenta da Índia. É uma planta nativa das montanhas costeiras tropicais do sudoeste da Índia, onde o comércio marítimo e terrestre com o mundo antigo começou há pelo menos 3.500 anos atrás. Os principais países produtores de pimenta-do-reino no mundo, considerando a produção média no período de 2010-2014, foram, pela ordem, o Vietnã com 122,8 mil toneladas, a Indonésia com 87,4 mil toneladas, a Índia com 49,6 mil toneladas, o Brasil com aproximadamente 44,9 mil toneladas e a China com 30,7 mil toneladas (FAO, 2018; Zhu et al., 2018). O Brasil, portanto, se destaca como um dos principais países produtores da pimenta-do-reino, posicionando-se entre os cinco maiores. Em 2016, a produção nacional alcançou a marca de 54.425 toneladas, em uma área colhida de 25.830 hectares (IBGE, 2017). Desse total, a produção está concentrada basicamente em três estados, a saber: o Pará, maior produtor, com 35.845 toneladas, seguido do Espírito Santo com 12.801 toneladas e a Bahia com 4.916 toneladas (Filgueiras et al. 2012; Moraes et al., 2018). Trata-se de uma planta trepadeira de grande produtividade e uma das mais valorizadas condimentares do mundo, com grande valor econômico, permitindo que essa atividade desenvolvida pelos pipericultores brasileiros seja altamente rentável (Moreira et al., 2006).

A *Piper nigrum* L. apresenta inflorescência em forma de espiga, chamada amentilho, e é composta de pequenas flores desprovidas de pétalas e sépalas. Os frutos são globosos, pequenos e não se abrem quando maduros. Apresentam também coloração verde-escura (quando imaturos) e vermelha (quando maduros), são plantas trepadeiras perenes com caule liso, redondo, nodoso e ramificado, sendo que sua propagação vegetativa é realizada a partir de estacas para obter um bom desenvolvimento (Garcia et al., 2000). A *Piper nigrum* L. é utilizada como ornamentação e também no círculo medicinal em forma de chás, infusão, banhos aromáticos tanto das raízes quanto do caule e dos frutos, estes últimos podendo ser consumido nas formas seca ou moída (Pissinate, 2006).

Arcanjo (2012) afirma que os frutos de *Piper nigrum*, ao longo das últimas décadas, tem sido objeto de estudos do ponto de vista fitoquímico e farmacológico e que tais estudos revelaram uma ampla variedade de metabólitos especiais presentes nesta espécie, dentre eles destacam-se: alcalóides/amidas, propenilfenóis, lignanas, neolignanas, terpenos, esteróides, cavapironas, piperolidas, chalconas, diidrochalconas, flavonas, flavononas e outros compostos, os quais são encontrados somente nesta espécie (Pamar et al.,1997). Cardoso et al. (2005) citam que algumas espécies do gênero *Piper*, como a pimenta-do-reino, contêm compostos fitotóxicos, solúveis em água que são liberados dentro do ambiente do solo por meio de folhas frescas, caules e tecidos da coroa, bem como de material seco, raízes em decomposição e sementes. Almeida (2017) verificou, através da análise por Ressonância Magnética Nuclear da fração obtida do extrato hidroalcoólico dos frutos maduros de *Piper nigrum*, que o principal composto identificado foi um alcaloide, classe de substâncias comuns no gênero *Piper*, estabelecido como piperina.

Diversas pesquisas têm indicado o uso de extratos dessa espécie no controle de diferentes pragas agrícolas, em especial, de insetos, além de seu uso medicinal e industrial. Por exemplo, Assis et al. (2015) constataram a grande eficiência de inibição do extrato bruto de pimenta do reino, em todas as concentrações, sobre a oxidação de aço carbono, chegando ao valor de até 97 % de inibição de corrosão na presença de 5000 mg L⁻¹ do extrato. Musetti (1991) constatou toxicidade dos extratos acetônico e metanólico de frutos secos de *Piper nigrum* para adultos de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), oferecendo proteção superior a 95% nas concentrações mais elevadas (12,5; 25 e 50%) e provocando efeito fagoinibidor. O extrato acetônico mostrou-se mais eficaz, proporcionando 100% de proteção já na dosagem de 25% e apresentando-se repelente contra os insetos. Fazolin et al. (2000) investigaram o efeito inseticida dos extratos de 15 espécies vegetais, sendo que oito apresentaram efeito significativo sobre *Cerotoma tingomarianus* (Coleoptera: Crysomelidae), dentre elas a pimenta-do-reino a 1%. O extrato da pimenta-do-reino na dose de 5% (p/v) com óleo mineral (0,5% v/v) apresentou uma eficiência de 71% no controle dos adultos de *Cerotoma arcuata* (Coleoptera: Crysomelidae) em folhas de soja.

Natali, et al. (2009) verificaram efeito alelopático de extratos aquosos de *Piper nigrum* sobre a germinação e crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.). Almeida et al. (2006) utilizaram frutos secos da pimenta do reino para extração em percolador com solvente álcool etílico nas concentrações (30%, 50% e 70%) sobre o gorgulho do feijão-caupi e causaram mortalidade acima de 90%. No entanto, em termos de valores absolutos, o extrato formulado com 70% de álcool foi o mais eficiente, matando todos os insetos a partir de 10 minutos de exposição. Tavares et al. (2011) avaliaram o efeito da amida piperina extraída de frutos de *P. nigrum* sobre ovos de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* e *Diatraea saccharalis* Fabr. nas concentrações de 1 e 2%. Os autores concluíram que, em ovos com 24 horas de idade, a concentração de 1% de piperina foi suficiente para suprimir a eclosão de lagartas das espécies estudadas em cerca de 90%.

Scolpel et al. (2018) relataram atividade inseticida em macerados de *Piper nigrum* sobre a sobrevivência de *Sitophilus zeamais* causando mortalidade de 49% nessa espécie. Segundo Chaudhry e Tariq (2006), estudos têm mostrado que o extrato aquoso obtido da *Piper nigrum* L. mostrou eficácia contra 176 espécies de bactérias isoladas na cavidade bucal, pertencentes a 12 gêneros distintos. Em 75% dos casos, esse potencial é superior ao da decocção aquosa de outras plantas, como o Louro, coentro e o anis, e que o seu extrato aquoso e etanólico apresentaram atividade antibacteriana contra o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*. Abbasi et al. (2010), Simas et al. (2007), Romão et al. (2008), e Upadhyay e Jaiswal (2007) demonstraram que metabólitos secundários da planta como as piperamidas possuem atividade inseticida. Carnevalli e Araújo (2013) Observaram, dentre os estudos arrolados, que os princípios ativos encontrados na *Piper nigrum* L., ou seja, a piperina e a capsaicina, possuem reconhecida ação anti-inflamatória, antioxidante, analgésica e outras capazes de otimizar processos cicatriciais, combater fungos e bactérias, melhorar a circulação sanguínea, bem como combater os sinais do envelhecimento ocasionados por radicais livres, quando consumidas e ingeridas em quantidades apropriadas, provavelmente devido ao efeito antioxidante. Leal et al. (2018) observaram significativa atividade antifúngica de extratos de pimenta do reino sobre o crescimento micelial de *Fusarium*

oxysporum, *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.. Além disso, esses autores citam o alcaloide piperina como principal composto com essa propriedade.

Podemos observar que, com poucas exceções, a maioria das pesquisas reflete a importância da *Piper nigrum* L. quanto às suas propriedades na saúde humana, em seu papel bactericida, inseticida e fungicida e até mesmo em processos industriais. Entretanto, o potencial herbicida de extratos de *Piper nigrum* L. ou mesmo da própria piperina é pouco investigado e, tal situação, indica a necessidade de pesquisas nesse aspecto.

5.7 Piperina

Nos últimos tempos o gênero *Piper* vem ganhando destaque por apresentar compostos biologicamente ativos, como é o caso da piperina na qual tem maior atividade inseticida do que as piretrinas (Bernard et al., 1995; Santos et al., 2010). Meghwal e Goswami (2013) afirmam que a piperina é o principal composto bioativo da *Piper nigrum* e da *Piper longum*. A piperina é um alcalóide amídico, componente majoritário da pimenta do reino, tal alcalóide pode influenciar o desenvolvimento das plantas principalmente a germinação, tendo efeitos alelopáticos (Molish, 1937). Segundo Pedrol et al. (2006), a inibição da germinação das sementes e do crescimento inicial das plântulas é a etapa mais afetada, e os efeitos fisiológicos causados por interações alelopáticas são respostas secundárias de efeitos primários que ocorrem no metabolismo das plantas.

Diversos autores afirmam que a piperina está entre as amidas alcaloides de maior prevalência no gênero *Piper* (Fani, 1992; Roger, 1998; Chaudhry e Tariq, 2006; Pissinate, 2006; Bomtempo, 2007; Meghwal e Goswami, 2013) e, de acordo com Roger (1998) e Cardoso et al. (2005) este alcalóide sofre uma biotransformação e se desdobra em ácido piperico e piperidina. Scott et al. (2005) afirmaram que a eficiência dos extratos de *Piper* spp. como inseticida botânico tem sido correlacionada com a concentração de piperamidas. Esses mesmos autores seguem informando que essas amidas apresentam propriedades neurotóxicas, responsáveis pela morte imediata do inseto e demanda apenas um efeito residual curto. O modo de ação desses compostos sobre insetos é variado, incluindo

toxicidade por contato, além de propriedades repelentes e antialimentares (Navickiene et al., 2000; Scott et al., 2004, 2005; Fazolim et al., 2007).

Segundo Parmar et al. (1997), essas amidas são abundantes nesse gênero, principalmente em sementes de *Piper nigrum* L., e apresentam grande importância ecológica e econômica. Diversos pesquisadores como Bomtempo (2007), Bong (2010), Cardoso et al. (2005) Abbasi et al. (2010) e Khan et al. (2010) reconhecem que a piperina possui reconhecida atividade citotóxica inibindo várias vias citocrômicas. Yun et al. (2018) afirmam que os alcaloides do tipo piperina, ou outros compostos com uma estrutura semelhante, podem ser agentes terapêuticos úteis para o tratamento da depressão. Borella et al. (2011) mencionam que alterações em nível celular, fitormonal, fotossintético e respiratório, síntese protéica, metabolismo lipídico e de ácidos orgânicos, inibição ou estimulação da atividade enzimática específica, efeitos sobre a relação da água e efeitos sobre a síntese de DNA ou RNA compreendem efeitos diretos ocasionados pelos aleloquímicos.

Park et al. (2002) estudaram as propriedades inseticidas de amidas extraídas de *Piper nigrum* e encontraram forte efeito larvicida no extrato metanólico de frutos sobre os mosquitos *Culex pipiens pallens* Coquillett, *Aedes aegypti* L. e *Aedes togoi* Theobald. As piperamidas, encontradas em espécies desse gênero, são moléculas que apresentam dupla atividade biológica, uma amida isobutilica neurotóxica e um grupamento metilendioxifenílico, importante inibidor de monoxigenases dependentes de citocromo P-450, muito utilizadas como sinergistas em inseticidas naturais e sintéticos (Bernard et al., 1995). Essas enzimas apresentam um papel importante na transformação oxidativa de moléculas endógenas e xenobióticos. A inibição dessa enzima promovida por extratos de plantas do gênero *Piper* impedem a detoxificação pelo inseto (Meyer, 2005). Nesse sentido, vale destacar que a presença de diferentes modos de ação em uma única molécula é uma característica promissora para o controle de insetos, principalmente aqueles resistentes a inseticidas (Parmar et al., 1997; Dyer e Palmer, 2004; Scott et al., 2004).

Diante da revisão acima, é possível perceber que a maioria das pesquisas sobre a espécie *Piper nigrum* L. e a piperina se concentra em seu papel como fármaco, como fungicida e, principalmente, como inseticida. Poucas pesquisas sobre o potencial herbicida e o mecanismo de interferência da piperina no controle de

plantas daninhas foram realizadas apesar dos resultados promissores acima citados. Diante desse quadro, o presente trabalho se propõe a investigar o potencial alelopático da espécie *Piper nigrum* L. bem como os mecanismos de interferência da piperina no metabolismo de plantas cultivadas e invasoras como a *Lactuca sativa* L. e o *Panicum maximum* Jacq., respectivamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASI, B.H. Conventional and modern propagation techniques in *Piper nigrum*. **J. Med. Plants. Res.**, v.4, nº 1, p.7-12, 2010.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Brasília: ANVISA, 2013- Anual. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **O Relatório Final do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. 2012. Disponível em:
- AIRES, I.C.S.; LIMA, R.A. Potencial fungicida do extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Candida albicans* in vitro. **Revista Eletrônica de Biologia**. Rondônia, n3, 2014.
- ALMEIDA, F. DE A. C.; SILVA JÚNIOR, P. J. DA; SILVA, J. F. DA; LINO, T. F. L.; SILVA, R. G. DA. Infestação e germinação em sementes de milho tratadas com extratos de *Piper nigrum* e anonas quamosa. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n. Especial, p.411-426, 2011.
- ALMEIDA, L.A.. Caracterização fitoquímica de *Piper nigrum* L. **Monografia**. Universidade Federal do Ceará. 2017.
- ALMEIDA, S.D.B. et al. Sorção de Triazinas em Solos Tropicais e pré-seleção para recomendação de uso na região de Ubatuba. In: CONGRESSO IBEROAMERICANO DE FÍSICA Y QUÍMICA AMBIENTAL, 4. 2006. São Paulo. **Anais...** São Paulo, v.2. p.17- 24. 2006.
- ALVES, C.C.F.; ALVES, J.M.; SILVA, T.M.S.; CARVALHO, M.G.; JACOB NETO, J.. Atividade alelopática de alcaloides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e Ambiente**, v.10, nº1. 2003.
- ARAÚJO, E.R.; HARAND, W.; LIMA, I.C.; DIAS, F.C.R.; SANTANA, A.A.D.; CARVALHO, R.R.C. E LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, n.2, fev. 2014.
- ARCANJO, W.. Efeito na germinação e crescimento em plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) tratadas com extratos aquosos e alcoólico de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Monografia**. Universidade Estadual de Goiás, 2012.
- ARCHIBOLD, A.A.D.; SANTANA, A.I.; GUPTA, M.P.. Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus *Piper* in Panama: A review. **Journal of Ethnopharmacology**. 217, 63–82. 2018.
- ASSIS, B. V. R.; MEIRA, F. O.; PINA, V. G. S. S.; ANDRADE, G. F.; COTRIM, B. A.; RESENDE, G. O.; D'ELIA, E.; SOUZA, F. C.. Efeito Inibitório do Extrato de *Piper Nigrum* L. sobre a Corrosão do Aço Carbono em Meio Ácido. **Rev. Virtual Quim**. Vol. 7, Nº 5. 2015.

- BAIER, A. H.; WEBSTER, B. D. Control of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) in *Phaseolus vulgaris* L. seed stored on small farms-1. Evaluation of damage. **Journal of Stored Products Research**, v. 28. 1992.
- BARBOZA, H.T.G.; NASCIMENTO, X.P.R.; FREITAS-SILVA, O.; SOARES, A.G.; DACOSTA, J.B.N.. Compostos Organofosforados e seu Papel na Agricultura. **Rev. Virtual Quim.** Vol. 10, nº 1. 2018.
- BELZ, R.G.; HURLE, K.. A novel laboratory screening bioassay for crop seedling allelopathy. **J Chem Ecol.** 2004.
- BERNARD, C. B. et al. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **J. Chem. Ecol.**, v.21, n.6. 2011.
- BERNARD, C. B.; KRISHANMURTY, H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGENE, B. J. R.; SANCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROM, L.; ARNASON, J. T.. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, nº 6. 1995.
- BESSA, T; TERRONES, M. G.H; SANTOS, D.Q. Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus*. **Revista Floresta e Ambiente** v.17, p.52-55, 2010.
- BHOWMIK, P. C.; INDERJI, T.. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. **Crop Protection**, v. 22, n. 4. 2003.
- BIGATON, D.; BACCHI, L.M.A.; FORMAGIO, A.S.N.; GAVASSONI, W.L.; ZANELLA, C.S.. Avaliação da atividade fungicida de extratos e óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, CE, n. 4, dez, 2013.
- BOARETTO, A.E.. A evolução da população mundial, da oferta de alimentos e das ciências agrárias. **Revista Ceres**. 56(4): 513-526, 2009.
- BOMTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde**. São Paulo: Alaude, 2007.
- BONG, C.F.J.. Pellitorine, a Potential Anti-Cancer Lead Compound against HL60 and MCT-7 Cell Lines and Microbial Transformation of Piperine from *Piper Nigrum*. **Molecules**, v.15, nº 4. 2010.
- BRAMBILLA, L.Z.S.; ENDO, E.H.; CORTEZ, D.A.G.; LIOMA, M.M.S.; DIAS FILHO, B.P.. *Piper regnellii* extract biopolymer-based microparticles: production, characterization and antifungal activity. **Journal of Applied Microbiology**. Vol. 24. 2017.
- BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; PASTORINI, L.H.. Potencial alelopático de extratos aquosos de frutos de *Solanum americanum* Mill. sobre as sementes de rabanete. **Rev. Bras. Ciênc. Agrár.**, Recife, v.6, nº 2. 2011.

BRIGHENTI, A., M.; OLIVEIRA, M., F.. Biologia de plantas daninhas. *In*: Oliveira Junior, R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H.. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. 1ª ed. Curitiba: Omnipax; 2011.

CABRAL, D.. Eficácia de *Piper nigrum* E *Chenopodium ambrosioides* no controle do inseto-praga de grãos armazenados *Sitophilus zeamais*. 2011. 27p. **Monografia** (Graduação em Agronomia e medicina Veterinária) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2011.

CARDOSO, J. F. R.; WARDINI, A. B.; EVANGELISTA, D. W.; VIANA, E. B.; et al.. Avaliação do efeito tóxico da piperina isolada da pimenta do reino (*piper nigrum* L) em camundongos. **Rev. Univ. Rural**, Sér. Ci. Vida. Seropédica, v. 25, n. 1, p.85-91, 2005.

CARNEVALLI, D.B.; ARAÚJO, A.P.S.. Atividade Biológica da Pimenta Preta (*Piper nigrum* L.): Revisão de Literatura. **Uniciências**, v. 17, n. 1. 2013.

CASSAL, V.B.; AZEVEDO, L.F.; FERREIRA, R.P.; SILVA, D.G.; SIMÃO, R.S.. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **REGET** - V. 18, nº 1. 2014.

CHAUDHRY, N.M.; TARIQ, P. Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. **Pak J. Pharm. Sci.**, v.19, nº 3. 2006.

COLTURATO, A. B.; FURTADO, E. L.. Controle de *Botryosphaeria ribis* causador de seca de ponteiro em *Corymbia citriodora*, com extratos vegetais e fungicidas. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, n. 3, jun. 2011.

COSTA, R.B; CONTINI, A.Z; MELO, E.S.P.. Sistema reprodutivo de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg e *Vochysia haenkiana* (Spreng.) Mart. em fragmento de cerrado na Chapada dos Guimarães – MT. **Ciênc. Rural**, v.33, n.2. 2004.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O.. Natural products in crop protection. **Bioorganic Med Chem**. 2009.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M.F; FRANCO, G.A.D.C.. Threats to the Cerrado remnants of the state of São Paulo, Brazil. **Scientia agricola**, 64(4): 355-363. 2007.

DYER, L. A.; DODSON, C. D.; STIREMAN III, J. O.; TOBLER, M. A.; SMILANICH, A. M.; FINCHER, R. M.; LETOURNEAU, D. K. Synergistic effects of three Piper amides on generalist and specialist herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 11, p. 2499-2514, 2003.

DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology and evolution. New York: **Kluwer Academic/Plenum Publishers**, 2004.

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

FADZE, N.F.; UGUSMAN, A.; AMINUDDIN, A.; ZAKARIA, Z.; MOHD NORDIN,

N.A.M.. *Piper Sarmentosum* Reduces Blood Pressure in Dexamethasone-Induced Hypertensive Rats. **International Journal of Cardiology**. Vol. 249, Supplement. 2017.

FANI, M. **Funcionais nutracêuticos**. São Paulo: Insummus, 1992.

FAO. Food and Agriculture of the United Nations. **Statistical Databases**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>> Acesso em: 05 de dez. 2018.

FAVARETTO, A.; SANTOS, J.; CARNEIRO, C.M.; SCHEFFER-BASSO, S.M.S.. The first anatomical and histochemical study of tough lovegrass (*Eragrotis plana* Nees, Poaceae). **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n.30, p.2940-2947, 2015.

FAZOLIN, M. et al. Efeito deterrente de extratos vegetais sobre *Cerotoma tingomarianus* Bechyné em plantas de feijão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Academia Cearense de Ciências, p. 59. 2000.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. D. Insecticidal properties of essential oils of *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum against *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, nº 1. 2007.

FENG, G.; CHEN, M.; YE, H.C.; ZHANG, Z.K.; LI, H.; CHEN, L.L.; CHEN, X.L.; YAN, C.; ZHANG, J.. Herbicidal activities of compounds isolated from the medicinal plant *Piper sarmentosum*. **Industrial Crops e Products**. 132, 41-47. 2019.

FIGUEREDO, F.G.; TINTINO, S.R.; BRITO, D.I.V.; BRAGA, M.F.B.M.; LEITE, N.F.; LUCENA, B.F.F.; SOUZA, C.E.S.; GOMEZ, M.C.V.; COUTINHO, H.D.M. Avaliação das potenciais atividades tripanocida e antileishmania do extrato de folhas de *Piper arboreum* (Piperaceae) e de suas frações. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 1, Crato, CE, n.2, jul. 2014.

FILGUEIRAS, G.,C.; HOMMA, A., K., O.; SANTOS, M., A., S.; MOTA JUNIOR, K., J., A.; SILVA, S., C.. A exploração da pimenta do reino como alternativa de sustentabilidade socioeconômica e ambiental no estado do Pará. **VI Encontro Nacional da Anppas**. Belém/Pará. 2012.

Flowering plants; Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families. **Springer Verlag**, Berlin. 1993.

FRODIN, D. G. History and concepts of big plant genera, **Taxon**, v. 53, n. 3, p. 753-776, 2004.

FOLLAK, S.; SCHLEICHER, C.; SCHWARTZ, C.; ESSL, F.. Major emerging alien plants in Austrian crop fields. **Weed research**. Volume 57. 2017.

GARCIA, J.; KAMADA, T.; JACOBSON, T. K. J.; CURADO M. A.; OLIVEIRA, S. M. Superação de dormência em sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.30, n.2, p.51-54, 2000.

- GUIMARÃES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do nordeste brasileiro. I. **Rodriguésia**, CE, v. 55, 46p. 2004.
- GUIMARAES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E.S.. Piperaceae in **Lista de Espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013.
- GUTIERREZ, R.M.; GONZALEZ, A.M.; HOYO-VADILLO, C.. Alkaloids from *Piper*: a review of its phytochemistry and pharmacology. **Mini Rev. Med. Chem.** 13, 163–193. 2013.
- IBGE. Instituto brasileiro de Geografia e Estatística. **Levanto Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE. v.30 n.1 p.1-81, 2017.
- JABRAN, K.; MAHAJAN, G.;SARDANA , V.;CHAUHAN, B.S. Allelopathy for weed control in agricultural systems. **Crop Protection**. 2015.
- JUNIOR BORELLA, MARTINAZZO, E.G.; AUMONDE, T.Z.; AMARANTE, L. D; MORAES, D.M.; VILLELA, F. A. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasilica**, Pelotas, RS, n.2, mar. 2012.
- KATO, M.J.; FURLAN, M.. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**. 2007.
- KAUSHAL, P.; DWIVEDI, K.K.; RADHAKRISHNA, A.; SAXENA, S.; PAUL, S.; SRIVASTAVA, M.K.; BAIG, M.J.; ROY, A.K.; MALAVIYA, D.R.. Ploidy dependent expression of apomixis and its components in guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.). **Euphytica**. 214:152. 2018.
- KÉÏ TA, S. M.; VINCENT, C.; SCHMIT, J. P.; RAMASWAMY, S.; BÉLANGER, A. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 36, n. 4. 2000.
- KHAN, S. et al. Development of RAPD markers for authentication of *Piper nigrum* (L.). **Environ We Int J Sci Tech.**, v.5, nº1. 2010.
- KIM, S.I.; ROH, J.Y; KIM, D.H.; LEE, H.S.; AHN, Y.J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, Botucatu, n.4, jul. 2003.
- KLEUNEN, M.; BOSSDORF, O.; DAWSON, W.. The Ecology and Evolution of Alien. **Plants Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** 49:25–47. 2018.
- LAURA Y. CABRERA, L.Y.. *Pesticides - A Case Domain for Environmental Neuroethics*. **Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics**. 26, 602–615. 2017.
- LEAL, M.P.S.; CORRÊA, E.B.; SILVA, Y.S.S.; FERREIRA, T. N.F.; BATISTA, A.S.; SILVA, E.D.. Efeito de extratos vegetais no crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. isolados de sementes de milho crioulo.

Cadernos de Agroecologia – Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF – Vol. 13, N° 1. 2018.

LOPES, J. J.; MARX, C.; INGRASSIA, R.; PICADA, J. N.; PEREIRA, P.; FERRAZ, A. D. B. F. Neurobehavioral and toxicological activities of two potentially CNS-acting medicinal plants of Piper genus. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 1. 2012.

LOZANO, V.. *Panicum maximum* Jacq. In: Herrera, I.; Goncalves, E.; Pauchard, A.; Bustamante, R.O. (Org.). **MANUAL DE PLANTAS INVASORAS DE SUDAMÉRICA**. 1ª ed. Trama Impresores S.A.. Chile. 2016.

Lucena, R.B.; Rissi, D.R.; Maia, L.A.; Flores, M.M.; Dantas, A.F.M.; Nobre, V.M.T.; et al. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.5, p.447-452, 2010.

MAHBOOBI, N., HEIDARIAN, A.R.. Allelopathic effects of medicinal plants on germination and seedling growth of some weeds. **J. Fundam. Appl. Sci.** 8, 323–336. 2016.

MANTOANI, M.C.; ANDRADE, G.R.; CAVALHEIRO, A.L.; TOREZAN, J.M.D.. Efeitos da invasão por *Panicum maximum* Jacq. e do seu controle manual sobre a regeneração de plantas lenhosas no sub-bosque de um reflorestamento. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 97-110, jan./jun. 2012.

MBATA, G. N.; OJI, O. A.; NWANA, I. E. Insecticidal action of preparation from the brown pepper, *Piper guineense* Schum, seeds to *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). **Discovery and Innovation**, v. 7, p. 139-142, 1995.

MEGHWAL, M.; GOSWAMI, T.K.. *Piper nigrum* and Piperine: An Update . **Phytother. Res.** 27: 1121–1130. 2013.

MEINERS, S.J.; PHIPPS, K.K.; PENDERGAST, T.H.; CANAM, T.; CARSON, W.P.. Soil microbial communities alter leaf chemistry and influence allelopathic potential among coexisting plant species. **Oecologia**. 183:1155–1165. 2017.

MENEZES, E.L.A.. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Seropédica**, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

MFARREJ, M.F.B.; RARA, F.M.. Competitive, Sustainable Natural Pesticides. **Acta Ecologica Sinica**. [https://doi.org/ 10.1016/j.chnaes.2018.08.005](https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.08.005). 2018.

MIGNONI, D.S.B.; KELLY SIMÕES, K; BRAGA, M.R.. Potential allelopathic effects of the tropical legume *Sesbania virgata* on the alien *Leucaena leucocephala* related to seed carbohydrate metabolism. **Biol Invasions**. 20:165–180. 2018.

MIRANDA JE; OLIVEIRA JE de M.; ROCHA KCG; BORTOLI SA; NAVICKIENE HMD; KATO MJ; FURLAN M.. Potencial inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Piperaceae) sobre *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, n.2, ago. 2002.

MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; OHNO, N.. Insecticidal unsaturated isobutylamides: from natural products to agrochemical leads. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. (Eds.). *Insecticides of plant origin*. Washington: **American Chemical Society**, 1989.

MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; YOSHIOKA, H. Insecticidal joint action of piperide and co-occurring compounds isolated from *Piper nigrum* L. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 44, n. 7. 1980.

MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; YOSHIOKA, H.; NAKATANI, N. The Piperaceae amides I : Structure of piperide, a new insecticidal amide from *Piper nigrum* L. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 43, p. 1609-1611, 1979.

MOLISCH, H. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere Allelopathie**. Jena: Fischer. 1937.

MONZOTE, L.; SCULL, R.; COS, P.; SETZER, W.N.. Essential oil from *Piper aduncum*: chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. *Medicines* 4, 1–14. 2017.

MORAES, A.J.G.; SILVA, E.S.A.; ALMEIDA, E.N.; MENEZES, A.J.E.A.. Avaliação dos impactos econômico, social e ambiental do cultivo da pimenteira- do-reino com tutor vivo de gliricídia no estado do Pará. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 4, n. 7, Edição Especial. 2018.

MORAIS, F.C. Síntese e avaliação da atividade herbicida de derivados da lumissantonina. 2013.144p. **Dissertação** (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa Minas Gerais – Brasil, 2013.

MORALES, A.; ROJASA, J.; MOUJIRB, L. M.; ARAUJOB, L.; RONDÓN, M. Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activities of *Piper hispidum* Sw. essential oil collected in Venezuela. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, local, n.06, Jun. 2013.

MOREIRA, G.R.; CALIMAN, F.R.B.; SILVA, D.J.H.; RIBEIRO, C.S.C.. Espécies e variedades de pimenta. **Informe Agropecuário**; 27(235): 16-29. 2006.

MUSETTI, L.. Avaliação de efeitos de extratos de *Piper nigrum* L. sobre adultos de *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Coleoptera, Curculionidae). **Dissertação**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1991.

NATALI, R. L.; ARCANJO, W.; JÚNIOR, A. C. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G.. Efeitos na germinação e crescimento em plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) tratadas com extratos aquosos de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) e pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **49º congresso brasileiro de química**. Porto Alegre, rio grande do sul. 2009.

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

NETO, A.C.A.; BARBOSA, U.N.; MONTEIRO, A.L.B.. Avaliação do potencial alelopático de *Piper corcovadensis* sobre a germinação de *Lactuca sativa*. **Arrudea**, Recife, Vol.1, nº1. 2015 .

NUNES, G.E.. Levantamento de invasão da gramínea *Brachiaria decumbens* em área inserida no arboreto da UNB. **Monografia**. Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Humanas, Departamento de Geografia. 2012.

OLIVEIRA, F.M.; SILVA, G.M.N.; LIMA, A.S.; SANTOS, K.P.P.; BATISTA, W.F.M.; BARROS, R.F.M.. Agrotóxicos: impactos sobre o meio ambiente e saúde dos agricultores na comunidade Graciosa / José de Freitas / PI / Brasil. Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – **Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF** – Vol. 13, Nº 1, Jul. 2018.

OLIVEIRA, G.L.; CARDOSO, S.K.; LARA JÚNIOR, C. R.; VIEIRA, T.M.; GUIMARÃES, E.F.; FIGUEIREDO, L.S.; MARTINS, E.R.; MOREIRA, D.L.; KAPLAN, M.A.C. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). In: **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, local, 2013.

ONU. United Nations, Department of Economic and Social Affairs. **World Population Prospects: The 2012 Revision**.

PANG, Y-P.; BRIMIJOIN, S.; RAGSDALE, D. W.; ZHU, K. Y.; SURANYI, R. Novel and viable acetylcholinesterase target site for developing effective and environmentally safe insecticides. **Current Drug Targets**, n.4, abr. 2012.

PARK, I. K.; LEE, S. G.; SHIN, S. C.; PARK, J. D.; AHN, Y. J. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, nº 7. 2002.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, nº 4. 1997.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; GUPTA, S.; TALWAR, S.; RAJWANSHI, V. K.; KUMAR, R.; WENGEL, S. K. S. Polyphenols and alkaloids from *Piper* species. **Phytochemistry**, v. 49, n. 4, p. 1069-1078, 1998.

PARRA, J. E.; DELGADO, W. A.; CUCA, L. E.. Cumanenic acid, a new chromene isolated from *Piper cumanense* Kunth. (Piperaceae). **Phytochemistry**. 2011.

PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L.; REIGOSA, M. J.. Allelopathy and abiotic stress. In: REIGOSA, M.J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds.). Allelopathy: a physiological process with ecological implications. **Dordrecht: Springer**. 2006.

PELAEZ, V.; MELO, M.; HOFMANN, R.; HAMERSCHMIDT, P.; MEDEIROS, G.; MATSUSHITA, A.; TEODOROVICZ, T.; MOREIRA, F.; WELINSKI, J.; HERMIDA, C. **Monitoramento do mercado de agrotóxicos**. Departamento de Economia, UFPR, 2010.

- PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. **Dissertação de Mestrado** apresentado à Instituto de Ciências Exatas- UFRRJ, p.1-110, 2006.
- PITON, L.P.; TURCHEN, L.M.; BUTNARIU, A.R.; PEREIRA, M.J.B.. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural**, Santa Maria, n.11, nov, 2014.
- QIMING, X.; HAIDONG C.; HUIXIAN, Z.; DAQIANG ,Y.. Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystin aeruginosa*. **Acta Ecol. Sinica**. 26(11):3549-54. 2006.
- QIN, F.; LIU, S.; YU, S.. Effects of allelopathy and competition for water and nutrients on survival and growth of tree species in *Eucalyptus urophylla* plantations. **Forest Ecology and Management**. 2018.
- QUEIROZ, G.A.. Piperaceae in: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015.
- ROCKENBACH, A.P.; RIZZARDI, M.A.; NUNES, A.L.; BIANCHI, M.A.; CAVERZAN, A.; SCHNEIDER, T.. Interferência entre plantas daninhas e a cultura: alterações no metabolismo secundário. **Rev. Bras. Herb.**, v.17, n.1, p.59-70, jan./mar. 2018
- ROERSCH, C.M.F.B.. *Piper umbellatum* L.: a comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. **J. Ethnopharmacol.** 131, 522–537. 2010.
- ROGER, J.D.P. **Plantas mágicas: enciclopédia de plantas medicinais**. São Paulo: Planeta do Brasil, 1998.
- ROMÃO, J.A. et al.. Toxicidade de extratos de *Piper nigrum*, piperina e piperamidas para o diplópodo *Orthoporus fuscipes* em condições de laboratório. **Rev. Bras. Toxicol.** V.21, n.1, p.33-38, 2008.
- SAMPAIO, A.B.; SCHMIDT, I.B.. Espécies exóticas invasoras em Unidade de Conservação Federais do Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, 3(2):32-49. 2013.
- SAMSIDAR, A.; SIDDIQUEE, S.S; SHAARANI, S.M.. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. **Trends in Food Science & Technology**.71, 188–201. 2018.
- SANGEETHA, C.; BASKAR, P. Allelopathy in weed management: A critical review. **Jornal Africano of Agricultural**; Vol.10 (9). 2015.
- SANTORE, T.. Atividade alelopática de extratos de plantas medicinais sobre a germinação de corda-de-viola (*Ipomoea nil* (L.) Roth.). 2013. 28p. **Monografia** (Graduação em Tecnologia em Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná. Palotina – PR, Agosto de 2013.

SANTOS, M. R. A. dos; SILVA, A. G.; LIMA, R. A.; LIMA, D. K. S.; SALLET, L. A. P.; TEIXEIRA, C. A. D.; POLLI, A. R.; FACUNDO, V. A.. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Revista Brasileira Botânica**, V.33, nº 2. 2010.

SCOPEL, W.; SCOPEL, E.L.; BOTTEON, V.W.; ROZA-GOMES, M.F.. Bioatividade de macerados de *Anthemis* sp., *Coriandrum sativum* e *Piper nigrum* contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Evidência**. Vol. 18 Issue 1, p95-109. 15p. 2018.

SCOTT, I. M.; GAGNON, N.; LESAGE, L.; PHILOGÈNE, B. J. R.; ARNASON, J. T. Efficacy of botanical insecticides from *Piper* species (Piperaceae) extracts for control of European chafer (Coleoptera: Scarabaeidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 98, nº 3. 2005.

SCOTT, I. M.; JENSEN, H.; NICOL, R.; LESAGE, L.; BRADBURY, R.; SANCHEZ-VINDAS, P.; POVEDA, L.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, nº 4. 2004.

SENGUPTA, S.; RAY, A. B.. The chemistry of *Piper* species: a review. **Fitoterapia**, v. 58, p. 157-166, 1987.

SHAH, A.N.; IQBAL, J.; ULLAH, A.; YANG, G.; YOUSAF, M.; FAHAD, S.; et al. Allelopathic potential of oil seed crops in production of crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.23, n.15, p.14854-14867, 2016.

SHOKOUHIAN, A.; HABIBI, H.; AGAHI, K.. Allelopathic effects of some medicinal plant essential oils on plant seeds germination. **J. BioSci. Biotechnol.** 5(1): 13-17. 2016.

SIGHAMONY, S.; ANEES, I.; CHANRAKALA, T.; OSMANI, Z. Efficacy of certain indigenous plant products as grain protectants against *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.). **Journal of Stored Products Research**, v. 22. 1986.

SILVA, C. P.; RICCI, T. G.. Bioprospecção de espécies de plantas bioherbicida e bioinseticida. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e Agrárias Produção/construção e tecnologia**, v. 6, n. 10, 2017.

SILVA, E.S.; SANTOS, C.A.; DIAS, K.S.; SOUZA, M.A.; SANTOS, A.F.; PAVÃO, J.M.S.J.. Cenário das pesquisas sobre alelopatia no Brasil e seu potencial como estratégia na diminuição da utilização de pesticidas que provocam poluição ambiental: uma revisão integrativa. **Diversitas Journal**. Santana do Ipanema/AL. vol 3, n. 2. 2018.

SILVA, I. A. B. et al. Interferência de uma comunidade de plantas daninhas com predominância de *Ipomoea hederifolia* na cana-soca. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 265-272, 2009.

- SILVA, P.D.. Determinação de compostos fenólicos por HPLC. 2012.136p. **Dissertação** (Mestrado em Química Industrial) - Universidade da Beira Interior. Covilhã, Outubro de 2012.
- SIMAS, N.K. et al. Potential use of *Piper nigrum* ethanol extract against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* larvae. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.40, n.4. p.405-407, 2007.
- SIMPSON, B. B.; OGORZALY, M. O. **Economic Botany: plants in our world**. 2. ed. New York: McGraw-Hill Inc., p 742. 1995.
- SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E.; CHASE, M. W. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. **Nature**, v. 402, n. 6760, p. 402-404, 1999.
- SOLTYS, D.; KRASUSKA U.; BOGATEK R.; GNIAZDOWSKA A.. Allelochemicals as bioherbicides - present and perspectives. In: PRICE A.J.; KELTON J.A. (eds) **Herbicides - current research and case studies in use**. InTech, Croatia. 2013.
- SOUZA, K.B.; RIBEIRO, K.C.; OCCHI, L.C.M.. O atual cenário do consumo de alimentos orgânicos. **Anais do IX Simpósio de Engenharia de Produção de Sergipe**. 2017.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H..Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de Angiosperma da flora brasileira. **Nova Odessa**: Instituto Plantarum, 640p. 2005.
- SRINIVASAN, K. Black pepper and its pungent principle piperine: A review of diverse physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 735-748, 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- TAVARES, W. S.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.. Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 21, p. 5301-5306, 2011.
- TEBBS, M.C. Piperaceae. In: KUBITZKI, K.;ROHWER, J.G. e BITTRICH, V. (eds).
- TEBBS, M.C.. Revision of *Piper* (Piperaceae) in the New World 1. Review of characters and taxonomy of *Piper* section *Macrostachys*. **Bulletin of the British Museum Natural History**. 1989.
- TRIPATHI, A. K.; JAIN, D. C.; KUMAR, S. Secondary metabolites and their biological and medicinal activities of *Piper* species plants. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v. 18, p. 302-321, 1995.
- UPADHYAY, R.K.; JAISWAL, G. Evaluation of biological activities of *Piper nigrum* oil against *Tribolium castaneum*. **Bull Insectol**, v.60, n.1, p.57-61, 2007.

VARGAS, L.G.; ANDRÉ ALVES PINHEIRO; A.A.; OLIVEIRA, G.D.; RIBEIRO, W.R.; DALVI, L.P.. análises dos efeitos alelopáticos de plantas daninhas EM *Cyperus rotundus*. **Revista Univap**. São José dos Campos-SP-Brasil, v. 22, n. 40, Edição Especial. 2016.

VERMA, R.S., JOSHI, N., PADALIA, R.C., GOSWAMI, P., SINGH, V.R., CHAUHAN, A., VERMA, S.K., IQBAL, H., VERMA, R.K., CHANDA, D., SUNDARESAN, V., DAROKAR, M.P.. Chemical composition and allelopathic, antibacterial, antifungal and in vitro, acetylcholinesterase inhibitory activities of yarrow (*Achillea millefolium* L.) native to India. **Ind. Crops Prod.** 104, 144–155. 2017.

WALLER, G.R.; FEUG, M.C.; FUJII, Y.. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. In: Inderjit I, Dakshini KMM, Foy C L. (Eds.). **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton: CRC Press. p. 75-98. 1999.

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**, 42: 477-497. 2007.

WORTHINGTON, M.; REBERG-HORTON, C.. Breeding cereal crops for enhanced weed suppression: optimizing allelopathy and competitive ability. **J. Chem. Ecol.** 2013.

X. Zhang; Q. X. Cui; Y. Zhao; H. Y. Li.. Allelopathic Potential of *Koeleria bipinnata* var. *integrifoliola* on Germination of Three Turf Grasses. **Russian Journal of Plant Physiology**, Vol. 65, No. 6, pp. 833–841. 2018.

YUN, Y.S ; NODA, S.; TAKAHASHI, S.; TAKAHASHI, Y.; INOUE, H.. Piperine-like alkaloids from *Piper nigrum* induce BDNF promoter and promote neurite outgrowth in Neuro-2a cells. **J Nat Med.** 72:238–245. 2018.

YUNCKER, T. G.. The Piperaceae of Brazil: I. Piper-group I, II, III, IV. **Hoehnea**, v. 2, p. 21-366, 1972.

YUNCKER, T. G.. The Piperaceae of Brazil: II. Piper-group V; Ottonia; Pothomorphe; Sarcorrhachis. **Hoehnea**, v. 3, p. 29-284, 1973.

YUNCKER, T. G.. The Piperaceae of Brazil: III. Peperomia; Taxa of uncertain status. **Hoehnea**, v. 4, n. 7, p. 1-236, 1974.

ZHU, F.; MOJEL, R.; LI, G.. Physicochemical properties of black pepper (*Piper nigrum*) starch. **Carbohydrate Polymers.** 181, 986–993. 2018.

ZILLER, S. R.; DECHOUM, M. S.. Plantas e vertebrados exóticos invasores em unidades de conservação no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, Brasília, v. 3, n. 2, p. 25-31, 2013.

CAPÍTULO 1

Potencial alelopático de extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L. sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Panicum maximum* Jacq.

Autores: Enes Follador Nogueira¹ • Viviana Borges Corte²

⁽¹⁾ Instituto Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

⁽²⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: enogueira@ifes.edu.br

Periódico a ser submetido ou submetido: Revista Nativa Pesquisas Agrárias e Ambientais

RESUMO

O aumento pela demanda por alimentos promove uma maior utilização de insumos agrícolas, entre eles, produtos agrotóxicos utilizados no controle de pragas diversas. Boa parte desses produtos tem impacto negativo tanto do ponto de vista ambiental quanto da saúde pública. Por essa razão, urge a necessidade de pesquisas acerca de produtos alternativos que diminuam tais impactos. Nesse sentido, a alelopatia se mostra como uma alternativa viável por possibilitar a identificação de substâncias naturais e de fácil biodegradação que poderiam substituir ou, pelo menos, diminuir o emprego dessas substâncias reconhecidamente nocivas aos ecossistemas naturais e à saúde humana. O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes e Ecofisiologia Florestal da Universidade Federal do Espírito Santo - LASEF/UFES. As folhas e sementes de *Piper nigrum* L. utilizadas na preparação dos extratos foram obtidas de um plantio comercial localizado no norte do Estado do Espírito Santo. Utilizaram-se sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), da variedade lisa e de capim colônia da variedade Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) obtidas comercialmente para os bioensaios. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado para as duas espécies (capim e alface), dois órgãos vegetais (folha e semente), três extratores (hexano, acetato de etila e metanol) e cinco concentrações (0 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L e 800 mg/L) com cinco repetições, totalizando 300 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma placa de Petri com 20 sementes. Objetivou-se avaliar a influência desses extratos no índice de velocidade de germinação (IVG), no percentual de germinação (G), no tempo médio de germinação (TMG), no índice de alelopatia (IA), no crescimento da parte aérea (CPA) e no crescimento radicular (CR) das sementes e plântulas de *Panicum maximum* Jacq. e *Lactuca sativa* L.. Os extratos foliares e de sementes, em todas as concentrações e extratores testados, não apresentaram fitotoxicidade ou apresentaram efeito inibitório muito pequeno sobre a germinação e crescimento inicial de sementes e plântulas de alface. No caso do capim colônia, os extratos de acetato de etila e metanólicos de sementes, nas maiores concentrações testadas, apresentaram os efeitos negativos mais significativos sobre a invasora. Dessa forma, foi possível inferir que extratos de sementes de *Piper nigrum* apresentam potencial utilização no controle da espécie daninha em questão.

Palavras-chave: Alelopatia • alface • capim colônia • controle • pimenta do reino

ABSTRACT

The increase in food demand promotes a greater use of agricultural inputs, among them, pesticides used to control various pests. Many of these products have a negative impact both from an environmental and public health point of view. For this reason, there is a need for research on alternative products that reduce such impacts. In this sense, allelopathy is shown as a viable alternative because it allows the identification of natural and easily biodegradable substances that could replace or at least reduce the use of these substances known to be harmful to natural ecosystems and human health. The work was carried out in the Laboratory of Seeds and Forest Ecophysiology of the Federal University of Espírito Santo - LASEF / UFES. The leaves and seeds of *Piper nigrum* L. used in the preparation of the extracts were obtained from a commercial plantation located in the north of the State of Espírito Santo. Seeds of lettuce (*Lactuca sativa* L.), of the smooth variety and guinea grass of the variety Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) Obtained commercially for the bioassays were used. The experimental design was completely randomized to two species (grass and lettuce), two plant organs (leaf and seed), three extractors (hexane, ethyl acetate and methanol) and five concentrations (0 mg / L, 200 mg / L, 400 mg / L, 600 mg / L and 800 mg / L) with five replicates, totaling 300 experimental units, in which each experimental unit was composed of a Petri dish with 20 seeds. The objective of this study was to evaluate the influence of these extracts on the germination rate index (IVG), germination percentage (G), mean germination time (TMG), allelopathy index (AI), shoot growth (CPA) and root growth (CR) of the seeds and seedlings of *Panicum maximum* Jacq. and *Lactuca sativa* L.. Leaf and seed extracts at all concentrations and extractors tested did not present phytotoxicity or had a very small inhibitory effect on germination and initial seed growth and lettuce seedlings, and the hexane extracts, in general, had a positive effect on these aspects of the cultivar. In the case of guinea grass, the ethyl acetate and methanolic extracts of seeds, in the highest concentrations tested, presented the most significant negative effects on the invasive one. Thus, it was possible to infer that *Piper nigrum* seed extracts present potential use in the control of the weed species in question.

Keywords: allelopathy • lettuce • guinea grass • control • pepper

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais limitações ao aumento da produtividade agrícola está relacionada ao controle de pragas e doenças (Silva et al., 2017). O aumento da demanda por alimentos e o avanço tecnológico popularizou o uso de pesticidas e herbicidas na agricultura. O mercado brasileiro de agrotóxicos aumentou em 190% na última década num ritmo de crescimento maior do que o dobro apresentado pelo mercado mundial (Rigotto et al., 2014). Bessa et al. (2010) salientam os impactos negativos dos agrotóxicos utilizados na agricultura convencional, despertando estudos que demonstram os danos bioacumulativos no ambiente, com estudos de monitoramentos, da avaliação da persistência destes produtos e da utilização no meio ambiente. Dentre os pesticidas empregados na agricultura destacam-se os herbicidas e inseticidas de última geração, correspondendo a maior parcela comercializada mundialmente (Ueta et al., 2001). No que se refere ao Brasil, os herbicidas respondem por 45% do consumo total de agrotóxicos (Rigotto et al., 2014), o que evidencia a importância dessa classe de insumos agrícolas em nossa realidade. Dessa forma, o conhecimento dos efeitos nocivos do uso de pesticidas químicos, associados à preocupação dos consumidores quanto à qualidade dos alimentos, têm incentivado estudos sobre novas técnicas de controle e manejo de pragas agrícolas (Tavares et al., 2009), incluindo-se a utilização de produtos naturais, que sejam menos agressivos ao ambiente, sendo que muitos são utilizados pelos agricultores há décadas, como os inseticidas de origem vegetal. Nesse contexto, os estudos sobre alelopatia se mostram bastante pertinentes pois possibilitam a descoberta e identificação de novas substâncias com potencial uso no controle de espécies vegetais daninhas e consequente redução do uso de herbicidas convencionais (Cornes, 2005; Haig et al., 2005, Mignoni et al., 2018).

A alelopatia tem sido descrita como qualquer efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico que uma planta exerce sobre outra, pela produção de compostos químicos ou aleloquímicos, liberados no ambiente (Rice, 1992). Em 1996, a IAS (International Allelopathy Society), ampliou a definição de alelopatia, agregando os processos que envolvem a produção de metabólitos secundários por plantas, micro-organismos, vírus e fungos que influenciam no crescimento e no desenvolvimento de sistemas florestais, agrícolas e biológicos. Os aleloquímicos interferem na conservação, dormência e germinação de sementes, crescimento de plântulas e no

vigor vegetativo de plantas adultas. Este último efeito pode influenciar em maior ou menor grau a competição entre espécies e interferir na regeneração natural ou crescimento de espécies introduzidas numa dada área, influenciando na constituição dos ecossistemas naturais (Felix, 2012; Arroyo et al., 2018). Os efeitos alelopáticos podem ser observados tanto sobre a germinação quanto sobre o crescimento da plântula sendo que, geralmente, o efeito é mais drástico sobre o crescimento do que sobre a germinação (Dalrymple e Rogers, 1983).

A maioria dessas substâncias provém do metabolismo secundário, sendo atribuída a estas a função de defesa e/ou proteção, pois durante o processo de evolução destas plantas estas substâncias representaram alguma vantagem contra a ação de micro-organismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento das plantas (Waller, 1999). Esses compostos devem ser utilizados como um método de controle eficaz, para redução dos custos, preservação do ambiente e dos alimentos da contaminação química, tornando-se prática adequada para agricultura sustentável (Souza Filho, 2006). Pesquisas visando a busca de novas moléculas químicas a partir de extratos vegetais com atividade herbicida tem aumentado de maneira significativa e parece ser a recente tendência no controle de ecossistemas agrícolas. Atualmente, inúmeras pesquisas têm direcionado seus objetivos na proteção do meio ambiente contra as agressões de herbicidas, de fungicidas e de inseticidas sintéticos comerciais, resultando em maior produtividade de culturas economicamente importantes (Reigosa e Pedro, 2002). Entretanto, o aleloquímico ideal a ser utilizado deve ter efeito inibitório sobre a espécie a ser controlada porém, não pode promover prejuízos ao crescimento da cultivar. Por essa razão o extrato vegetal pesquisado deve ser aplicado à daninha e a uma espécie cultivar de reconhecida sensibilidade. Segundo Favareto et al. (2018), a alface é considerada uma planta bioindicadora e tem sido utilizada em diversas pesquisas de alelopatia, pois apresenta rápida germinação e crescimento inicial uniforme, atributos desejáveis para experimentos que comparam os efeitos de diferentes tratamentos. O objetivo desse trabalho é verificar o potencial alelopático de extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L. sobre a germinação e crescimento inicial de sementes e plântulas de capim colônia (*Panicum maximum* Jacq.) e alface (*Lactuca sativa* L.)

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 *Delineamento experimental*

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes e Ecofisiologia Florestal da Universidade Federal do Espírito Santo - LASEF/UFES. Utilizaram-se sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), da variedade lisa e de capim colônia da variedade Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) obtidas comercialmente. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado para as duas espécies (capim e alface), dois órgãos vegetais (folha e semente), três extratores (hexano, acetato de etila e metanol) e cinco concentrações (0 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L e 800 mg/L) com cinco repetições, totalizando 300 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma placa de Petri com 20 sementes.

2.2 *Determinação do potencial hídrico dos extratos utilizados nos bioensaios de germinação e crescimento inicial de *Panicum maximum* e *Lactuca sativa*.*

O potencial hídrico dos extratos pode ter efeito inibidor sobre a germinação e desenvolvimento das plântulas e, portanto, pode ser confundido com o efeito alelopático negativo dos extratos ou até mesmo apresentar um efeito aditivo ao mesmo e, conseqüentemente, superestimar a ação do mesmo sobre as espécies testadas. Para excluir o efeito do potencial hídrico dos extratos sobre a germinação e crescimento inicial das espécies pesquisadas, esse parâmetro foi avaliado por meio de um potenciômetro WP4 da empresa BrasEq (Delgado e Barbedo, 2012) disponível no laboratório do Núcleo de Pesquisas em Sementes do Instituto de Botânica do Estado de São Paulo e, os resultados apresentados em MPa (Decagon 2001).

2.3 *Bioensaios de germinação e crescimento inicial de *Panicum maximum* e *Lactuca sativa* submetidos aos extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L..*

Folhas e sementes de pimenta do reino foram coletados de um cultivo comercial localizado no município de São Mateus, norte do Espírito Santo. Após a coleta, o material foi acondicionado em sacos de papel e depositados em estufa Solab modelo SL-100, com ventilação forçada, mantida a temperatura constante de 40°C durante 3 dias. Para a preparação dos extratos, após a desidratação, as sementes e folhas foram trituradas, separadamente, em liquidificador industrial Metvisa LAR2 por 20 minutos a temperatura ambiente. O material obtido foi submergido em

diferentes solventes com polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) e permaneceu macerando por 7 dias. Após esse período, o macerado foi filtrado em papel filtro e os extratos obtidos foram colocados para secar em capela com corrente de ar forçada. Após a secagem dos solventes, o material seco obtido foi diluído em água destilada para se obter as seguintes concentrações: 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L e 800 mg/L para cada um dos três extratores e para os dois órgãos vegetais. Afim de verificar a ação dos extratos sobre a germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas de alface e capim colônia, a água destilada foi utilizada como controle (0 mg/L). Para o teste de germinação, cinco repetições de 20 sementes, para cada espécie, foram semeadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo duas folhas de papel germitest esterilizadas, umedecidas com 3 mL de extratos nas concentrações 0 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L e 800 mg/L. Em seguida, as placas foram mantidas em câmara de germinação B.O.D. Tecnal, modelo TE-4020 LED, sob iluminação constante mantida por lâmpadas brancas fluorescentes de 25 W, do tipo luz do dia, a 20°C para a alface e 25°C para o capim colônia (Tomaz et al., 2010) por sete dias. Foram avaliados o percentual de germinação (G), indicado pelo número de sementes germinadas, ou seja, aquelas que apresentavam protrusão da radícula maior que 2mm (BRASIL, 2009), o índice de velocidade de germinação (IVG) (Maguire 1962), o tempo médio de germinação (TMG) (Lopes e Franke, 2011) e o índice de alelopatia (IA) (Balsalobre et al. 2006). Após sete dias foram medidos os comprimentos da radícula e da parte aérea das plântulas com auxílio de um paquímetro digital e os resultados médios expressos em centímetros por plântula.

2.4 Análise estatística

Os resultados foram submetidos, por meio do software ASSISTAT versão 7.7, a um fatorial triplo para cada espécie e as médias, em cada tratamento, foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Para as análises de correlação de Pearson e de regressão linear foi utilizado o software IBM® SPSS® Statistics versão 25.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Potencial hídrico dos extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L.

Os extratos utilizados foram avaliados quanto aos potenciais hídricos (tabela 1) pois, como destaca Souza Filho (2006), alelopatia e potencial osmótico apresentam efeitos aditivos, levando a superestimar os efeitos alelopáticos. Sabe-se que potenciais hídricos acima de - 0,4 Mpa e - 0,8 Mpa não afetam a germinação de sementes de *Lactuca sativa* (Bertagnolli et al. 2003) e, *Panicum maximum* (Belido et al. 2016), respectivamente. O valor máximo de potencial hídrico dos extratos obtido foi - 0,31 Mpa. Portanto, todos os valores de potencial hídrico dos extratos utilizados estão fora da faixa de possível estresse de natureza osmótica para as sementes de alface e capim colonião, sendo então, possível afirmar que tal parâmetro não teve influência sobre a germinação e/ou desenvolvimento das plântulas teste.

Tabela 1: Potencial hídrico dos extratos de folhas e sementes (metanólico, hexânico e de acetato de etila).

Extrato	Potencial hídrico	T °C	Extrato	Potencial hídrico	T °C
EAf 200 mg/L	- 0,09 Mpa	29,2	EMF 200 mg/L	- 0,21 Mpa	29,6
EAf 400 mg/L	- 0,19 Mpa	29,1	EMF 400 mg/L	- 0,23 Mpa	29,6
EAf 600 mg/L	- 0,19 Mpa	29	EMF 600 mg/L	- 0,23 Mpa	29,6
EAf 800 mg/L	- 0,21 Mpa	29,1	EMF 800 mg/L	- 0,24 Mpa	29,7
EHF 200 mg/L	- 0,16 Mpa	29,1	EHS 200 mg/L	- 0,24 Mpa	29,7
EHF 400 mg/L	- 0,24 Mpa	29,3	EHS 400 mg/L	- 0,26 Mpa	29,8
EHF 600 mg/L	- 0,24 Mpa	29,2	EHS 600 mg/L	- 0,26 Mpa	29,8
EHF 800 mg/L	- 0,31 Mpa	29,6	EHS 800 mg/L	- 0,26 Mpa	29,8
EMS 200 mg/L	- 0,11 Mpa	29,7	EES 200 mg/L	- 0,19 Mpa	29,8
EMS 400 mg/L	- 0,18 Mpa	29,6	EES 400 mg/L	- 0,20 Mpa	29,7
EMS 600 mg/L	- 0,18 Mpa	29,7	EES 600 mg/L	- 0,20 Mpa	29,7
EMS 800 mg/L	- 0,20 Mpa	26,9	EES 800 mg/L	- 0,20 Mpa	29,7
EMS 200 mg/L	- 0,11 Mpa	29,7	EMS 600 mg/L	- 0,18 Mpa	29,7
EMS 400 mg/L	- 0,18 Mpa	29,6	EMS 800 mg/L	- 0,20 Mpa	26,9

(EEF: extrato de acetato de etila de folha; EHF: extrato hexânico de folha; EMF: Extrato metanólico de folha; EES: extrato de acetato de etila de semente; EHS: extrato hexânico de semente; EMS: Extrato metanólico de semente)

3.2 Influência dos extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L. sobre a germinação e crescimento inicial de sementes e plântulas de *Lactuca sativa* L..

A partir da tabela 2 é possível observar que, de modo geral, apenas os extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* mais concentrados provocaram uma redução no percentual de germinação (G) das sementes de alface. Entretanto, essa diminuição foi muito pouco expressiva promovendo, no máximo, reduções próximas de 10% nessa variável. Extratos vegetais podem comprometer ou não a germinação e o crescimento inicial dependendo de quem é a espécie alvo e qual a concentração utilizada. Por exemplo, Qin et al (2018), ao investigarem o efeito alelopático de extratos aquosos de folhas de *Eucalyptus urophylla* sobre diversas espécies arbóreas nativas, concluíram que os efeitos observados foram estimulatórios, inibitórios e neutros, dependendo da espécie alvo e das concentrações utilizadas. Pinheiro et al. (2016), ao trabalhar com diferentes espécies do gênero *Piper*, verificou efeito inibitório significativo de *Piper aduncum* e *Piper collosum* sobre sementes de alface mas não verificou, assim como observado nesse trabalho para *Piper nigrum*, efeito fitotóxico de *Piper medium* sobre essas sementes, mesmo nas maiores concentrações utilizadas testadas (70%). Isso indica que espécies diferentes do Gênero *Piper* podem não apresentar efeito fitotóxico sobre a germinação de sementes de alface.

Quanto ao IVG, apenas os extratos metanólicos mais concentrados, tanto de folha quanto de sementes, promoveram um aumento nesse parâmetro, porém sem que isso se refletisse em comprometimento do G dessa espécie. Os demais extratos não apresentaram efeito significativo sobre o IVG das sementes ou promoveram seu aumento favorecendo a cultivar. Nesse aspecto, cabe salientar o efeito benéfico dos extratos hexânicos que promoveram expressivo aumento do IVG das sementes de cultivar. Também apenas os extratos metanólicos mais concentrados, foliares e de sementes, afetaram negativamente o TMG das sementes de alface. Porém, o aumento do TMG, apesar de estaticamente significativo, foi bastante reduzido. Essa inibição provavelmente se deu em função da maior presença de piperina e outras piperamidas nesse extrato tendo em vista sua maior polaridade e, conseqüentemente, maior capacidade de extração desses metabólitos secundários quando comparados com o extrato hexânico. Cabe ressaltar que todos os extratos

hexânicos e de acetato de etila promoveram uma redução do TMG, em especial o primeiro, indicando efeito positivo sobre a cultivar. Isso decorreu provavelmente pela baixa capacidade de extração de alcaloides como a piperina e grande potencial de extração de flavonoides, com conhecido potencial antioxidante, por esses extratores, principalmente, pelo extrator hexânico (França et al. 2015). O efeito sobre o IA também ocorreu de forma pouca expressiva com diferenças, quando presentes, muito pequenas em relação ao controle. Corroborando com os resultados acima, Silva et al. (2017), ao estudarem a fitotoxicidade de extratos fracionados de *Bidens sulphurea* sobre o crescimento de plântulas de *Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L., *Lepidium sativum* e *Solanum lycopersicum* afirmaram que a alface foi a espécie menos afetada.

Tabela 2: G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de alface submetidas a extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L. Fatorial triplo no qual as médias, em cada tratamento, seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha, não apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

(G)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	(IA)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L
EMF	0,97±0,02 aB	0,92±0,00 bB	0,92±0,00 bB	0,92±0,02 bC	0,95±0,02 aA	EMF	-4,30±0,00 aA	1,08±0,00 aA	1,08±0,00 aA	5,38±0,70 bC	5,38±0,66 bC
EHF	0,97±0,02 aB	0,96±0,00 aA	0,96±0,00 aA	0,95±0,02 aA	0,96±0,00 abA	EHF	-4,30±0,00 aA	-3,23±0,00 aB	-3,23±0,00 aB	-2,15±0,02 bB	-3,23±0,00 bB
EEF	0,97±0,02 aB	0,96±0,01 aA	0,96±0,01 aA	0,92±0,01 aB	0,92±0,01 cB	EEF	-4,30±0,00 aA	-3,23±0,00 bB	-3,23±0,01 bB	1,08±0,03 aA	1,08±0,02 aA
EMS	0,97±0,02 aB	0,92±0,00 aB	0,91±0,02 bB	0,83±0,02 cC	0,95±0,02 bcA	EMS	-4,30±0,00 aA	1,08±0,00 aA	2,15±0,50 bC	1,75±0,70 bAB	2,15±0,00 bC
EHS	0,97±0,02 aB	0,92±0,00 bB	0,89±0,02 bC	0,95±0,02 aA	0,87±0,02 dC	EHS	-4,30±0,00 aA	1,08±0,00 aA	4,30±0,80 bAB	1,35±0,80 bAB	6,45±0,80 bAB
EES	0,97±0,02 aA	0,85±0,02 cC	0,81±0,02 cD	0,85±0,02 bcC	0,88±0,00 dB	EES	-4,30±0,00 aA	8,60±0,80 bC	12,9±0,80 bBC	8,60±0,80 bC	5,38±0,20 bAB
(IVG)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	(TMG)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L
EMF	0,60±0,02 aA	0,55±0,02 cAB	0,50±0,02 cAB	0,48±0,01 bB	0,43±0,01 cB	EMF	1,69±0,13 aC	1,66±0,15 aBC	1,82±0,13 aB	1,99±0,10 aAB	2,09±0,20 aC
EHF	0,60±0,02 aC	0,65±0,01 aAB	0,66±0,02 aAB	0,68±0,03 aA	0,65±0,03 bAB	EHF	1,69±0,13 aA	1,43±0,22 bA	1,53±0,13 bA	1,37±0,28 bA	1,56±0,25 aA
EEF	0,60±0,02 aC	0,66±0,02 abcBC	0,67±0,03 aBC	0,76±0,03 aA	0,79±0,04 aAB	EEF	1,69±0,13 aA	1,53±0,20 abABC	1,54±0,22 bAB	1,24±0,21 bC	1,28±0,23 cA
EMS	0,60±0,02 aC	0,57±0,03 abcBC	0,52±0,03 aBC	0,47±0,02 aA	0,47±0,01 aAB	EMS	1,69±0,13 aA	1,76±0,08 abABC	1,94±0,10 bAB	2,13±0,07 bC	2,13±0,07 cA

	aA	bcAB	bcAB	bB	cB		aB	aB	aAB	aA	abA
EHS	0,60±0,02 aB	0,69±0,04 abAB	0,73±0,05 aA	0,70±0,05 aAB	0,68±0,05 abAB	EHS	1,69±0,13 aA	1,45±0,09 bA	1,38±0,14 bA	1,44±0,14 bA	1,48±0,15 cA
EES	0,60±0,02 aBC	0,64±0,04 abcAB	0,64±0,05 abAB	0,74±0,03 aA	0,50±0,04 cC	EES	1,69±0,13 aB	1,56±0,10 abBC	1,57±0,13 bBC	1,35±0,06 bC	1,99±0,15 bA
(CPA)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	(CR)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L
EMF	0,59±0,05 aA	0,58±0,03 aA	0,58±0,03 aA	0,57±0,02 aA	0,57±0,02 aA	EMF	3,05±0,11 aA	2,93±0,03 aA	2,93±0,07 aA	2,90±0,07 aA	2,88±0,09 aA
EHF	0,59±0,05 aA	0,58±0,03 aA	0,59±0,02 aA	0,58±0,02 aA	0,59±0,03 aA	EHF	3,05±0,11 aA	2,96±0,06 aA	2,98±0,07 aA	2,98±0,10 aA	2,94±0,09 aA
EEF	0,59±0,05 aA	0,58±0,03 aA	0,59±0,03 aA	0,59±0,02 aA	0,58±0,02 aA	EEF	3,05±0,11 aA	2,91±0,03 aA	2,92±0,07 aA	2,87±0,08 aA	2,84±0,11 aA
EMS	0,59±0,05 aA	0,58±0,04 aA	0,58±0,04 aA	0,57±0,04 aA	0,57±0,02 aA	EMS	3,05±0,11 aA	2,93±0,08 aA	2,86±0,08 aA	2,80±0,12 aA	2,77±0,07 aA
EHS	0,59±0,05 aA	0,57±0,04 aA	0,57±0,05 aA	0,43±0,02 bB	0,42±0,03 bB	EHS	3,05±0,11 aA	2,91±0,07 aA	3,04±0,02 aA	2,96±0,09 aA	2,99±0,06 aA
EES	0,59±0,05 aA	0,57±0,05 aA	0,57±0,04 aA	0,47±0,01 bB	0,43±0,02 bB	EES	3,05±0,11 aA	2,91±0,07 aA	2,93±0,08 aA	2,92±0,06 aA	2,80±0,12 aA

Quanto ao crescimento inicial das plântulas de alface, apenas os extratos EHS e EES mais concentrados (600 e 800 mg/L) promoveram uma redução (tabela 2), em torno de 27%, no CPA das plântulas de alface quando comparados ao controle. Não houve diferença significativa quanto ao CR em nenhum dos extratos testados (tabela 2). Esse resultado sobre o CR é interessante pois Periotto et al. (2004) sugere que a maior parte dos componentes desses extratos se concentram na radícula das plântulas testes em função do maior contato com o mesmo e, por isso, é a variável mais afetada. Entretanto, nesse estudo, foi a variável menos afetada. Esse resultado reforça a tese de que os extratos de *Piper nigrum* não apresentam efeito inibitório significativo sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa* já que não foi corroborado por aquele resultado, anteriormente citado, encontrado na literatura consultada. Shokouhian et al (2016) afirmam que o efeito inibitório de um determinado composto em certas espécies de plantas pode não ser necessariamente mantido em outra espécie. Dessa forma, ao considerar as variáveis testadas e a Tabela 2, é possível inferir que os extratos de folhas e sementes de *Piper nigrum* L., de forma geral, não comprometeram a germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas da cultivar. Sendo assim, esses extratos apresentam potencial uso no controle das plantas daninhas tendo em vista o fato de não afetar, de modo efetivo, a germinação e o crescimento inicial das sementes e plântulas de *Lactuca sativa* L.

3.3 Influência dos extratos foliares e de sementes de Piper nigrum L. sobre a germinação e crescimento inicial de sementes e plântulas de Panicum maximum Jacq.

Apenas o extrato EES800 reduziu o IVG das sementes de capim enquanto que os extratos hexânicos foliares promoveram um incremento nesse parâmetro (Tabela 3). Como mencionado anteriormente, o acetato de etila e o metanol são bastante eficientes na extração de piperinas do material macerado diferentemente do hexano que extrai, principalmente, compostos apolares. A maior extração de flavonoides pelo hexano também pode indicar uma possível explicação para o efeito positivo desses extratos sobre a germinação das sementes de *Panicum maximum* (França et al. 2015).

Praticamente todos os extratos apresentaram efeito inibidor sobre o percentual de germinação (G) das sementes de capim. Novamente os extratos EES e EMS, em suas maiores concentrações, inibiram as sementes de capim com maior intensidade reduzindo o percentual de germinação em torno de 50%. Os extratos EEF, EMS e EES, em suas maiores concentrações (600 e 800 mg/L), aumentaram o TMG das sementes de capim enquanto os extratos hexânicos promoveram a redução desse parâmetro favorecendo o crescimento da parte aérea das plântulas de capim colônia. Isso se deu, provavelmente, em função da maior presença de piperina e outras piperamidas nos extratos metanólicos e de acetato de etila quando comparado com os extratos hexânicos. Todos os extratos promoveram o aumento do IA, especialmente os mais concentrados. O maior efeito negativo sobre o IA também se deu nos extratos EMS800 e EES800, indicando que os extratos de sementes, nas maiores concentrações utilizadas, foram mais eficazes na inibição das sementes de *Panicum maximum*. Todos os extratos afetaram negativamente o CPA das plântulas de capim, exceto os extratos hexânicos foliares que promoveram um aumento do comprimento da parte aérea das plântulas. Nessa variável, mais uma vez, destacaram-se os extratos EMS800 e EMS600 que provocaram a redução mais acentuada nesse parâmetro (89%). Isso corrobora com a maior presença de piperina nas sementes de *Piper nigrum* (Ferreira et al. 2011). Quanto ao CR, todos os extratos, sem exceção, contribuíram negativamente com o desenvolvimento da plântula. Mais uma vez, o extrato metanólico de sementes mais concentrado (EMS800) apresentou a redução mais significativa no comprimento da radícula, diminuindo seu tamanho em aproximadamente 91% quando comparada ao controle. Dessa forma, é possível inferir que os extratos metanólicos de sementes mais concentrados comprometem, de maneira muito eficaz, o crescimento inicial das plântulas de capim colônia.

É pertinente salientar que os extratos EES e EMS mais concentrados apresentaram efeito inibidor, em maior ou menor intensidade, sobre todas as variáveis avaliadas. Isso indica que as maiores concentrações, entre as que foram testadas, de extratos de semente comprometem, de maneira mais eficaz, a germinação de sementes e crescimento inicial da planta invasora em questão. Ainda cabe ressaltar o efeito neutro ou favorável dos extratos hexânicos, foliares e de sementes, sobre a daninha. De forma análoga ao que ocorreu com a cultivar, uma possível explicação

para o efeito positivo seria a menor concentração de piperina e outras piperamidas e uma maior concentração de açúcares simples e flavonoides nos extratos hexânicos (França et al., 2015).

Como os resultados indicam que os extratos de acetato de etila e metanólicos de sementes apresentaram um efeito inibitório mais satisfatório sobre a germinação e crescimento inicial de capim colômbio, foi realizada uma análise de correlação de Pearson para se verificar a correspondência entre esses dados (Tabela 3 e 4).

Tabela 3: Correlação de Pearson entre a concentração dos extratos metanólicos e os parâmetros G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de capim colômbio submetidas a extratos metanólicos de sementes de Piper nigrum L.

CORRELAÇÕES DE PEARSON	Concentração do extrato metanólico	G	TMG	CPA	CR	IVG	IA
Concentração do extrato metanólico	1						
G	-,930**	1					
TMG	,524*	-,644**	1				
CPA	,524*	-,644**	1,000**	1			
CR	,524*	-,644**	1,000**	1,000**	1		
IVG	-,507*	,614**	-,994**	-,994**	-,994**	1	
IA	,524*	-,644**	1,000**	1,000**	1,000**	-,994**	1

** A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).
* A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

Todos os parâmetros avaliados apresentaram correlação de Pearson significativa com a concentração dos extratos metanólicos (Tabela 3). O percentual de germinação (G) e a concentração dos extratos metanólicos apresentaram uma forte correlação enquanto que os demais parâmetros apresentaram uma correlação moderada. A correlação de Pearson entre a concentração do extrato metanólico e o G é fortemente negativa (-0,930) e isso indica que o aumento da concentração do extrato promoveria uma redução do percentual de germinação, ou seja, há uma relação dose-dependente entre a concentração do extrato metanólico e o G das sementes de capim. Zaman et al. (2018) também encontraram efeito alelopático de

extratos metanólicos de *Eleocharis atropurpurea*, com efeito dose-dependente, sobre a germinação e crescimento inicial de diversas espécies daninhas.

Apenas as variáveis G, IA, CPA e CR apresentaram correlação de Pearson significativa com a concentração do extrato de acetato de etila de sementes (Tabela 4). Entretanto, todas essas variáveis apresentaram forte correlação com a concentração do extrato. A correlação de Pearson entre a concentração do extrato de acetato de etila e o G é fortemente negativa (-0,958) e, como anteriormente citado, isso indica que o aumento da concentração do extrato promoveria uma redução do percentual de germinação. Novamente, verifica-se uma relação dose-dependente entre a concentração dos extratos de acetato de etila e o G das sementes de capim.

Tabela 4: Correlação de Pearson entre a concentração dos extratos metanólicos e os parâmetros G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de capim colônio submetidas a extratos de acetato de etila de sementes de *Piper nigrum* L.

CORRELAÇÕES DE PEARSON	Concentração do extrato de acetato de etila	IVG	G	TMG	IA	CPA	CR
Concentração do extrato de acetato de etila	1						
IVG	0,036	1					
G	-,958**	0,027	1				
TMG	0,065	-,991**	-0,117	1			
IA	,958**	-0,027	-1,000**	0,117	1		
CPA	-,751**	0,067	,865**	-0,143	-,865**	1	
CR	-,757**	0,163	,818**	-0,241	-,818**	,910**	1

** A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).
* A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

Para a análise dos resultados realizou-se uma regressão linear dos extratos de acetato de etila e metanólicos de sementes de pimenta do reino sobre o percentual de germinação (G) das sementes de capim submetidas aos mesmos. A regressão linear mostrou que a concentração do extrato metanólico prevê o percentual de germinação das sementes (G) de capim colônio e que a concentração do extrato explica 87% da variação dos dados de germinação:

[F(1,18) = 116,11, $p < 0,01$; $R^2 = 0,87$]

O G, previsto em percentual, corresponde a:

$G = - 0,01 \cdot \text{Concentração do extrato} + 0,798$; sendo que a concentração é medida em mg/L.

Já para os extratos de acetato de etila, a regressão linear mostrou que a concentração do extrato de acetato de etila prevê o percentual de germinação das sementes (G) de capim colonião e que a concentração do extrato explica 92% da variação dos dados de germinação:

[F(1,18) = 198,37, $p < 0,01$; $R^2 = 0,92$]

O G, previsto em percentual, corresponde a:

$G = - 0,0005 \cdot \text{Concentração do extrato} + 0,728$; sendo que a concentração é medida em mg/L.

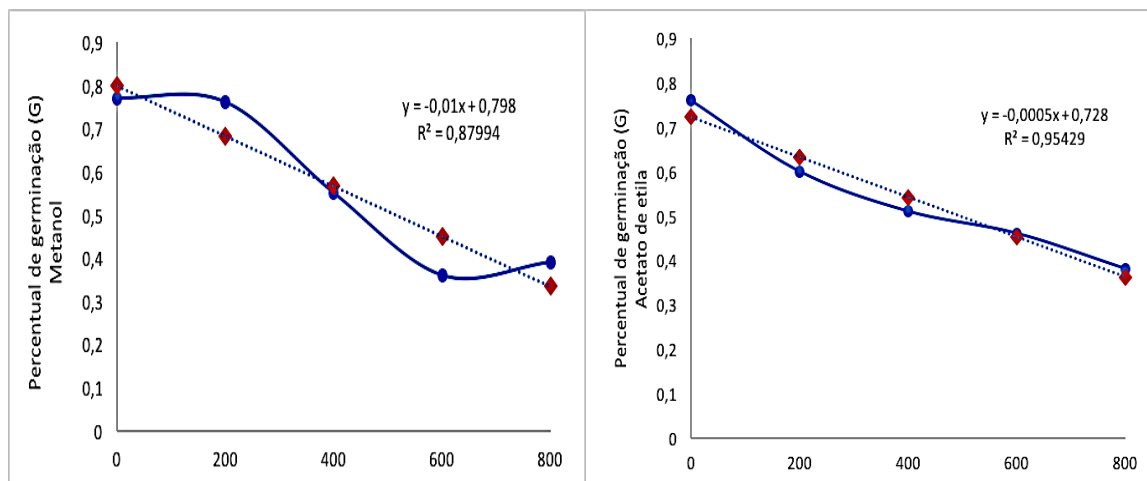


Figura 1: Regressão linear para G de sementes de capim colonião submetidas aos extratos metanólico e de acetato de etila de sementes de pimenta do reino.

Tabela 5: G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula) de sementes de capim colômbio submetidas a extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L. Fatorial triplo no qual as médias, em cada tratamento, seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha, não apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

(G)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	(IA)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L
EMF	0,77±0,02 aA	0,68±0,03 bB	0,81±0,02 aA	0,69±0,0 bcB	0,65±0,04 aB	EMF	17,21±1,90 aC	26,88±3,51 bB	12,91±2,15 dC	35,48±0,0 cA	30,11±4,12 cAB
EHF	0,77±0,02 aA	0,66±0,05 bB	0,57±0,0 cC	0,64±0,04 cB	0,54±0,02 bC	EHF	17,21±1,90 aC	24,73±5,55 bB	22,58±3,51 cBC	21,35±0,0 dBC	32,26±4,12 cA
EEF	0,77±0,02 aA	0,66±0,02 bB	0,57±0,0 cC	0,64±0,02 cB	0,54±0,03 bC	EEF	17,21±1,90 aC	29,03±2,48 bB	38,71±2,15 bA	37,18±0,0 cA	41,94±2,48 bA
EMS	0,77±0,02 aA	0,76±0,02 aA	0,55±0,03 cdB	0,36±0,02 eC	0,39±0,02 cC	EMS	17,21±1,90 aC	18,28±3,51 aC	40,86±2,15 abB	61,29±3,51 aA	58,07±2,15 aA
EHS	0,77±0,02 aA	0,69±0,02 bB	0,67±0,02 bB	0,71±0,02 abB	0,49±0,03 bC	EHS	17,21±1,90 aC	25,81±2,15 bB	27,96±2,15 cB	23,66±2,15 dB	47,36±2,15 bA
EES	0,77±0,02 aA	0,60±0,04 aA	0,51±0,02 dC	0,46±0,02 dC	0,38±0,02 cD	EES	17,21±1,90 aD	35,48±3,51 aD	45,16±4,12 aB	50,54±2,48 bB	59,14±2,48 aA
(IVG)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	(TM G)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L
EMF	0,25±0,02 aA	0,25±0,01 bcA	0,26±0,02 bcA	0,27±0,0 cA	0,25±0,02 bA	EMF	4,07±0,3 aA	3,99±0,2 bA	3,99±0,3 bA	3,82±0,0 bA	4,10±0,3 bA
EHF	0,25±0,02 aAC	0,31±0,04 aB	0,31±0,02 aB	0,32±0,8 abB	0,36±0,0 aA	EHF	4,07±0,3 aA	4,07±0,4 aA	3,30±0,2 cB	2,94±0,0 cB	2,78±0,1 cB
EEF	0,25±0,02 aA	0,24±0,01 bcAB	0,22±0,02 bcAB	0,22±0,02 dAB	0,20±0,0 cB	EEF	4,07±0,3 aBC	4,22±0,3 abBC	4,55±0,4 aAB	3,78±0,0 bC	4,90±0,2 aA
EMS	0,25±0,02 aAB	0,26±0,01 bA	0,26±0,01 bA	0,21±0,03 dB	0,23±0,01 bcAB	EMS	4,07 ±0,3 aBC	3,82±0,2 bcC	3,85±0,4 bC	4,74±0,3 aA	4,44±0,3 abAB
EHS	0,25±0,02 aA	0,28±0,02 aA	0,26±0,03 abA	0,28±0,03 bcA	0,26±0,02 bA	EHS	4,07±0,3 aA	3,64±0,4 bcA	3,92±0,5 bA	3,53±0,2 bcA	3,94±0,2 bA
EES	0,25±0,02 aB	0,22±0,01 cBC	0,21±0,01 cC	0,33±0,01 aA	0,20±0,02 cC	EES	4,07±0,3 aBC	4,59±0,1 aAB	4,78±0,2 aA	3,02±0,1 cC	5,02±0,3 aA

(CPA)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	(CR)	0 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L
EMF	2,40±0,11 aA	0,74±0,04 cdB	0,63±0,05 cBC	0,57±0,06 bcC	0,50±0,04 cC	EMF	3,31±0,1 aA	1,63±0,1 cdB	1,42±0,1 cC	1,40±0,1 cC	1,38±0,1 cC
EHF	2,40±0,11 aC	2,90±0,13 aAB	2,85±0,15 aAB	2,79±0,09 aB	2,99±0,08 aA	EHF	3,31±0,1 aA	2,66±0,1 bD	2,96±0,1 aBC	1,91±0,1 aC	3,06±0,1 aB
EEF	2,40±0,11 aA	1,02±0,09 bB	0,62±0,08 cC	0,72±0,06 bC	0,69±0,07 bC	EEF	3,31±0,1 aA	3,06±0,1 aB	2,16±0,1 bC	2,07±0,1 bC	2,03±0,1 bC
EMS	2,40±0,11 aA	0,60±0,04 dB	0,51±0,02 cB	0,26±0,01 dC	0,26±0,04 dC	EMS	3,31±0,1 aA	1,06±0,0 eB	0,74±0,0 fC	0,50±0,1 eD	0,31±0,0 eE
EHS	2,40±0,11 aA	0,82±0,01 cB	0,48±0,04 cC	0,47±0,04 cC	0,37±0,06 cdC	EHS	3,31±0,1 aA	1,72±0,0 cB	0,97±0,1 eC	0,83±0,0 dC	0,59±0,0 dD
EES	2,40±0,11 aA	1,15±0,03 bB	0,81±0,03 bC	0,49±0,02 cD	0,35±0,08 cdD	EES	3,31±0,1 aA	1,50±0,0 dB	1,19±0,1 dD	0,97±0,0 dD	0,55±0,0 dE

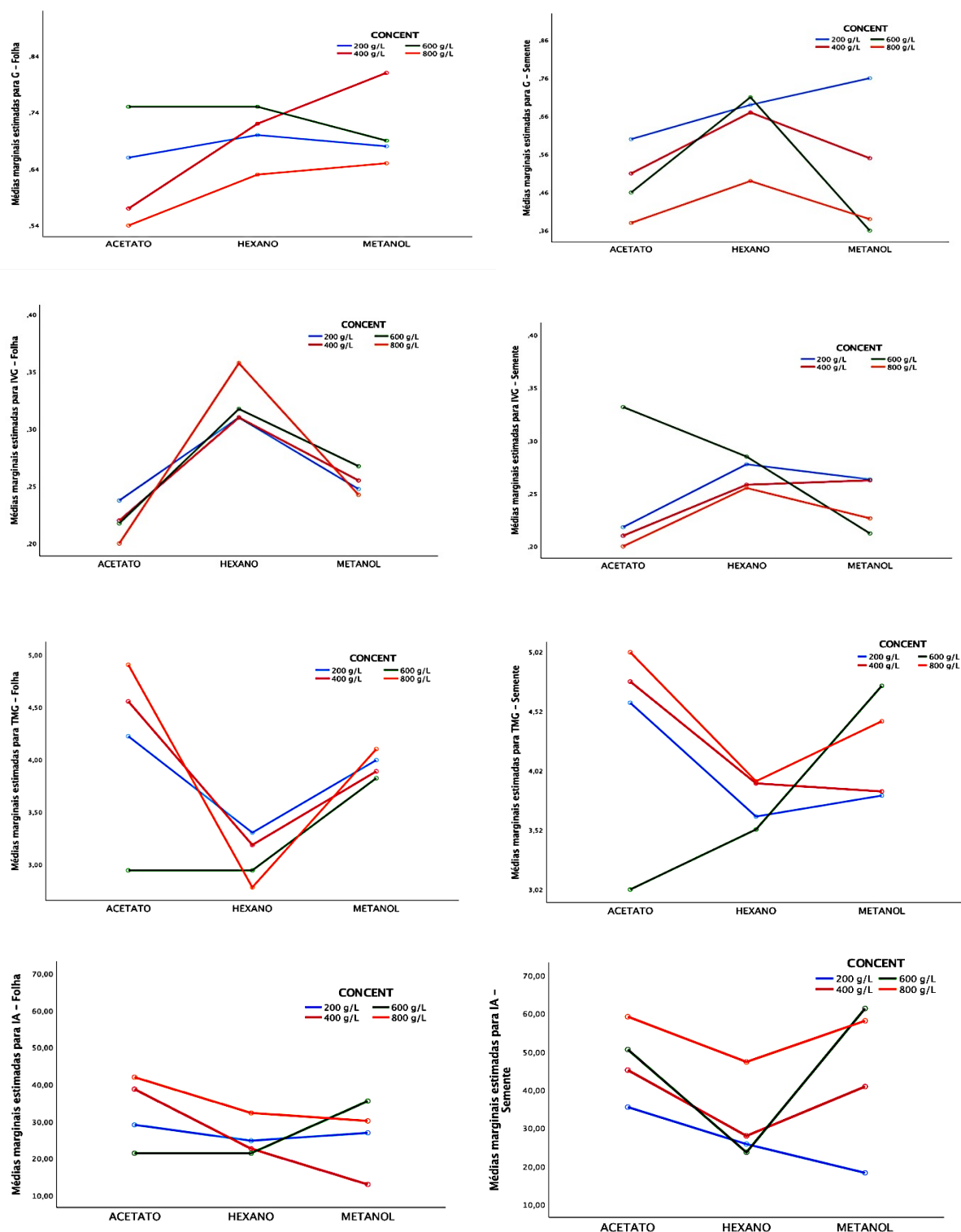


Figura 2: Gráficos de interação (ou de perfil) para G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação) e TMG (Tempo médio de germinação) de sementes de capim colômbio submetidas a extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L. Os gráficos foram gerados a partir de uma ANOVA ONEWAY realizada no software estatístico IBM[®] SPSS statistics 25.

A Figura 1 representa gráficos de interação (ou de perfil) utilizados para comparar as médias marginais estimadas em um modelo. Cada ponto indica a média marginal estimada de uma variável dependente em um nível do fator.

Quando as linhas se cruzam há indicação de interação entre os fatores (González et al., 2013). Dessa forma, é possível inferir que há forte correlação entre as variáveis pesquisadas bem como inferir que os extratos metanólicos mais concentrados promoveram os menores valores de IVG e percentual de germinação e os maiores valores de TMG e IA sobre a espécie invasora, além de terem reduzido drasticamente o CPA e CR dessas plântulas (Figura 2). Esse efeito mais intenso sobre o crescimento inicial das plântulas está de acordo com o preconizado por Lustosa et al. (2007,) e Silva et al. (2017) que afirmaram serem os efeitos alelopáticos mais evidentes no crescimento inicial da plântula. Isso decorre, provavelmente, em função do fato de a emergência da plântula e seu crescimento serem as fases mais sensíveis na ontogênese do indivíduo (Blum, 1999).

Tendo em vista que tais parâmetros são primordiais no que se refere à instalação e desenvolvimento da daninha nos ambientes, os extratos de sementes parecem ser mais eficazes no controle das mesmas do que os extratos foliares. Tal resultado é compatível com a eficiência de extração de piperinas e outras piperamidas desses extratores e com a forte presença desses compostos em sementes de *Piper nigrum* (Semler e Gross, 1988). Esses dados ilustram a maior eficácia de inibição dos extratos de sementes mais concentrados, entre as concentrações testadas, sobre a germinação e crescimento inicial das plântulas de *Panicum maximum* Jacq. As diferenças observadas entre os efeitos alelopáticos dos extratos foliares e de sementes se devem, provavelmente, ao fato de existirem diferentes constituintes e em concentrações distintas em todas as partes das plantas (Facundo et al., 2003; Medeiros et al., 2012; Rodrigues et al., 2014). Além disso, Moralesa et al. (2013) encontraram diferenças na composição de óleos da espécie *Piper hispidum*, atribuindo tal fato à localização geográfica, sazonalidade, idade fisiológica da planta e época de colheita.

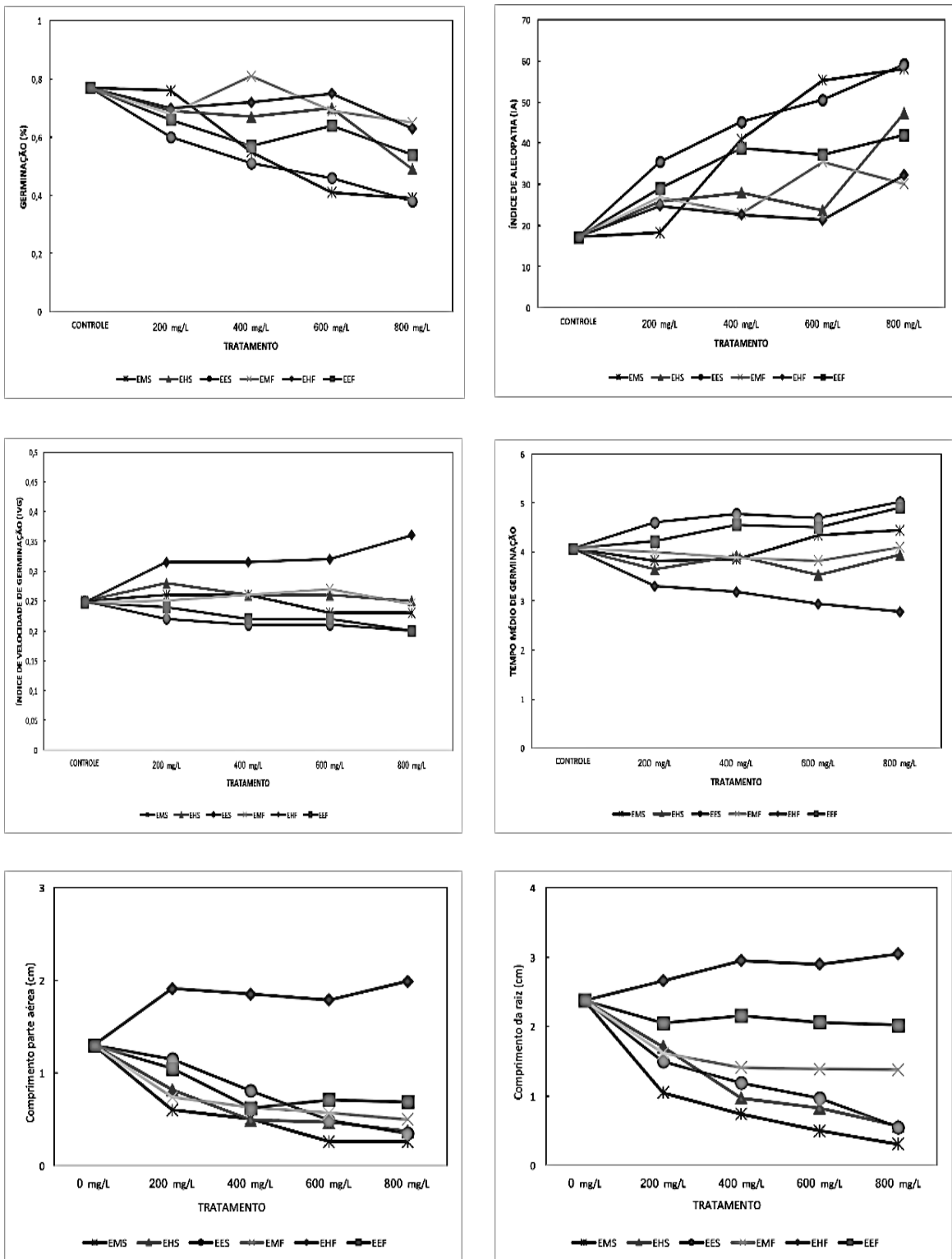


Figura 3: Gráficos de comparação para G (percentual de germinação), IA (Índice de Alelopatia), IVG (Índice de Velocidade de Germinação), TMG (Tempo médio de germinação), crescimento da parte

aérea e da radícula em sementes de capim colonião submetidas a extratos foliares e de sementes de *Piper nigrum* L.

4. CONCLUSÕES

Os extratos de sementes, nas maiores concentrações testadas, apresentaram a maior eficiência no controle da espécie invasora. Entre os extratos testados, o metanol forneceu os extratos mais eficientes no controle da germinação das sementes e na inibição do crescimento inicial das plântulas de *Panicum maximum*. Os extratos testados apresentaram nenhuma ou pouca influência negativa na germinação e no crescimento inicial das sementes e plântulas de *Lactuca sativa*. Os extratos hexânicos, de modo geral, não alteraram ou promoveram um efeito positivo sobre as variáveis testadas tanto no capim colonião quanto na alface. Sendo assim, os extratos metanólicos de sementes de *Piper nigrum* apresentam potencial para uso no controle de espécies daninhas como o capim colonião.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARROYO, A.A.; PUEYO, Y.; GINER, M.L.; FORONDA, A.; NAVARRETE, P.S.; SAIZ, H.; ALADOS, C.L.. Evidence for chemical interference effect of an allelopathic plant on neighboring plant species: A field study. PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193421>. 2018.

BALSALOBRE, L. C.; R.C. GUTIERREZ; M.T. COMARIN; M.C. DE GOUVEIA; B.M. PEREIRA; D.G. PINTO; J.M. PILIACKAS. Ação alelopática do arilo das sementes de *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Dryand. In: **19ª RAIB**, v.68, suplemento 2, 2006.

BARBOZA, H.T.G.; NASCIMENTO, X.P.R.; FREITAS-SILVA, O.; SOARES, A.G.; DACOSTA, J.B.N.. Compostos Organofosforados e seu Papel na Agricultura. **Rev. Virtual Quim.** Vol. 10, nº 1. 2018.

BELIDO, I. A.; YAMASHITA, O. M.; FERREIRA, A. C. T.; FELITO, R. A.; ROCHA, A. M.; CARVALHO, M. A. C.. Estresse hídrico na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de *Panicum maximum* cv. Mombaça. **Revista de Ciências Agroambientais**. v.14, n.2, 2016.

BERTAGNOLLI, C. M.; MENEZES, N. L.; STORCK, L.; SANTOS, O. S.; PASQUALLI, L. L.. Desempenho de sementes nuas e peletizadas de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a estresses hídrico e térmico. **Revista Brasileira de Sementes**. Vol. 25, nº1. Pelotas. 2003.

BESSA, T.; TERRONES, M.G.H.; SANTOS, D.Q. Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus*. **Rev. Floresta Amb.**, v.17, p.52-55, 2010.

BIEBERICH, J; LAUERER, M; DRACHSLER, M; HEINRICHS, J; MÜLLER; FELDHAAR, S.. Species and developmental stage-specific effects of allelopathy and competition of invasive *Impatiens glandulifera* on co-occurring plants. PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205843>. 2018.

BLUM, U. 1999. Designing laboratory plant debris- soil bioassays: some reflections. In INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M. & FOY, C. L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, p. 17-23.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS. 399p. 2009.

CORNES, D. C.. A very successful maize herbicide inspired by allelochemistry. In: **Fourth World Congress on Allelopathy**. 2005.

DALRYMPLE, R.L.; ROGERS, J.L. Allelopathic effects of western Regweed on seed germination and seedling growth of selected plants. **Journal of Chemical Ecology**, v.9., 1983.

DECAGON. WP4 Dewpoint PotentaMeter. **Operators Manual**. Pullman: Decagon Devices, Inc. 2001.

DELGADO, L.F.; BARBEDO, C.J.. Water potential and viability of seeds of *Eugenia* (Myrtaceae), a tropical tree species, based upon different levels of drying. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 55(4): 583-590. 2012.

FACUNDO, V. A.; MORAIS, S. M. Constituents of *Piper aleyreanum* (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 13, 113p. 2003.

FAVARETTO, A.; BASSO, S.M.S.; PEREZ, N.B.. Allelopathy in Poaceae species present in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**. 38: 22. 2018.

FELIX, R.A.Z. Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith sobre a germinação e emergência de plântulas. **Tese de Doutorado em Biologia Vegetal** – Instituto de Biociências, UNESP, 2012.

FENG, G.; CHEN, M.; YE, H.C.; ZHANG, Z.K.; LI, H.; CHEN, L.L.; CHEN, X.L.; YAN, C.; ZHANG, J.. Herbicidal activities of compounds isolated from the medicinal plant *Piper sarmentosum*. **Industrial Crops e Products**. 132, 41-47. 2019.

FERREIRA, C.; SOARES, D. C.; BARRETO–JUNIOR, C. B.; LIMA, L. F.; DELORENZI, J. C.; LIMA, M. E. F.; ATELLA, G. C.; FOLLY, E.; CARVALHO, T. M. U.; SARAIVA, B. E. M.; PINTO–DA–SILVA, L. H.; **Phytochemistry**, 72, 2155. 2011.

FRANÇA, L.P.; PINTO, A.C.S; ZEQUI, J.A.C.; CHAVES, F.C.; TADEI, W.P. Estudo químico e atividade larvicida dos extratos de *Piper capitarianum* (Piperaceae) sobre *Aedes aegypti* e *Anophes* sp. (Culicidae) em laboratório. In: **55º Congresso Brasileiro de Química**. Anais. 2015.

GONZÁLES, C.G.; LISTE, A.V.; FELPETO, A.B.. **Tratamiento de datos con R, STATISTICA y SPSS**. Ed. Díaz de Santos. 978p. 2013.

HAIG, T.; PRATLEY, J.; HILDEBRAND, S.. Using allelopathy to search for new natural herbicides from plants. In: **Fourth World Congress on Allelopathy**. 2005.

LOPES, R.R.; FRANKE, L.B.. Aspectos térmico-biológicos da germinação de sementes de cornichão anual sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2091-2096, 2011.

LUSTOSA, F.L.F.; OLIVEIRA, S.C.C.; ROMEIRO, L.A.. Efeito Alelopático de Extrato Aquoso de *Piper aduncum* L. e *Piper tectoniifolium* Kunth na Germinação e Crescimento de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 849-851. 2007.

MAGUIRE, J. D.. Speed of germination-aid in and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop science**, v. 02, n. 02, p. 176-177, 1962.

MEDEIROS, E.V.; VIANA, M.G.; ALBUQUERQUE, C.C.; VIANA, F.A.; SILVA, K.M.B. Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, n.11, ago. 2012.

MIGNONI, D.S.B.; KELLY SIMÕES, K; BRAGA, M.R.. Potential allelopathic effects of the tropical legume *Sesbania virgata* on the alien *Leucaena leucocephala* related to seed carbohydrate metabolism. **Biol Invasions**. 20:165–180. 2018.

NEWMAN, E.I. Mycorrhizal links between plants: Theirs functioning and ecological significance. **Advances in Ecological Research**, Londres, v. 18, 1988.

OLIVEIRA, F.M.; SILVA, G.M.N.; LIMA, A.S.; SANTOS, K.P.P.; BATISTA, W.F.M.; BARROS, R.F.M.. Agrotóxicos: impactos sobre o meio ambiente e saúde dos agricultores na comunidade Graciosa / José de Freitas / PI / Brasil. Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – **Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF** – Vol. 13, N° 1, Jul. 2018.

PERIOTTO, F.; PEREZ, S.C.J.G.A.; LIMA, M.I.S.; Monoterpeno quiral limoneno o principal componente do óleo volátil de *H. bonariensis*. **Acta Botânica Brasilian**, v.18, n.3, p.45-56, 2004.

PINHEIRO, P. R.; SEVERIANO, R. L.; ABRÃO, C. F.; PEREIRA, M. D. Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface submetidas a extratos de pimentas. **Revista Agrarian**. v.9, n.32, p. 143-148, Dourados, 2016.

QIN, F.; LIU, S.; YU, S.. Effects of allelopathy and competition for water and nutrients on survival and growth of tree species in *Eucalyptus urophylla* plantations. **Forest Ecology and Management**. 2018.

REIGOSA, M.; PEDRO, L.N. Allelopathy from molecules to ecosystems. USA: **Science Publishers**, 2002.

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2. ed. New York: Academic Press, 1984.

RIGOTTO, R.M.; VASCONCELOS, D.P.; ROCHA, M.M.. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 30(7):1-3, jul, 2014.

RODRIGUES, V. M.; VALENTE, E. C. N.; LIMA, H. M. A.; TRINDADE, R. C. Pr.; DUARTE, A. G. Avaliação de extratos de *Annona muricata* L. sobre *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, n.3, nov. 2014.

SANGEETHA, C.; BASKAR, P. Allelopathy in weed management: A critical review. **Jornal Africano of Agricultural**; Vol.10 (9). 2015.

SEMLER, U.; GROSS, G. G. Distritbution of Piperine in Vegetative Parts of *Piper nigrum*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 5, p. 1566-1567, 1988.

SHAH, A.N.; IQBAL, J.; ULLAH, A.; YANG, G.; YOUSAF, M.; FAHAD, S.; et al. Allelopathic potential of oil seed crops in production of crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.23, n.15, p.14854-14867, 2016.

SHOKOUHIAN, A.; HABIBI, H.; AGAHI, K.. Allelopatic effects of some medicinal

plant essential oils on plant seeds germination. **J. BioSci. Biotechnol.** 5(1): 13-17. 2016.

SILVA, B.P.; NEPOMUCENO, M.P.; VARELA, R.M.; TORRES, A.; MOLINILLO, J.M.G.; ALVES, P.L.C.A.; MACÍAS, F.A.. Phytotoxicity Study on *Bidens sulphurea* Sch. Bip. as a Preliminary Approach for Weed Control. **J. Agric. Food Chem.** 65, 5161–5172. 2017.

SILVA, C. P.; RICCI, T. G.. Bioprospecção de espécies de plantas bioherbicida e bioinseticida. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e Agrárias Produção/construção e tecnologia**, v. 6, n. 10, 2017.

SILVA, C.P.; RICCI, T.G.; ARRUDA, A.L.; PAGLIOSA, F.M.; MACEDO, M.L.R.. Extratos Vegetais de Espécies de Plantas do Cerrado Sul-Matogrossense com Potencial de Bioherbicida e Bioinseticida. **UNICIÊNCIAS**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 2017.

SOUZA FILHO, A.P.S. et al. Allelopathic Potential of *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p.649-656, 2006.

SOUZA FILHO, A.P.S.. *Alelopatia e as plantas*. Belém: **Embrapa**. 159pp. 2006.

TAVARES, W.S. *et al.* Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Industrial Crops Products**, v.31, p.384-388, 2009.

TOMAZ, C.A.; MARTINS, C.C.; CARVALHO, L.R.; NAKAGAWA, J.. Duração do teste de germinação do capim-tanzânia. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, no 4 p. 080 - 087, 2010.

UETA, J.; SHUHAMA, I.K.; CERDEIRA, A.L. Biodegradação de herbicidas e biorremediação: microrganismos degradadores de atrazina provenientes de solos da Região do Aquífero Guarani. **Rev. Plantio Direto**, v.24, p.25-30, 2001.

WALLER, G.R. Introduction. In: F.A. MACIAS; J.C.G. GALINDO; J.M.G. MOLINILLO; H.G. CUTLER (EDS.). **Recent advances in allelopathy**. Cádiz, Servicio de Publicaciones, Univiversidad de Cádiz, v.1., 1999.

ZAMAN, F.; IWASAKI, A.; SUENAGA, K.; NOGUCHI, H.K.. Allelopathic property and an allelopathic substance in *Eleocharis atropurpurea* (Retz.). <https://doi.org/10.1007/s40626-018-0130-5>. **Theor. Exp. Plant Physiol.** 2018.

CAPÍTULO 2

Fitotoxicidade da Piperina sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Panicum maximum* Jacq.

Autores: Enes Follador Nogueira¹ • Viviana Borges Corte²

⁽¹⁾ Instituto Federal do Espírito Santo, Coordenadoria de Química e Biologia, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

⁽²⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: enogueira@ifes.edu.br

Periódico a ser submetido ou submetido: *Frontiers in plant science*

RESUMO

O aumento da demanda mundial por alimentos tem como consequência um maior consumo de agrotóxicos. Nesse cenário, o Brasil desponta como um dos principais consumidores mundiais de pesticidas, em especial, herbicidas (cerca de 45% do consumo total), agentes altamente nocivos ao ambiente e à saúde humana. Nesse contexto, pesquisas têm investigado produtos naturais com atuação mais sustentável. Entre eles, a piperina, principal alcalóide encontrada em diversos órgãos de plantas da família das Piperáceas, vêm apresentado uso potencial como inseticida, fungicida, nematocida e, com menor frequência, como herbicida. O objetivo desse trabalho foi realizar a prospecção fitoquímica de diferentes extratos de *Piper nigrum* L. bem como o efeito da piperina sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e *Panicum maximum* Jacq. (capim colonião). Para isso foram avaliadas a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e POX; teores de açúcares solúveis e amido e as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides em plântulas de *Panicum maximum* Jacq. (capim colonião), submetidas à extratos contendo piperina, visando compreender o efeito alelopático desse alcalóide sobre a daninha. Os extratos de sementes de *Piper nigrum* L., em especial o extrato EAQS800, inibiram a germinação e o crescimento inicial de capim colonião sem, entretanto, afetar de forma significativa a germinação e crescimento inicial da alface. O aleloquímico mais abundante encontrado na prospecção fitoquímica dos extratos de sementes de pimenta do reino foi o alcaloide piperina e, possivelmente, é o principal componente responsável pelo efeito alelopático desses extratos sobre a planta daninha. Ocorreu um incremento na atividade antioxidante da enzima POX acompanhado de uma redução da atividade das enzimas SOD e CAT que, provavelmente, promoveu uma lignificação das paredes celulares inibindo o crescimento das plântulas de capim submetidas aos extratos.

Palavras-chave: Piperina • capim colonião • fluorescência da clorofila • enzimas antioxidantes • pimenta do reino

ABSTRACT

The increase in world demand for food leads to a higher consumption of agrochemicals. In this scenario, Brazil emerges as one of the world's leading consumers of pesticides, especially herbicides that account for about 45% of total consumption. The indiscriminate use of pesticides is harmful to natural environments as well as to human health. There is currently an increase in the demand for healthy and contaminant-free foods. In this context, research needs to point to natural products that can be used instead of pesticides by reducing the impact of these products on natural environments and on people's health. Piperina, the main alkaloid found in several plant organs of the Piperaceae family, has been used in several studies that have demonstrated its potential use as an insecticide, fungicide, nematocide and, less frequently, as a herbicide. Guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.) is a very aggressive African grass and has caused impacts, as an invasive plant, in several agricultural crops as well as in environmental preservation areas. The objective of this work was to perform the phytochemical prospecting of different *Piper nigrum* L. extracts as well as the effect of piperine on seed germination and initial growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and *Panicum maximum* Jacq. (guinea colonium) as well as evaluate the activity of antioxidant enzymes SOD, CAT and POX; soluble and starch contents; to quantify chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids concentrations in *Panicum maximum* Jacq. (guinea grass), submitted to extracts containing piperine, aiming to understand the allelopathic effect of this alkaloid on the weed. Seed extracts of *Piper nigrum* L., in particular the EAQS800 extract, inhibited germination and initial growth of guinea grass without, however, significantly affecting the germination and initial growth of lettuce. The most abundant allelochemical found in the phytochemical prospecting of the black pepper seeds extracts was the piperine alkaloid and, possibly, is the main component responsible for the allelopathic effect of these extracts on the weed. There was an increase in the antioxidant activity of the POX enzyme accompanied by a reduction in the activity of the SOD and CAT enzymes, which probably promoted a lignification of the cell walls inhibiting the growth of the guinea grass seedlings submitted to the extracts.

Keywords: Piperine • guinea grass • chlorophyll fluorescence • antioxidant enzymes • black pepper

1. INTRODUÇÃO

As projeções populacionais mais recentes indicam crescimento acelerado e contínuo nas próximas décadas, o que elevará a demanda por alimentos e conseqüentemente, a necessidade de aumento da produção agrícola mundial (Saath e Fachinello 2018). Com esse aumento, estima-se também um crescimento do uso de agroquímicos. De acordo com Pelaez et al. (2010), o Brasil assumiu a posição de maior consumidor mundial de agrotóxicos no ano de 2010, sobressaindo assim, como um país altamente poluente no cenário internacional.

O controle químico apesar de eficiente e econômico (Vegro e Ferreira, 2000), pode gerar impactos ambientais, como a poluição do solo, águas e do próprio homem (Pignati et al., 2013; Rigotto et al., 2014). Em relação à utilização do controle químico, Londres (2011) afirma que um dos maiores perigos diz respeito aos efeitos que eles podem provocar na saúde das pessoas, principalmente daquelas que, no campo ou na indústria, ficam expostas ao contato direto com os agrotóxicos. Moreira et al. (2002) enfatizaram que o uso indiscriminado do uso de agrotóxicos leva a casos como a contaminação das águas de córregos e da água de chuvas, indicando uma contaminação atmosférica que afeta até mesmo áreas não cultivadas, como os centros urbanos, tornando a extensão de possíveis impactos ou riscos sobre a saúde ambiental de difícil mensuração.

Nesse contexto existe, atualmente, uma tendência do mercado consumidor em aumentar a demanda por alimentos livres de produtos nocivos à saúde do homem (Inagaki et al., 2018). Logo a busca por produtos naturais que proporcionem o cultivo de vegetais com qualidade e livres de agroquímicos é uma necessidade para o setor agrícola (Bettiol e Morandi, 2009) e tem impulsionado o aumento do número de pesquisas em busca de tecnologias alternativas mais racionais de exploração agrícola (Pessanha et al. 2010). Objetivando reduzir o uso de defensivos agrícolas nas lavouras, novas técnicas alternativas menos poluentes estão sendo desenvolvidas. Entre elas a alelopatia, tem sido proposta para diminuir o uso de herbicidas (Silva e Carvalho, 2009) que respondem por cerca de 45% do consumo total de agrotóxicos no Brasil (Rigotto et al., 2014). Segundo Shokouhian et al. (2016), a gestão de ervas daninhas desempenha um papel fundamental na agricultura moderna. A presença das plantas daninhas reduz a eficiência agrícola, aumentando os custos de produção. Por isso, se não manejadas adequadamente,

as plantas daninhas podem reduzir a produtividade e a qualidade da produção, devido à competição por luz, água e nutrientes (Freitas et al., 2009; Soares et al., 2010). A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (Machado et al., 2007; Dequech et al., 2009, Rando et al., 2009; Oliveira et al., 2012). Segundo Brito (2014), a prospecção sustentável de plantas dentro da biodiversidade brasileira permitirá não somente a descoberta de novas espécies com potencial pesticida, mas servirá como uma ferramenta estratégica para sua conservação e proteção.

Diversos autores têm evidenciado o potencial alelopático de várias espécies do gênero *Piper* sobre insetos e fungos (Souza Filho et al. 2009; Almeida et al. 2011; Borella et al. 2012; Pinheiro et al. 2016) e, com menor frequência, sobre plantas daninhas (Lustosa et al. 2007). Pesquisas têm revelado que algumas espécies desse gênero, como a pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), contêm compostos fitotóxicos, solúveis em água que são liberados no ambiente por meio de diferentes partes da planta (Cardoso et al., 2005). O principal aleloquímico encontrado nessa espécie é o alcaloide piperina (Parmar et al., 1997; Pissinate 2006; Bomtempo, 2007; Reigada, 2009; Oliveira et al., 2014) que apresenta reconhecida atividade citotóxica (Cardoso et al., 2005; Bomtempo, 2007; Bong, 2010; Abbasi et al., 2010; Khan et al., 2010).

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo verificar o potencial fitotóxico da piperina na germinação de sementes e no crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. e *Panicum maximum* L. buscando elucidar as alterações fisiológicas que esse alcalóide pode ocasionar à daninha.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes e Ecofisiologia Florestal da Universidade Federal do Espírito Santo - LASEF/UFES. Utilizaram-se sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), da variedade lisa e de capim colônia da variedade Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) obtidas comercialmente. Como definido em trabalho anterior, o extrato de semente de *Piper nigrum* L., na concentração de 800

mg/L, apresentou o maior efeito fitotóxico sobre as sementes de capim colonião. Para a obtenção dos extratos estudados foi utilizado o etanol como solvente. Segundo Falkenberg et al. (2010), esse solvente permite que praticamente todos os constituintes de interesse sejam extraídos, já que a grande maioria apresenta alguma solubilidade em misturas etanólicas. Por essa razão, foi produzido um extrato etanólico de sementes que passou por um fracionamento químico.

Nesse fracionamento foram gerados cinco diferentes tipos de extratos: hexânico, de acetato de etila, diclorometanólico, butanólico e aquoso, todos com concentração de 800 mg/L (extratos EHS800, EAES800, EDMS800, EBS800 e EAQS800, respectivamente). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para as duas espécies (capim e alface), um órgão vegetal (semente), cinco extratores (hexânico, de acetato de etila, diclorometanólico, butanólico e aquoso,) e duas concentrações (0 mg/L e 800 mg/L) com cinco repetições, totalizando 100 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma placa de Petri com 20 sementes.

2.2 Obtenção dos extratos de sementes de pimenta do reino

Sementes de pimenta do reino foram coletados de um cultivo comercial localizado no município de São Mateus, norte do Espírito Santo. Após a coleta, o material foi acondicionado em sacos de papel e depositados em estufa Solab modelo SL-100, com ventilação forçada, mantida a temperatura constante de 40°C durante 3 dias. Para a preparação dos extratos, após a desidratação, as sementes foram trituradas em liquidificador industrial Metvisa LAR2 por 20 minutos a temperatura ambiente. O material obtido foi submergido em etanol e permaneceu macerando por 7 dias. Após esse período, o macerado foi filtrado em papel filtro e foi realizado o fracionamento em um balão volumétrico de 1 L com hexano, acetato de etila, diclorometano, butanol e água,

Os extratos obtidos foram colocados para secar em capela com corrente de ar forçada. Após a secagem dos solventes, o material seco obtido foi diluído em água destilada para se obter a concentração de 800 mg/L. Afim de verificar a ação dos extratos sobre a germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas de alface e capim colonião, a água destilada foi utilizada como controle (0 mg/L).

2.3 Bioensaios de germinação e crescimento

A partir dos extratos fracionados (extratos EHS800, EAES800, EDMS800, EBS800 e EAQS800), foram realizados os bioensaios de germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* e *Panicum maximum*, avaliando-se os parâmetros IVG (Índice de velocidade de germinação), G (Percentual de germinação), TMG (Tempo médio de germinação), IA (Índice de Alelopatia), CPA (Crescimento da parte aérea) e CR (Crescimento da radícula).

Para o teste de germinação, cinco repetições de 20 sementes, para cada espécie, foram semeadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo duas folhas de papel germitest esterilizadas, umedecidas com 3 mL de extratos nas concentrações 0 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L e 800 mg/L. Em seguida, as placas foram mantidas em câmara de germinação B.O.D. Tecnal, modelo TE-4020 LED, sob iluminação constante mantida por lâmpadas brancas fluorescentes de 25 W, do tipo luz do dia, a 20°C para a alface e 25°C para o capim colônia (Tomaz et al., 2010) por sete dias. Foram avaliados o percentual de germinação (G), indicado pelo número de sementes germinadas, ou seja, aquelas que apresentavam protrusão da radícula maior que 2mm (BRASIL, 2009), o índice de velocidade de germinação (IVG) (Maguire 1962), o tempo médio de germinação (TMG) (Lopes e Franke, 2011) e o índice de alelopatia (IA) (Balsalobre et al. 2006). Após sete dias foram medidos os comprimentos da radícula e da parte aérea das plântulas com auxílio de um paquímetro digital e os resultados médios expressos em centímetros por plântula.

2.4 Prospecção fitoquímica dos extratos fracionados

Foi realizada a prospecção fitoquímica para identificação dos grupos químicos presentes em cada um dos cinco diferentes extratos. Para tanto se utilizou a técnica de ionização por eletrospray acoplada com um analisador FT-ICR MS (ESI-FT-ICR MS) de altíssima resolução e exatidão. A Espectrometria de massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier (FT-ICR MS) com fontes de ionização a pressão atmosférica – ESI (ionização por electro spray) é considerada, até o momento e de acordo com diversos autores (Romão, 2010;

Hoffman e Stroobant, 2007), o tipo mais complexo de analisador de massas e com alto poder de resolução.

2.5 Avaliação da massa seca e da concentração de metabólitos primários (glicose, frutose, sacarose e amido)

A partir do extrato com maior potencial alelopático encontrado, foi realizada uma avaliação comparativa da massa seca produzida e da concentração de metabólitos primários como glicose, frutose, sacarose e amido entre o tratamento e seu respectivo controle. Para a massa seca, foi seguida a mesma metodologia de bioensaios de germinação e crescimento inicial (Borella, 2012), a concentração dos metabólitos primários solúveis foi quantificada segundo Pollock (1986) e concentração de amido foi quantificada de acordo com Allen et al. (1974) e Dubois et al. (1956).

2.6 Concentração de clorofila a, clorofila b e carotenóides,

Também foi realizada a quantificação das concentrações de Clorofila *a*, Clorofila *b* e carotenóides a partir da massa fresca produzida no bioensaio com o extrator de maior potencial alelopático. A determinação dos pigmentos fotossintéticos foi realizado com 0,04 g de tecido foliar. As amostras foram homogeneizadas no escuro e na presença de 2 mL de acetona a 80% (Nuclear). Subsequentemente o homogeneizado foi centrifugado por 15.000 g. por 10 min a uma temperatura de 4 °C, em que o sobrenadante foi removido e realizada a quantificação das clorofilas *a*, *b* e carotenóides utilizando espectrofotômetro Agilent, modelo UV-Vis Care Win, de acordo com metodologia proposta por Arnon (1949) e Lichtentaler (1987).

2.7 Produção dos extratos para avaliar atividade enzimática

Os extratos enzimáticos brutos para as determinações das atividades da catalase (CAT), da peroxidase (POX) e da superóxido dismutase (SOD) foram obtidos pela maceração de 0,3 g de sementes de capim, previamente submetidas à germinação em nanoemulsão de extrato aquoso de pimenta do reino por 24 horas, à 25°C. Após esse período, as sementes foram submetidas a N₂ líquido, seguido da adição de 2,0 mL do seguinte meio de homogeneização: tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH

6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto et al., 1999). Seguiu-se centrifugação a 12.000 xg por 15 minutos, a 4°C, obtendo-se um extrato enzimático bruto. A reação mede produto consumido (H₂O₂).

2.8 Determinação da atividade enzimática

2.8.1 Determinação da atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de potássio 100 mM, pH 6,8 e H₂O₂ 12,5 mM (Havir e Mchale, 1987). O decréscimo na absorbância a 240 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da CAT determinada com base na inclinação da reta após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M cm⁻¹ (Anderson et al., 1995) e o resultado expresso em µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína. Foram utilizadas quatro repetições com duplicatas.

2.8.2 Determinação da atividade da peroxidase (POX, EC 1.11.1.7)

A atividade da peroxidase foi determinada pelo método de Kar & Mishra (1976). Alíquotas de 50 µL do extrato enzimático foram adicionados a 2,95 mL de uma mistura de reação constituída de tampão de fosfato de potássio 100mM, pH 6,8, pirogalol 20 mM e H₂O₂ 20 mM. O acréscimo na absorbância a 420 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante dois minutos de reação pela produção de purpurogalina, sendo, a atividade da POX determinada com base na inclinação da reta, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM cm⁻¹ (Chance e Maehley, 1955) e o resultado expresso em µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína. Foram utilizadas quatro repetições com duplicatas. O pirogalol incolor age como doador de elétrons para reduzir o H₂O₂ a H₂O e forma um composto oxidado colorido (purpurogalina). A reação mede quantidade de produto formado.

2.8.3 Determinação da atividade das superóxido dismutase (SODs, EC 1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de um meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 7,8, contendo metionina 50 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 1 mM, EDTA 5 mM e riboflavina 10 mM (Del Longo et al., 1993). A reação foi conduzida a 25°C numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W mantida no interior de uma caixa fechada. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (Giannopolitis e Ries, 1977). A absorbância a 560 nm, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro, por igual tempo, serviu de “branco” e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971). Foram utilizadas quatro repetições com duplicatas.

2.9 Análise estatística

Os resultados obtidos referentes aos parâmetros IVG, G, TMG, IA, CPA E CR foram submetidos, por meio do software IBM® SPSS® Statistics versão 25, a uma análise de variâncias (ANOVA oneway) para cada espécie e as médias, em cada tratamento, foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Já os resultados obtidos referentes às variáveis massa seca, açúcares solúveis, amido, Chl a, Chl b, carotenoides e atividade das enzimas antioxidantes foram submetidos, por meio do software IBM® SPSS® Statistics versão 25, ao teste T de Student e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Prospecção fitoquímica dos extratos fracionados

A prospecção fitoquímica foi realizada por espectrometria de massas de ressonância ciclôtrica de íons por transformada de Fourier (FT-ICR MS) utilizando eletrospray (ESI - electrospray ionization) como técnica de ionização, que permite a detecção de milhares de compostos polares. Os resultados obtidos encontram-se ilustrados na Figura 1 sendo que os picos se referem à intensidade relativa dos componentes encontrados em cada extrato.

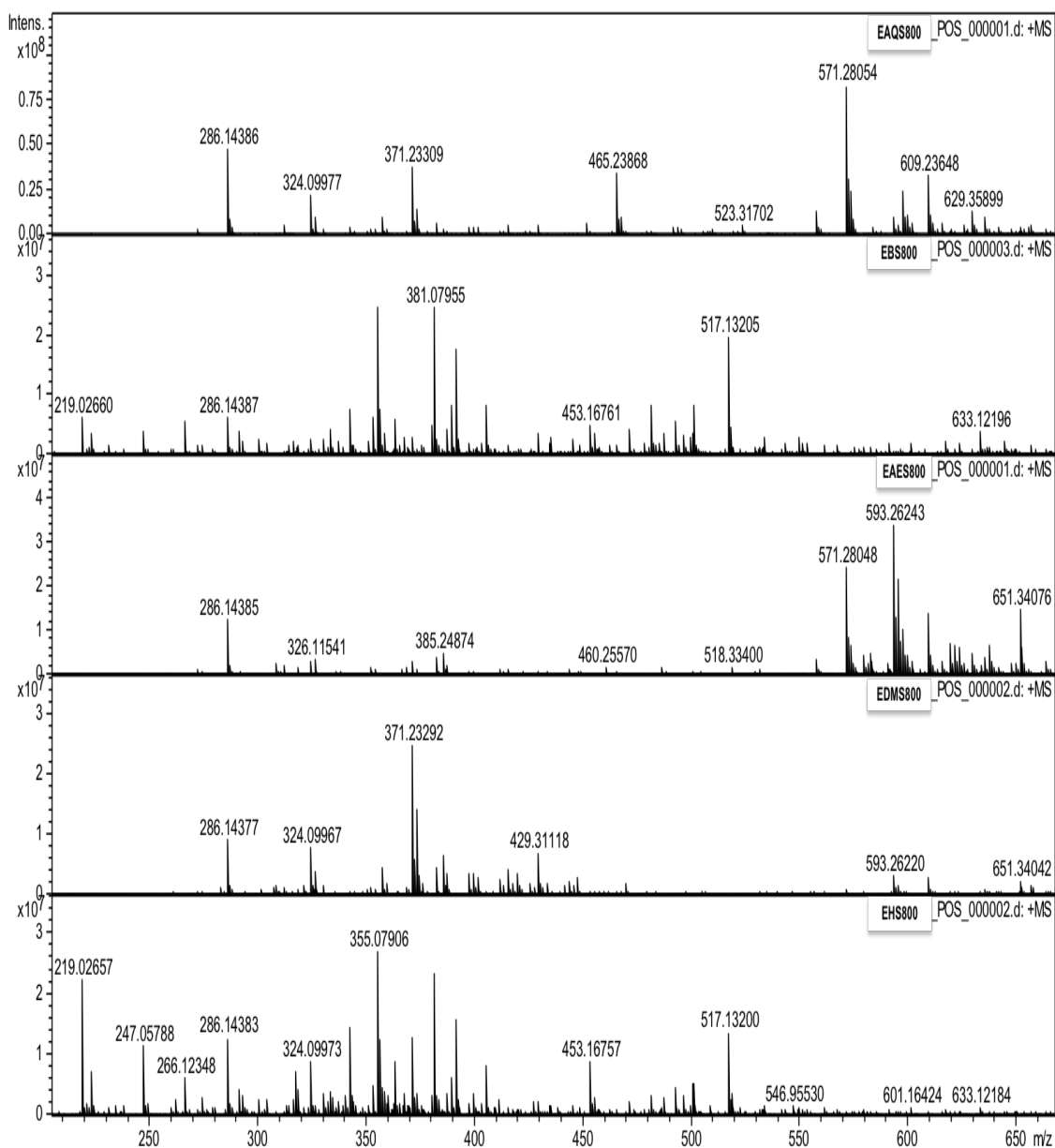


Figura 1: Espectros referentes aos componentes fitoquímicos encontrados, por meio da técnica FT-ICR MS/ESI, em cada um dos extratos fracionados.

Uma grande quantidade de piperamidas e açúcares simples foram identificados a partir da FT-ICR MS/ESI. Para fins de comparação, essa pesquisa restringiu-se à piperina e aos açúcares encontrados nos extratos utilizados e indicados na Tabela 1. A partir desses dados é possível perceber que todos os extratos, exceto o extrato EBS800, apresentaram picos significativos de piperina como principal alcaloide (Tabela 1). Esses resultados corroboram as informações de diferentes autores que afirmam ser a piperina o alcalóide majoritário do Gênero *Piper* (Fani, 1992; Roger, 1998; Chaudhry e Tariq, 2006; Pissinate 2006; Bomtempo, 2007; Xiang et al., 2017). Silva et al. (2017), afirmam que estudos realizados em relação a composição química do gênero *Piper* identificou como as amidas mais ativas a piperina e a β e α -Diidropiperina. Parmar et al. (1997) afirmam que essas amidas são abundantes nesse gênero sendo que, uma das mais importantes, é a piperina, isolada de mais de 20 espécies de *Piper*, principalmente das sementes de *P. nigrum*. Associado a isso, sabe-se que a piperina possui reconhecida atividade citotóxica inibindo diversas vias citocrômicas (Bomtempo 2007, Bong 2010, Cardoso et al. 2005; Abbasi et al. 2010 e Khan et al. 2010). Essa propriedade pode estar associada ao efeito fitotóxico sobre a germinação das sementes e desenvolvimento inicial das plântulas de capim colônia.

A piperina é um alcaloide amídico, componente majoritário da pimenta-do-reino, tal alcaloide pode influenciar o desenvolvimento das plantas principalmente a germinação, tendo efeitos alelopáticos (Molish, 1937). Na espécie *Piper nigrum*, a piperina se distribui tanto nas folhas e caules quanto nos frutos, onde ocorre em maior proporção (Semler e Gross, 1988) sendo que isso também foi observado em estudo anterior onde se verificou maior ação fitotóxica nos extratos de sementes quando comparados aos extratos de folhas (Capítulo 1).

Outra constatação pertinente é a presença de picos de considerável intensidade para açúcares simples presentes no extrato EBS800. Tal disponibilidade de açúcares tem potencial para favorecer o desenvolvimento de plântulas, na condição de drenos fortes, por se apresentarem como fonte para as mesmas. Lemes et al. (2016), por exemplo, observou que *Miltonia avescens* apresentou maior crescimento quando cultivada por 180 dias em meio nutritivo suplementado com sacarose. Como o extrato EBS800 foi o único que não apresentou efeito fitotóxico

sobre a germinação e crescimento inicial de capim colonião e também foi o único no qual não se verificou picos significativos de piperina pela técnica FT-ICR MS/ESI, além de apresentar grande disponibilidade de açúcares simples, é possível inferir que a piperina talvez seja o principal aleloquímico responsável pela inibição da espécie daninha.

Tabela 1: Resultado da prospecção fitoquímica para os extratos fracionados

[M+H] ⁺	Fórmula molecular	Compostos	INTENSIDADE relativa % (ESI ⁺ para piperinas e ESI ⁻ para açúcares)				
			EAQS 800	EBS 800	EAES 800	EDMS 800	EHS 800
286,14385	C ₁₇ H ₂₀ NO ₃	piperina	57,8	26,2	37,2	37,4	47,0
308,12582	C ₁₇ H ₁₉ NNaO ₃	piperina / Na ⁺	1,1	0,0	7,8	7,3	2,2
324,09976	C ₁₇ H ₁₉ KNO ₃	piperina / K ⁺	26,3	10,2	9,9	32,1	32,9
571,28048	C ₃₄ H ₃₉ N ₂ O ₆	piperina x2	100,0	1,4	73,0	4,6	0,0
593,26243	C ₃₄ H ₃₈ N ₂ NaO ₆	piperina x2 / Na ⁺	11,6	0,0	100,0	13,4	0,0
609,23639	C ₃₄ H ₃₈ KN ₂ O ₆	piperina x2 / K ⁺	40,2	0,0	42,0	11,8	0,0
381,07948	C ₁₂ H ₂₂ KO ₁₁	dissacarídeo / K ⁺	0,0	100,0	0,0	0,0	86,3
179,05613	C ₆ H ₁₁ O ₆	glicose	1,7	2,0	0,9	0,0	1,9
215,03275	C ₆ H ₁₂ ClO ₆	glicose / Cl ⁻	62,1	100,0	0,0	0,0	100,0
377,08566	C ₁₂ H ₂₂ ClO ₁₁	sacarose / Cl ⁻	3,1	12,3	0,0	0,0	7,9
359,12006	C ₁₂ H ₂₃ O ₁₂	sacarose / H ₂ O	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0
453,33936	C ₃₀ H ₄₅ O ₃	triterpeno ácido	0,0	0,0	0,0	10,9	0,0
469,33430	C ₃₀ H ₄₅ O ₄	triterpeno ácido	0,0	0,0	0,0	21,5	0,0

3.2 Influência dos tratamentos com extratos produzidos a partir do fracionamento do extrato etanólico de sementes de *Piper nigrum* L. sobre a germinação e crescimento inicial de *Panicum maximum* Jacq.

Quanto ao IVG, nenhum dos extratos apresentou diferença significativa em relação ao controle. Entretanto, observou que o extrato EBS800 promoveu um pequeno aumento nesse índice favorecendo a planta. Provavelmente, isso ocorreu em função da pequena presença de piperinas e expressiva presença de açúcares simples nesse extrato. Todos os extratos promoveram a redução da G e aumento

do IA na daninha. As reduções mais expressivas ocorreram nos tratamentos com os extratos EDMS800 e EAQS800 que reduziram em 60% o G do capim colônia e onde foram verificadas as maiores intensidades de piperinas. Muitos compostos tais como ácidos fenólicos, alcalóides, flavonóides e poliaminas alteram a capacidade de absorção de água das sementes (Einhelig, 2000; Botelho et al., 2001, Miranda et al., 2012) e, dessa forma, o alcaloide piperina pode ter comprometido o percentual de germinação das sementes por ter reduzido a capacidade de absorção de água das mesmas.

Não houve alteração significativa quando o TMG dos tratamentos foi comparado ao controle (tabela 2). Foi no crescimento inicial que se observou o maior efeito alelopático dos extratos de sementes de *Piper nigrum* L, pois em geral, as raízes são mais sensíveis às substâncias presentes nos extratos quando comparadas com as demais estruturas das plântulas (Chon et al., 2000). Isso se deve ao fato de as raízes estarem em contato direto e prolongado com o extrato (aleloquímicos) em relação às demais estruturas das plântulas (Chung et al., 2001), e/ou a um reflexo da fisiologia distinta entre as estruturas (Aquila et al., 1999). Por isso o crescimento inicial das plântulas tende a ser mais sensível do que a germinação das sementes podendo os aleloquímicos promoverem a formação de raízes necrosadas ou plântulas anômalas. Dessa forma, mesmo germinando, muitas vezes a plântula não consegue se estabelecer (Ferreira e Áquila 2000; Ferreira e Borguetti, 2004). Tais efeitos foram observados por ação dos extratos EAES800 e EDMS800 que reduziram em 85% o CPA das plântulas de capim enquanto o extrato EAQS800 promoveu uma redução de 79% nessa variável. O extrato EAES800 promoveu uma redução média do CR de 86% enquanto os extratos EDMS800 e EAQS800 reduziram o CR das plântulas de capim em 83%. Essa condição afeta, consideravelmente, a capacidade de absorção radicular dessas plântulas comprometendo, por exemplo, sua capacidade de absorção de água e nutrientes minerais.

Esses resultados indicam que esses extratos têm componentes que, em princípio, apresentam potencial para o uso como herbicida natural. A ANOVA de uma via mostrou que existe efeito do tratamento sobre as variáveis G, IA, CPA e CR, respectivamente:

G: [F(5,18)= 44,255; p < 0,05]

IA: [F(5,18)= 44,278; p < 0,05]

CPA: [F(5,18)= 4,675; p < 0,05]

CR: [F(5,18)= 2,250; p < 0,05]

Tabela 2: Análise de Variância e comparação de médias (5% Tukey) para os tratamentos com os extratos fracionados de semente de *Piper nigrum*.

Tratamento	IVG	G	TMG	IA	CPA	CR
Controle	0,25 ^a ±0,02	0,77 ^a ±0,02	4,07 ^a ±0,31	17,20 ^a ±2,15	1,81 ^a ±0,07	2,63 ^a ±0,11
EHS800	0,24 ^a ±0,02	0,36 ^b ±0,05	4,13 ^a ±0,30	61,29 ^b ±4,97	0,65 ^c ±0,03	0,97 ^c ±0,04
EAES800	0,21 ^{ab} ±0,01	0,38 ^b ±0,05	4,67 ^{ab} ±0,21	59,14 ^b ±5,55	0,27 ^b ±0,05	0,37 ^b ±0,09
EDMS800	0,24 ^a ±0,02	0,31 ^b ±0,04	4,11 ^a ±0,28	66,67 ^b ±4,12	0,27 ^b ±0,03	0,45 ^b ±0,08
EBS800	0,28 ^{ac} ±0,03	0,64 ^c ±0,03	3,61 ^{ac} ±0,45	31,18 ^c ±3,51	1,82 ^a ±0,08	2,60 ^a ±0,06
EAQS800	0,23 ^{ab} ±0,02	0,31 ^b ±0,02	4,35 ^a ±0,37	66,67 ^b ±2,15	0,38 ^b ±0,02	0,45 ^b ±0,02

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

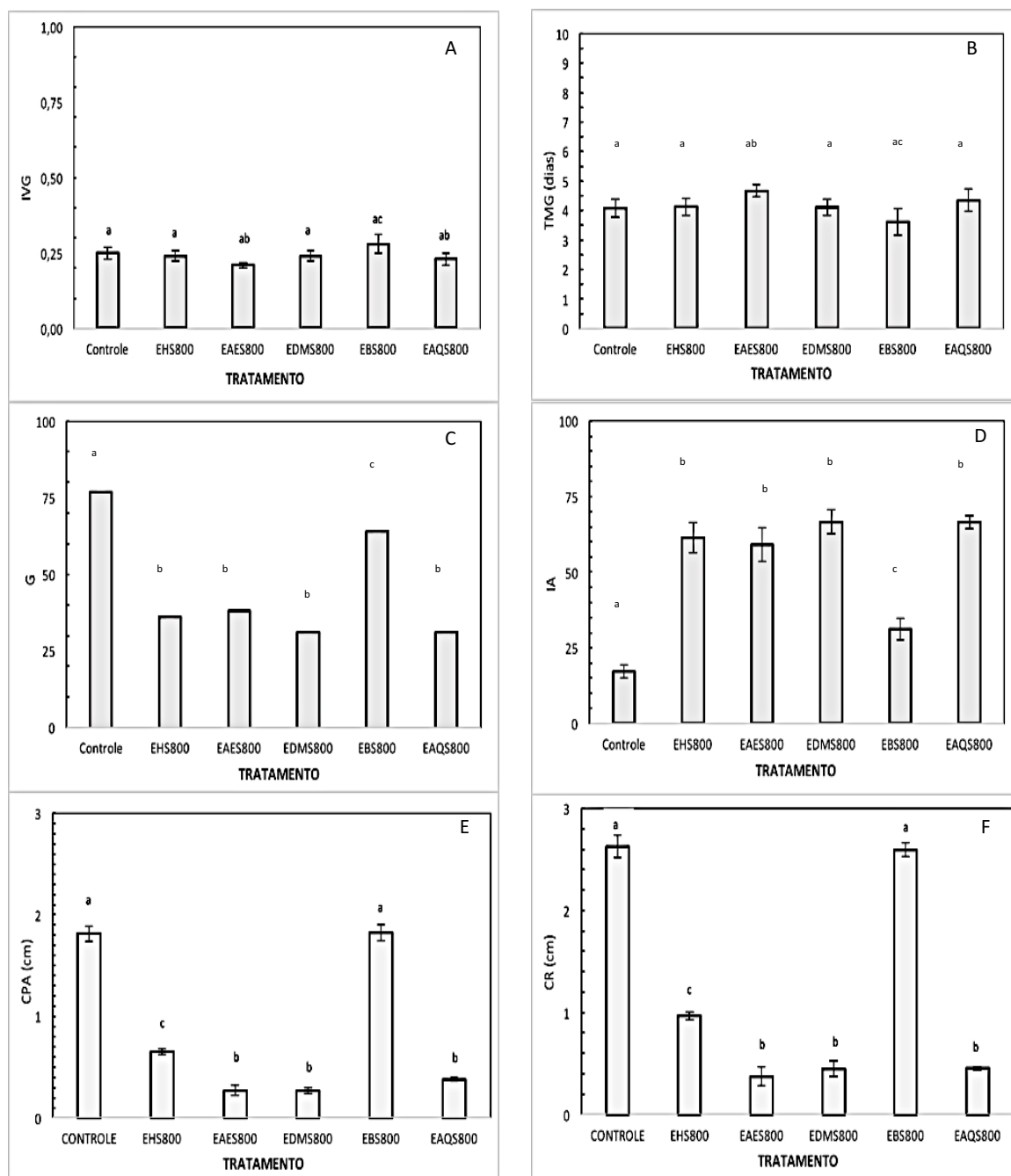


Figura 2 - G, IA, IVG, TMG, CPA e CR de sementes de capim colônião submetidas a extratos de sementes de *Piper nigrum* L. (Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Tukey).

Nesse caso vale ressaltar que o extrato EDMS800, apesar de não ter apresentado picos de piperina tão acentuados como o extrato EAQS800, foi o único em que se observou a presença de triterpenos ácidos, compostos conhecidos pela sua atividade antiproliferativa e proapoptótica por, aparentemente, comprometer a

formação do fuso mitótico (Antonisamy, 2011). Uma explicação possível para esse resultado seria a ação aditiva desses dois aleloquímicos sobre a germinação e crescimento inicial das sementes de *Panicum maximum*. Nesse caso, também foi verificado a ausência de interferência do extrato EBS800 sobre o crescimento inicial das plântulas de capim. A não observância de diferença significativa entre os crescimentos aéreo e radicular das plântulas de capim utilizadas como controle e aquelas submetidas ao tratamento com o extrato EBS800 pode ser atribuída, aparentemente, ao fato de o extrato EBS800 não apresentar picos significativos de piperina ou outras piperamidas e apresentar a presença forte de açúcares simples solúveis, quando comparado aos demais extratos. A baixa fitotoxicidade do extrato bem como a disponibilidade de nutrientes (Lemes et al., 2016), provavelmente, contribuíram para o crescimento inicial das referidas plântulas.

3.3 Influência do tratamento com extratos produzidos a partir do fracionamento do extrato etanólico de sementes de *Piper nigrum* L. sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.

Para fins de verificar a viabilidade de uso agrícola dos extratos com potencial herbicida, realizamos os mesmos testes de germinação e crescimento inicial com a cultivar *Lactuca sativa*. A escolha por essa cultivar se deve ao fato dessa espécie apresentar sementes de fácil acesso e sensíveis a vários aleloquímicos (Coelho et al., 2011). Segundo Ferreira e Aquila (2000), a *Lactuca sativa* é uma das espécies mais sensíveis aos metabólitos secundários e por isso muito usada em biotestes em laboratório, além de apresentar rápida resposta ao extrato devido ao seu baixo tempo de germinação.

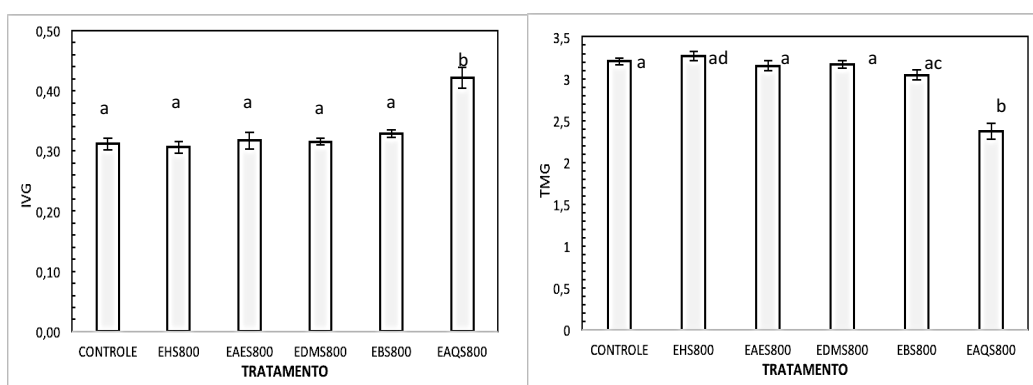
Tabela 3: Análise de Variância e comparação de médias (5% Tukey) para os tratamentos com os extratos fracionados de semente de *Piper nigrum*.

	IVG	G	TMG	IA	CPA	CR
Controle	0,31 ^a ±0,01	1,00 ^a ±0,00	3,21 ^a ±0,04	-7,53 ^a ±0,00	0,70 ^a ±0,02	1,55 ^a ±0,10
EHS800	0,31 ^a ±0,01	0,93 ^{ab} ±0,07	3,27 ^{ad} ±0,06	0,00 ^{ab} ±0,00	0,58 ^a ±0,08	0,65 ^e ±0,06
EAES800	0,32 ^a ±0,01	0,84 ^b ±0,03	3,15 ^a ±0,06	9,68 ^b ±0,51	0,60 ^{ab} ±0,00	0,50 ^b ±0,00
EDMS800	0,32 ^a ±0,01	0,95 ^a ±0,04	3,17 ^a ±0,05	-2,15 ^a ±0,00	0,55 ^{ae} ±0,06	0,50 ^b ±0,00
EBS800	0,33 ^a ±0,01	0,93 ^{ab} ±0,06	3,04 ^{ac} ±0,05	0,00 ^{ab} ±0,00	1,00 ^d ±0,08	1,17 ^d ±0,08
EAQS800	0,42 ^b ±0,02	0,96 ^a ±0,03	2,38 ^b ±0,09	-3,23 ^a ±3,51	0,74 ^{ac} ±0,06	0,93 ^c ±0,03

Apenas o extrato EAQS800 promoveu um aumento no IVG e uma redução do TMG das sementes de alface, favorecendo-as, enquanto os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas em relação controle. O extrato EAES800 ocasionou uma pequena redução (16%) do G das sementes de alface provocando um leve aumento do IA. Os demais tratamentos não provocaram nenhuma diferença significativa. Lima et al. (2015) também observaram que extratos de *Piper aduncum* L. apresentaram efeito alelopático apenas no índice de velocidade de germinação e não na porcentagem de germinação de sementes de cebola.

Quanto a CPA, a única diferença encontrada foi no tratamento com o extrato EBS800 que elevou a média dessa variável em, aproximadamente, 42% quando comparado ao controle. Natali et al. (2009) afirmaram que, em dois tratamentos com extratos aquosos de pimentas do reino e rosa (*Piper nigrum* e *Schinus terebinthifolius* Raddi, respectivamente), o comprimento da parte aérea das plântulas de alface aumentou 30% quando comparado ao controle. Como esperado (Aquila et al., 1999; Chon et al., 2000; Chung et al., 2001), todos os extratos afetaram o CR das plântulas de alface sendo que os extratos EBS800 e EAQS800 foram os tratamentos que menos prejudicaram as plântulas. Esses resultados também corroboram aqueles encontrados por Natali et al. (2009) que perceberam uma diminuição do comprimento da radícula de plântulas de alface tratadas com extratos aquosos de pimenta do reino (*P. nigrum* L.) e pimenta rosa (*S. terebinthifolius* Raddi) em, praticamente, todos os tratamentos utilizados.

Dessa forma é possível inferir que os extratos testados não comprometeram, significativamente, a germinação das sementes e o crescimento inicial de plântulas de alface (com exceção do CR) ou influenciaram positivamente tais variáveis.



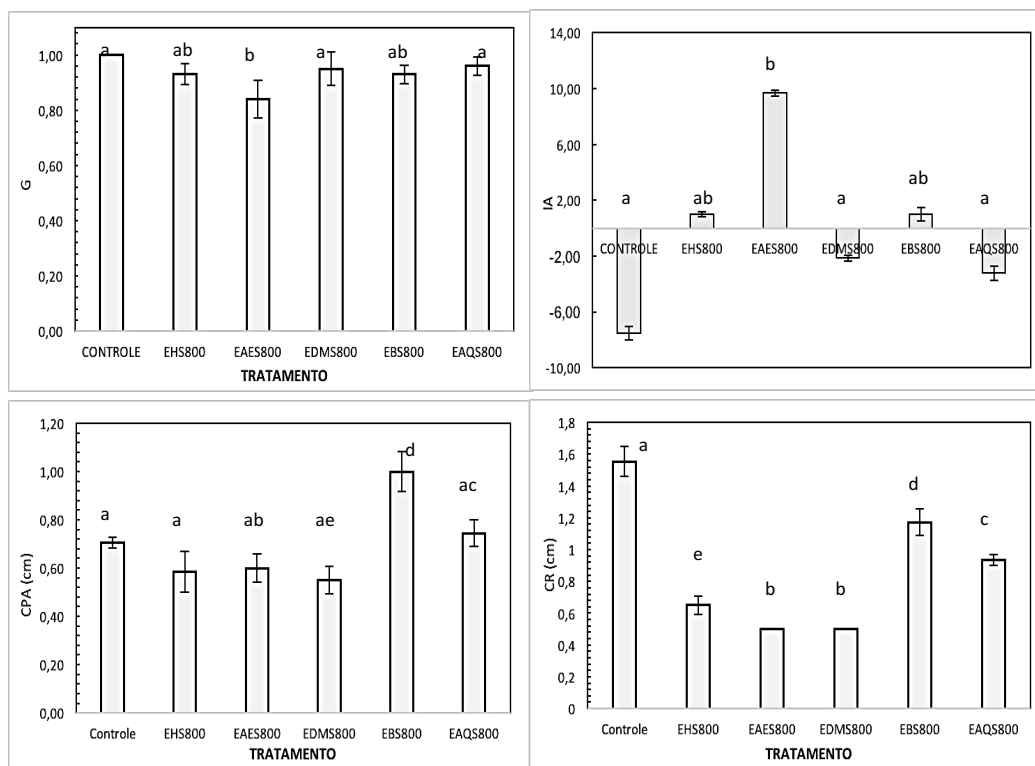


Figura 3: G, IA, IVG, TMG, CPA e CR de sementes de alface submetidas a extratos de sementes de *Piper nigrum* L. (Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não apresentam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Tukey).

O extrato EBS800, apesar de ter sido o mais favorável à cultivar, não afetou significativamente o crescimento da daninha (Figura 3 e tabela 3). Por outro lado, o extrato EAQS800 foi o que menos prejuízos causou à cultivar e, ao mesmo tempo, comprometeu a germinação e o crescimento inicial do capim colômbio. Sendo assim, o extrato EAQS800 (Figura 3 e tabela 3) parece ser o mais indicado no que se refere ao controle da daninha. E, por essa razão, esse extrato foi selecionado para os demais testes para se investigar os mecanismos de ação da piperina sobre a germinação e crescimento inicial de *P. maximum*. Elucidar os mecanismos pelos quais ocorre o efeito inibitório é fundamental pois, de acordo com Inderjit e Duke (2003), embora exista vasta literatura acerca de espécies com potencialidades alelopáticas, prevalece ainda uma lacuna no que tange aos efeitos das substâncias alelopáticas sobre o metabolismo dos vegetais.

3.4 Teores de massa seca, de açúcares solúveis e de amido.

Os resultados permitiram identificar o extrato EAQS800 como aquele, entre os testados, com maior potencial fitotóxico sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de capim colômbio pois, além de apresentar efeito inibidor sobre a daninha, foi o que menos afetou negativamente a cultivar. Em face desse resultado, um novo bioensaio com mesmo perfil dos anteriores foi realizado apenas com esse extrato afim de se obter a influência do mesmo sobre a massa seca e os teores de açúcares solúveis e amido nas plântulas de capim colômbio (tab. 4).

Tabela 4: Concentração média de massa seca, açúcares solúveis em 50 mg de massa seca e amido.

Tratamento	Massa seca média por placa (g)	Glicose (g)	Frutose (g)	Sacarose (g)	Amido (mg/g de massa seca)
Controle	0,1339 ^a ±0,005	0,1 ^a ±0,001	0,13 ^a ±0,02	0,97 ^a ±0,001	25,93 ^a ±0,01
EAQS800	0,0785 ^b ±0,001	0,06 ^b ±0,002	0,02 ^b ±0,001	0,66 ^b ±0,002	27,16 ^b ±0,04

Os resultados da Tabela 2 evidenciam uma clara redução da concentração de açúcares solúveis e amido além de uma menor produção de massa seca no tratamento com o extrato EAQS800 quando comparado ao seu controle. Entretanto, verifica-se uma maior disponibilidade de amido, por unidade massa seca, nas plântulas submetidas ao extrato. McCormick et al. (2008), afirmaram que a fotossíntese em cana de açúcar torna-se inibida com o aumento da concentração de hexoses nas folhas. Sales et al. (2012), por sua vez, concluíram que o acúmulo de amido ao invés de hexoses, em condições limitantes, seria benéfico uma vez que as plantas teriam uma reserva de carboidratos na fase de retomada do crescimento. Diversos autores (Smith e Stitt, 2007; Sulpice et al., 2009; Sala et al., 2012) têm relacionado padrões de regulação gênica com a dinâmica de armazenamento de carboidratos não estruturais em plantas com limitado suprimento de carboidratos. Nessa condição, essas plantas teriam seu crescimento inibido a curto prazo, porém, como estratégia para otimizar o seu crescimento a longo prazo, as plantas favoreceriam o acúmulo de amido. Dessa forma, é possível

sugerir que as plântulas de capim colonião responderam ao estresse causado pelo extrato EAQS800 intensificando, dentro dos limites fisiológicos impostos, seu armazenamento de amido.

3.5 Concentração de Clorofila a, clorofila b e carotenóides.

Com a massa seca produzida a partir de plântulas tratadas com o extrato EAQS800 foram mensurados os teores de clorofila a, clorofila b e carotenóides. A Tabela 5 indica que houve diferença significativa, entre o tratamento com o extrato EAQS800 e o controle, em todos os parâmetros avaliados.

Tabela 5: Concentração de pigmentos fotossintetizantes. Valores seguidos por letras diferentes apresentam diferença entre si ($P < 0.05$); \pm representa o desvio padrão da média.

Tratamento	Chl a (mg/g de massa seca)	Chl b (mg/g de massa seca)	Car (mg/g de massa seca)
Controle	4,94 ^a ±0,0004	2,58 ^a ±0,0001	1,50 ^a ±0,0003
EAQS800	6,08 ^b ±0,0003	2,94 ^b ±0,0003	1,81 ^b ±0,0006

Pode-se observar que houve um aumento na concentração de todos os pigmentos fotossintéticos. Verificou-se um incremento de 23,07%, 13,95% e 20,66% nos teores de Chl a, Chl b e Carotenóides, respectivamente. Maddah e Kashani (2011) também observaram o aumento dos pigmentos fotossintéticos em diversas espécies de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. Aumento no teor de clorofila em resposta ao estresse hídrico também foram observados por outros autores (Paulus et al., 2010; Jalalpoori, 2013). Moura et al. (2016) verificaram o aumento da concentração de pigmentos fotossintéticos em tratamentos com *Jatropha curcas* L. submetidos à estresse hídrico e concluíram que essa espécie respondeu, ao tratamento, potencializando o desempenho da assimilação fotossintética do CO₂ na tentativa de manter o seu desenvolvimento. Segundo

Valenzuela et al. (2005), O incremento nos teores de clorofila pode ser resultado do desenvolvimento do cloroplasto (aumento no número de tilacóides) ou do aumento no número de cloroplastos sugerindo a ativação de um mecanismo de proteção ao aparato fotossintético. Considerando que houve uma limitação ao crescimento das plântulas submetidas ao tratamento com extrato EAQS800 e um aumento percentual do armazenamento de amido pode-se sugerir que o incremento nos teores de pigmentos fotossintéticos observados nesse trabalho seria um possível ajuste fisiológico promovido pelas plântulas sob estresse na tentativa de garantir seu desenvolvimento quando em condições mais favoráveis.

3.6 Atividade das enzimas antioxidantes

As sementes de alface submetidas ao tratamento com o extrato EAQS800 apresentaram aumento apenas na atividade da enzima CAT quando comparada ao seu controle. Não houve diferença significativa quanto à atividade das enzimas SOD e POX entre as sementes de alface tratadas com o extrato EAQS800 e o controle (figura 4). Aumonde et al. (2012), obtiveram significativo aumento da atividade das enzimas SOD e CAT quando trataram alface com extratos de extrato de folhas de *Zantedeschia aethiopica* Spreng. Diversos autores têm relatado incremento na atividade das enzimas CAT, SOD e POX em resposta ao estresse imposto pela ação de extratos vegetais (Singh et al., 2009; Singh et al., 2013, Bulegon et al., 2015). A enzima superóxido-dismutase promove a dismutação de radicais superóxido a peróxido de hidrogênio (Ahmed et al., 2009), enquanto, a catalase degrada o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular (Gill e Tuteja, 2010). Tal ação ocorre visando a detoxificação dos tecidos, contudo, deve haver uma relação de equilíbrio entre a síntese e a degradação de radicais livres, visando evitar o estresse oxidativo (Li et al., 2010). Neste trabalho, os resultados indicam que a alface foi capaz de contornar o estresse provocado pelo extrato EAQS800 apenas aumentando a atividade da enzima CAT. Isso corrobora o pouco efeito tóxico desse extrato sobre a germinação e crescimento inicial da cultivar.

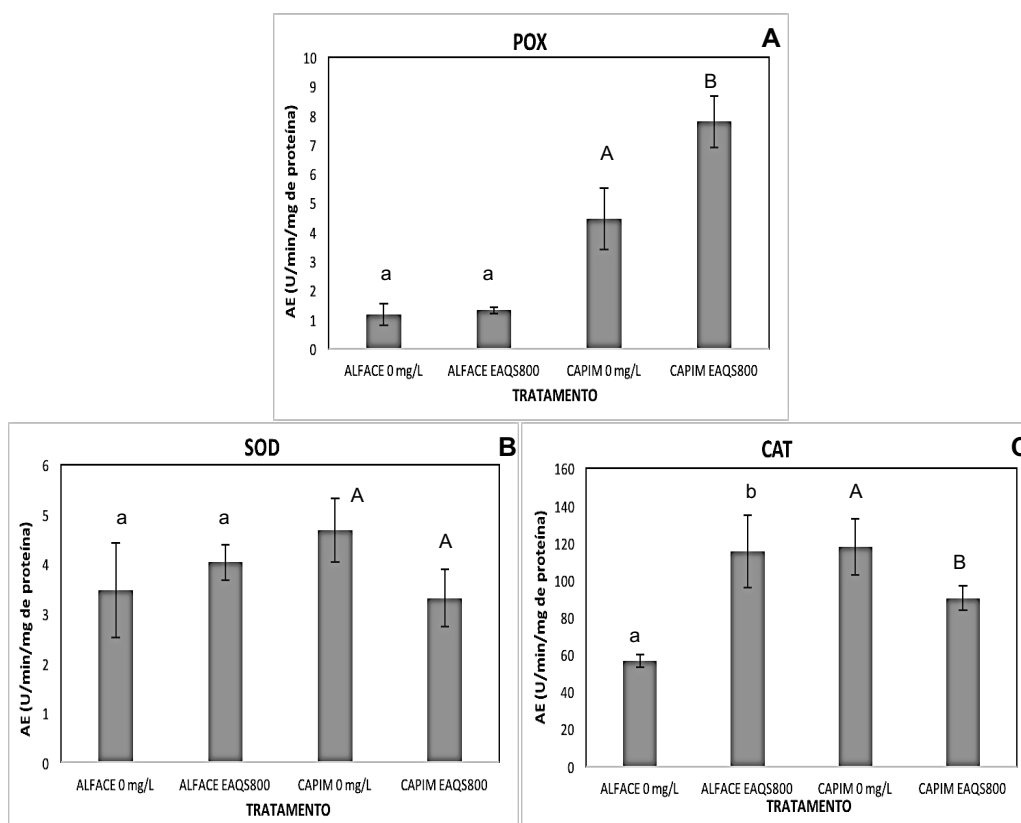


Figura 4: Atividade antioxidante das enzimas POX (A), SOD (B) e CAT (C).

Em relação às sementes de capim colonião, verificou-se que não houve alteração significativa quanto à atividade antioxidante da enzima SOD, porém se observou uma redução da atividade da enzima CAT e um aumento da atividade da enzima POX nas sementes tratada com o extrato EAQS800 quando comparadas aquelas tratadas com água destilada. Maia et al. (2012), também verificaram uma diminuição da atividade de SOD, APX e CAT e um incremento intenso da atividade de POX nas raízes de plântulas de feijão caupi sob estresse salino, sugerindo que esta última apresenta algum papel na proteção oxidativa. Esses mesmos autores concluíram que a redução no alongamento das raízes de feijão caupi sob salinidade pode ser atribuída, pelo menos em parte, a uma sincronia entre o aumento da atividade de POX e redução nas atividades de CAT e APX. Essa poderia ser uma possível explicação para o intenso efeito do extrato EAQS800 sob o CR das plântulas de capim colonião. Segundo Passardi et al. (2004), remoção enzimática do H_2O_2 por meio do ciclo catalítico peroxidativo da POX pode ocorrer de forma simultânea com a biossíntese de lignina no apoplasto, resultando no espessamento

da parede celular. Dessa forma, ao espessar a parede das células radiculares e reduzir a sua superfície da raiz em função da baixa taxa de crescimento radicular, a planta restringiria a absorção do fator estressante. Nesse sentido, a remoção do H_2O_2 pela POX pode funcionar como uma estratégia para evitar o estresse oxidativo, restringindo o crescimento celular como consequência. Cavalcanti et al. (2007), também relataram que a inibição do crescimento radicular em feijão caupi sob tratamento salino foi acompanhada pelo aumento intenso da atividade de POX, assim como a retomada do crescimento sob tratamento de recuperação ocorreu de forma simultânea com a redução da atividade desta enzima.

As enzimas POX apresentam um caráter bifuncional no metabolismo oxidativo, pois podem utilizar o H_2O_2 para oxidar vários substratos por meio do seu ciclo catalítico peroxidativo e também podem produzir OH^- a partir do H_2O_2 por intermédio do seu ciclo catalítico hidroxílico (Passardi et al.2004). Assim sendo, as enzimas POX de parede celular podem viabilizar o alongamento celular devido à produção de OH^- e à clivagem não-enzimática dos polissacarídeos de ligação cruzada (Liszky et al. 2004). Por outro lado, estas enzimas também podem restringir o crescimento celular por meio do espessamento da parede celular em decorrência da eliminação do H_2O_2 associada à polimerização dos precursores da lignina (Passardi et al.2004). Como consequência, as enzimas POX de parede celular podem estar envolvidas na regulação do crescimento celular envolvendo o metabolismo do H_2O_2 .

4. CONCLUSÕES

Os extratos de sementes de *Piper nigrum*, em especial o extrato aquoso de sementes EAQS800, apresentaram efeito fitotóxico sobre a germinação de sementes e sobre o crescimento inicial de plântulas de capim colonião. Além disso, o extrato EAQS800, reduziu de maneira significativa, a produção de massa seca e a síntese de açúcares solúveis nas plântulas submetidas a esse tratamento. Ao mesmo tempo verificou pouco ou nenhum efeito fitotóxico sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de alface se sendo que, em alguns casos, os extratos de pimenta do reino apresentaram uma influência positiva sobre essa espécie.

O principal composto identificado na prospecção fitoquímica dos extratos foi o alcalóide piperina que, por sua vez, foi encontrada no extrato EBS800 (único extrato que não exerceu efeito inibitório sobre as sementes e plântulas de capim colonião) em intensidade relativa muito baixa. Dessa forma, é possível inferir que a piperina é o aleloquímico ou um dos aleloquímicos responsáveis pela fitotoxicidade dos extratos de pimenta do reino sobre o capim colonião e que, tal substância, compromete as rotas metabólicas de síntese de açúcares solúveis nessa espécie.

O efeito fitotóxico da piperina interfere, possivelmente, no metabolismo antioxidante das plântulas de capim colonião promovendo um aumento da atividade das enzimas POX e redução da atividade das enzimas CAT. O incremento da atividade da peroxidases intensifica a síntese de lignina que promove o espessamento das paredes celulares nesses vegetais, restringindo seu crescimento e diminuindo a produção de massa seca.

Como provável consequência da redução da superfície radicular, as plântulas foram submetidas a um estresse hídrico que ocasionou um incremento na síntese de pigmentos fotossintetizantes e um maior armazenamento relativo de amido nas plântulas. Essa situação observada, provavelmente, é um ajuste fisiológico para superar o estresse provocado pela piperina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASI, B.H.. Conventional and modern propagation techniques in *Piper nigrum*. *J. Med. Plants. Res.*, v.4, n.1, p.7-12, 2010.
- AHMED, C.B.; ROUINA, B.; SENSOY, S.; BOUKHRIS, M.; ABDALLAH F.B.. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. **Environmental and Experimental Botany** 67(1):345-352. 2009.
- ANDERSON M. D; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R.. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**. v.109, p.1247-1257, 1995.
- AQUILA, M.E.A.; UNGARETTI, J.A.C.; MICHELIN, A.. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, n. 502, p. 383- 388, 1999.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I.. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. **Analytical Biochemistry**, 44, 276-287, 1971.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de pragas de plantas: uso e perspectivas**. 2009. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna.
- BOMTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde**. São Paulo: Alaude, 2007.
- BONG, C.F.J. Pellitorine, a Potential Anti-Cancer Lead Compound against HL60 and MCT-7 Cell Lines and Microbial Transformation of Piperine from *Piper Nigrum*. **Molecules**, v.15, n.4, p.2398-2404, 2010.
- BOTELHO, B.A.; GUALTIERI, S.C.J.; PEREZ, A. Estresse hídrico e reguladores de crescimento na germinação de sementes de canafístula. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.43, 2001.
- BRITO, E.F.. Bioatividade de extratos de anonáceas e piperáceas sobre *Tuta absoluta* (meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Tese de Doutorado (Agronomia/Proteção de Plantas)** – Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, 92p. 2014.
- BULEGON, L.G.; MEINERZ, C.C.; CASTAGNARA, D.D.; BATTISTUS, A.G.; GUIMARÃES, V.F.; NERES, M.A.. Alelopatia de espécies forrageiras sobre a

- germinação e atividade de peroxidase em alface. **Scientia Agraria Paranaensis** – SAP; Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 2, abr./jun., p. 94-99, 2015.
- CARDOSO, J.FR. *et al.* Avaliação do efeito tóxico da Piperina isolada da pimenta do reino (*Piper nigrum* L) em camundongos. **Rev. Univ. Rural**, v.25, n.1, p.85-91, 2005.
- CAVALCANTI, F.R.; LIMA, J.P.M.S.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIÉGAS, R.A. & SILVEIRA, J.A.G.. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. **Journal of Plant Physiology** **164**: 591-600. 2007.
- CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v.2, p.764-775, 1955.
- CHAUDHRY, N.M.; TARIQ, P. Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. **Pak J. Pharm. Sci.**, v.19, n.3, p.214-218, 2006.
- CHON, S.U.; COUTTS, J.H.; NELSON, C.J.. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v.92, n.4, p.715-720, 2000. Crossref.
- CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J.. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v.20, n.10, p.921-928, 2001. Crossref
- COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; OLIVEIRA A.K.; DIÓGENES, F.E.P., Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Revista Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 29, n. 1, p. 108-111, 2011.
- DEQUECH, S.T.B. *et al.* Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça- das-crucíferas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.2, p.551-554, 2009.
- EINHELIG, F.A. **Allelopathy – A natural protection, allelochemicals**. In: MANDAVA, B.N. (ed). Handbook of natural pesticides methods, CRC Press, Florida, v.1, p.161, 2000.
- ESTRELA, J.L.V. *et al.* Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2002. Cap. 7, p. 165-182.

FANI, M. **Funcionais nutraceuticos**. São Paulo: Insummus, 1992.

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A.. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12 (edição especial), p.175-204, 2000.

FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, F.. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Ed. Artmed; 222 p. 2004.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K.. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. **Plant Physiol**. 59:309-314, 1997.

GILL, S.S.; TUTEJA, N.. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 48(12):909-930. 2010.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A.. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco-leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.

INAGAKI, M.N.; JUNQUEIRA, C.P.; BELLON, P.P..Desafios da produção de soja orgânica como determinante à implantação de seu cultivo para fins comerciais na região oeste do paraná. **R. gest. sust. ambient.**, Florianópolis, v. 7, n. 1, p. 682-699. 2018.

INDERJIT, I; DUKE, S.O.. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v.217, n.4, p.529-539. Crossref. 2003.

JALALPOORI, M.A.. Changes Total Chlorophyll in Response to Drought Stress in alfalfa (vs. Nick Urban) in Climatic Conditions of the South West Iran. **Environmental Sciences**, Vol. 1, no. 2, 65 – 68. HIKARI Ltd. 2013.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase and Polyphenol Oxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, 57, 315-319, 1976.

KHAN, S. et al. Development of RAPD markers for authentication of *Piper nigrum* (L.). **Environ We Int J Sci Tech.**, v.5, n.1, p.47- 56, 2010.

- LEMES, C.S.R.; SORGATO, J.C.; SOARES, J.S.; ROSA, Y.B.C.J.. Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia avescens*. **Ciência Rural**, Santa Maria vol. 46, nº 3, p 499-505, 2016.
- LI, Z.H.; WANG, Q.; RUAN, X.; PAN, C.D.; JIANG, D.A. Phenolics and plant allelopathy. **Molecules**, 15(12):8933-8952. 2010.
- LIMA, J.S.; ROCHA, V.D.; ROSSI, A.A.B.; SILVEIRA, G.F.; ROCHA, V.L.P.. Atividade alelopática de extratos do fruto de *piper aduncum* L. na germinação e crescimento inicial de cebola. In:**seminário de biodiversidade e agroecossistemas amazônicos** - Conservação de solos na Amazônia Meridional. Alta Floresta-MT. Universidade do Estado de Mato Grosso. 2015.
- LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. – Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.
- MACHADO, R.T. et al. Avaliação da bioatividade de extratos vegetais sobre *Diabrotica speciosa* em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p.1461-1464, 2007.
- MADDAH, S.M.; KASHANI, S.F.. Investigation of growth and chlorophyll concentration of five pasture plants under drought stress conditions. **Crop Physiology**. vol. 3, nº 11. 89 a 102. 2011.
- MAIA, J.M.; FERREIRA-SILVA,S.M.; VOIGT, E.L.; MACÊDO, C.E.C.; PONTE, L.F.A.; SILVEIRA, J.A.G..Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade.**Acta Botanica Brasilica**.26(2): 342-349. 2012.
- MARASCHIN-SILVA, F.; AQÜILA, M.E.A.. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia**, Sér. Bot., Porto Alegre, v. 60, n.1, p.91-98, 2005.
- McCORMICK, A.J.; CRAMER, M.D.; WATT, D.A.. Changes in photosynthesis rates and gene expression of leaves during a source-sink perturbation in sugarcane. **Annals of Botany**, v.101, p.89-102, 2008.
- MIRANDA, C.C; SOUZA, D.M.L; MANHONE, D.R; OLIVEIRA, P.C; BREIER, T.B.. Germinação de sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. com diferentes substratos em condições laboratoriais. **Floresta e Ambiente**, v.19, n.1, p.26-31, 2012.

MOLISCH, H..**Der Einfluss einer Pflanze auf die andere Allelopathie**. Jena: Fischer. 1937.

MOREIRA, R.C.T.; COSTA, L.C.B.; COSTA, R.C.S.; ROCHA, E.A.. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm. Bonaerense**, Ilhéus, BA, n.3, jun. 2002

MOURA, A.R.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SILVA, J.A.A.;LIMA, T.V.. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 345-354. 2016.

OLIVEIRA, S.C.C. et al. Estudo fitoquímico de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) e sua aplicação na alelopatia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n.3, p.607-618, 2012.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C.. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science** 9: 534-540. 2004.

PAULUS. D.; DOURADO NETO, D.; FRIZZONE, J.A.; SOARES, T.M. Produção e indicadores fisiológicos de alface sob hidroponia com água salina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p.29-35, 2010.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A.. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.** 11:137-143, 1999.

PELAEZ, V.; MELO, M.; HOFMANN, R.; HAMERSCHMIDT, P.; MEDEIROS, G.; MATSUSHITA, A.; TEODOROVICZ, T.; MOREIRA, F.; WELINSKI, J.; HERMIDA, C..**Monitoramento do mercado de agrotóxicos**. Departamento de Economia, UFPR, 2010.

PESSANHA, A. C.; SANTOS, L. M. FREITAS, S. P.; HUZIWARA, E..Efeito alelopático de extrato de *Schinus Terebinthifolius* L. em *brachiaria decumbens*.XXVII **Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Ribeirão Preto, SP, julho, 2010.

PIGNATI, W.; MACIEL, R.H.M.O.; RIGOTTO, R.M.. Saúde do trabalhador. In: Rouquayrol MZ. **Epidemiologia & Saúde**. 7a ed. Rio de Janeiro: MedBook; 381p, 2013.

PIGNATI, W.A.; LIMA, F.A.N.S.; LARA, S.S.; CORREA, M.L.M.; BARBOSA, J.R.; LEÃO, L.H.C.; PIGNATI, M.G..Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil:

uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, 22(10):3281-3293, 2017.

PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006.

RANDO, J.S.S. et al. Avaliação da Eficiência de Extratos de Plantas Medicinais no Controle de *Myzus persicae* (Sulz.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.2446-2449, 2009.

REIGADA, J.B. Bioprospecção em espécies de Piperaceae. **Dissertação de mestrado** (química orgânica). Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 132 págs. 2009.

RIGOTTO, R.M.; VASCONCELOS, D.P.; ROCHA, M.M.. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 30(7):1-3, jul, 2014.

ROGER, J.D.P. **Plantas mágicas: enciclopédia de plantas medicinais**. São Paulo: Planeta do Brasil, 1998.

Saath, K.C.O.; Fachinello, A.L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**. vol.56, nº 2. Brasília. 2018.

SALA, A.; WOODRUFF, D.R.; MEINZER, F.C.. Carbon dynamics in trees: feast or famine?. **Tree physiology**, v. 32, n. 6, p. 764-775, 2012.

SALES, C.R.G.; RIBEIRO, R.V.; MACHADO, D.F.S.P.; MACHADO, R.S.; DOVIS, V.L LAGÔA, A.M.M.A.. Trocas gasosas e balanço de carboidratos em plantas de cana-de-açúcar sob condições de estresses radiculares. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 3, p.319-327, 2012.

SHOKOUHIAN, A.; HABIBI, H.; AGAHI, K.. Allelopathic effects of some medicinal plant essential oils on plant seeds germination. **J. BioSci. Biotechnol.** 5(1): 13-17. 2016.

SILVA, A. G. da; CARVALHO, R. I. N. de. Efeito alelopático de extratos de carqueja (*Baccharis trimera*) e confrei (*Symphytum officinale*) em sementes e plântulas de girassol. Rev. Acad., **Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 7, n.1, p. 23-32, 2009.

- SILVA, C. P.; RICCI, T. G.. Bioprospecção de espécies de plantas bioherbicida e bioinseticida. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e Agrárias Produção/construção e tecnologia**, v. 6, n. 10, 2017.
- SINGH, A.; SINGH, D.; SINGH, N.B.. Allelochemical stress produced by aqueous leachate of *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. **Plant Growth Regulation**. 58(1):163-171. 2009.
- SINGH, N.B., SUNAINA, K.Y. & AMIST, N.. Phytotoxic effects of cinnamic acid on cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata). **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**. 9(2):307-317. 2013.
- SMITH, A.M.; STITT, M.. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, cell & environment**, v. 30, n. 9, p. 1126-1149, 2007.
- SULPICE, R.; PYL, E.T.; ISHIHARA H.; et al. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. **Proc. Natl Acad. Sci. USA** 106:10348–10353. 2009.
- VALENZUELA, X.G.; MOYA, E.Q.G.; CRUZ, L.R.; ESTRELLA, L.H.; SANTACRUZ, G.A.A.. Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyll cells. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p. 650-61. 2005.
- XIANG, C.P.; HAN, J.X.; LI, X.C.; LI, Y.H.; ZHANG, Y.; CHEN, L.; QU, Y.; HAO, C.H.; LI, H.Z.; YANG, C.R.; ZHAO, S.J.; XU, M.. Chemical Composition and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Essential Oils from Piper Species. **J. Agric. Food Chem**, 65, 3702–3710. 2017.