



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



**COMPOSTOS BIOATIVOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *PIPER* NO
CONTROLE DE FITOPATÓGENOS**

TAMIRIS CHAVES FREIRE

**Porto Velho – RO
2022**

TAMIRIS CHAVES FREIRE

**COMPOSTOS BIOATIVOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *PIPER* NO
CONTROLE DE FITOPATÓGENOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Cléberon de Freitas Fernandes

Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Vieira Junior

**Porto Velho – RO
SETEMBRO/2022**

Catalogação da Publicação na Fonte
Fundação Universidade Federal de Rondônia - UNIR

F866c Freire, Tamiris Chaves.
Compostos bioativos de espécies do gênero Piper no controle de fitopatógenos / Tamiris Chaves Freire. - Porto Velho, 2022.

92f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Cléberon de Freitas Fernandes.

Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Vieira Junior.

Tese (Doutorado em Biodiversidade e Conservação), Programa de Pós-graduação
Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia em rede. Fundação Universidade Federal de
Rondônia.

1. Atividade antifúngica. 2. Atividade antibacteriana. 3. Doenças de plantas. 4.
Piperaceas. 5. Bioma Amazônia. I. Fernandes, Cléberon de Freitas. II. Junior, José Roberto
Vieira. III. Título.

Porto Velho

CDU 581.2(811)

TAMIRIS CHAVES FREIRE

COMPOSTOS BIOATIVOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *PIPER* NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS

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

Aprovada em 15/09/2022

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente



CLEBERSON DE FREITAS FERNANDES

Data: 24/04/2023 16:37:43-0300

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

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

Documento assinado digitalmente



VICTOR MOUZINHO SPINELLI

Data: 15/12/2022 10:39:35-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Victor Mouzinho Spinelli
Universidade Federal de Rondônia - UNIR

Documento assinado digitalmente



MARCELA CAMPANHARO

Data: 03/05/2023 20:40:19-0300

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

Prof. Dr. Marcela Campanharo
Universidade Federal de Rondônia – UNIR

Documento assinado digitalmente



RENATO ABREU LIMA

Data: 04/05/2023 13:29:55-0300

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

Prof. Dr. Renato Abreu Lima
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Documento assinado digitalmente



ALEXSANDRO LARA TEIXEIRA

Data: 04/05/2023 09:40:28-0300

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

Prof. Dr. Alexsandro Lara Teixeira
Embrapa Rondônia - CPAFRO

DEDICATÓRIA

A toda minha família, pela compreensão, apoio e contribuição.

AGRADECIMENTOS

Ao meu companheiro Durvanilson Souza da Silva, meu filho Vítor Souza Freire, minha mãe Raimunda Chaves Freire dos Santos e meus irmãos Paulo Freire dos Santos, Antônio Freire dos Santos, Maria Freire dos Santos, José Freire dos Santos e Fabiana Freire dos Santos que sempre me incentivaram a seguir em frente.

As minhas amigas e companheiras de trabalho Simone Carvalho Sangi, Aline Souza da Fonseca, Jéssica Silva Félix Bastos Freire e Karen Cristina Chaves Oliveira pela amizade, apoio e incentivo.

Aos meus orientadores Cléberon de Freitas Fernandes e José Roberto Vieira Junior, pela oportunidade, ensinamentos e apoio.

A toda equipe da Embrapa Rondônia, em especial ao pesquisador Rodrigo Barros Rocha, ao técnico de laboratório Domingos Sávio Gomes da Silva (*in memoriam*) e ao técnico de campo Antônio Miranda Marques que ajudaram no desenvolvimento das diversas fases desta pesquisa.

A coordenação regional do Bionorte nas pessoas de Dr^a. Carolina Rodrigues da Costa Doria e Dr^a. Carolina Bioni Garcia Teles.

A Fundação de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas e Tecnológicas e à Pesquisa do Estado de Rondônia (FAPERO) e a Embrapa Rondônia pelo apoio financeiro.

FREIRE, Tamiris Chaves. **Compostos bioativos de espécies do gênero *Piper* no controle de fitopatógenos**. 2022. 92 f. (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, RO 2022.

RESUMO

A busca por métodos alternativos eficientes no controle do crescimento de fitopatógenos que apresentam segurança ao homem e ao meio ambiente é essencial para redução da aplicação de produtos que possuem toxicidade. Em ensaios com diferentes extratos e óleos essenciais de plantas tem-se obtido atividades bactericida e/ou fungicida satisfatórias e promissoras pela capacidade de impedir ou retardar a penetração dos microrganismos em plantas, seja por meio da ativação de mecanismos de defesa, como também pela ação direta sobre o patógeno. Neste trabalho o objetivo foi avaliar a atividade de extratos totais e suas fases orgânicas de espécies do gênero *Piper*, relacionada ao controle de fitopatógenos. Na primeira avaliação foram preparados extratos aquosos, etéreos e alcoólicos, obtidos a partir de materiais secos de folhas, talos e inflorescências de seis espécies de *Piper*. Na avaliação de inibição de germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix* os extratos foram incorporados ao meio ágar-água (1mL/19mL), após a solidificação, uma suspensão de 1×10^5 urediniósporos/mL, foi depositada sobre o meio ágar-água e espalhada com alça de Drigalski, as placas foram revestidas com papel laminado e acondicionadas em câmara de crescimento, na ausência de luz em temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas. A germinação dos esporos foi determinada pela avaliação dos 300 primeiros urediniósporos encontrados na varredura de cada placa de Petri. Para o antibiograma, os testes foram realizados em placas de Petri, onde as atividades antifúngicas e antibacterianas foram testadas. Para isso, 10 μL dos extratos foram depositados em poços de 5 mm de diâmetro em meio de cultura BDA e foram depositados no centro da placa disco micélico de 5mm de diâmetro. Para avaliação das bactérias, esta foi incorporada ao meio Kado e Heskett e discos contendo 10 μL dos tratamentos foram depositados em placa de Petri. As placas foram vedadas e acondicionadas em câmara de crescimento, a $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Em ambos os experimentos foram medidos os halos de inibição formados. Para os testes fitoquímicos a solução etanólica foi preparada utilizando 1g do material vegetal seco (pó) para 10 mL de etanol (96° GL), permanecendo sob agitação por 24 h, logo após foram submetidos à filtração e realização dos testes. Foram avaliadas a presença/ausência de saponinas, flavonoides, taninos, compostos fenólicos, cumarinas, antracnona, alcaloides e triterpenos. Antibiograma foi preparado para avaliar o efeito do extrato alcoólico de *P. tuberculatum* e *P. hispidum* e suas fases orgânicas sobre *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. vesicatoria, *Rhizoctonia solani* e

Sclerotium rolfsii. Todos os extratos etéreos e etanólicos avaliados reduziram a porcentagem de germinação de urediniósporos de *H. vastatrix*. Extratos etéreos e etanólicos apresentaram inibição do crescimento micelial do fungo *R. solani*. No teste de antibiograma bacteriano com *Ralstonia solanacearum*, observou-se que houve efeito inibitório com extratos brutos etéreo de talos de *P. aduncum*, *P. nigrum*, e *P. umbellatum* e folha de *P. carniconectivum*. Entre os extratos contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* os extratos etéreo de talo e folha de *P. carniconectivum*, folha de *P. hispidum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum* e os extratos etanólicos de talo de *P. carniconectivum*, folha de *P. tuberculatum* e folha e talo de *P. hispidum* foram os mais eficientes. Já os extratos aquosos não apresentaram inibição em nenhum dos patógenos avaliados anteriormente. Os resultados obtidos indicam maior inibição ao crescimento dos patógenos com o uso das fases orgânicas dos extratos de *P. hispidum*.

Palavras-chave: Atividade antifúngica; Atividade antibacteriana; Doenças de plantas; *Piperaceas*; Bioma Amazônia.

FREIRE, Tamiris Chaves. **Bioactive compounds from species of the genus *Piper* in the control of phytopathogens.** 2022. 92 f. (PhD in Biodiversity and Biotechnology) - Federal University of Rondônia, Porto Velho, RO 2022.

ABSTRACT

The search for efficient alternative methods to control the growth of phytopathogens that are safe for humans and the environment is essential to reduce the application of products that have toxicity. In tests with different extracts and essential oils of plants, satisfactory and promising bactericidal and/or fungicidal activities have been obtained due to the ability to prevent or delay the penetration of microorganisms into plants, either through the activation of defense mechanisms, as well as through the action directly on the pathogen. In this work, the objective was to evaluate the activity of total extracts and their organic phases of species of the genus *Piper*, related to the control of phytopathogens. In the first evaluation, aqueous, ethereal and alcoholic extracts were prepared, obtained from dry materials of leaves, stems and inflorescences of six species of *Piper*. In the evaluation of inhibition of germination of urediniospores of *Hemileia vastatrix*, the extracts were incorporated into the agar-water medium (1mL/19mL), after solidification, a suspension of 1×10^5 urediniospores/mL was deposited on the agar-water medium and spread with a loop. of Drigalski, the plates were covered with laminated paper and placed in a growth chamber, in the absence of light, at a temperature of $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ for 24 hours. Spore germination was determined by evaluating the first 300 urediniospores found in the scan of each Petri dish. For the antibiogram, the tests were performed in Petri dishes, where the antifungal and antibacterial activities were tested. For this, 10 μL of the extracts were deposited in 5 mm diameter wells in PDA culture medium and placed in the center of the 5 mm diameter mycelium disc plate. To evaluate the bacteria, they were incorporated into Kado and Heskett medium and discs containing 10 μL of the treatments were placed in a Petri dish. The plates were sealed and placed in a growth chamber at $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. In both experiments, the inhibition halos formed were measured. For the phytochemical tests, the ethanolic solution was prepared using 1g of dry plant material (powder) for 10 mL of ethanol (96° GL), remaining under agitation for 24 h, after which they were submitted to filtration and tests were carried out. The presence/absence of saponins, flavonoids, tannins, phenolic compounds, coumarins, anthracnone, alkaloids and triterpenes were evaluated. Antibiogram was prepared to evaluate the effect of the alcoholic extract of *P. tuberculatum* and *P. hispidum* and their organic phases on *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. vesicatoria, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. All ether and ethanol extracts evaluated reduced the germination percentage of urediniospores of *H.*

vastatrix. Ethereal and ethanolic extracts showed inhibition of mycelial growth of the fungus *R. solani*. In the bacterial antibiogram test with *Ralstonia solanacearum*, it was observed that there was an inhibitory effect with ethereal crude extracts of stalks of *P. aduncum*, *P. nigrum*, and *P. umbellatum* and *P. carniconectivum* leaf. Among the extracts against *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* the ether extracts of *P. carniconectivum* stem and leaf, *P. hispidum* leaf, *P. tuberculatum* leaf and inflorescence and the ethanolic extracts of *P. carniconectivum* stem, *P. tuberculatum* leaf and *P. hispidum* leaf and stem were the most efficient. On the other hand, the aqueous extracts showed no inhibition in any of the previously evaluated pathogens. The results obtained indicate greater inhibition of pathogen growth with the use of organic phases of *P. hispidum* extracts.

Keywords: Antifungal activity; Antibacterial activity; plant Diseases; Piperaceas; Amazon biome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Morfologia do gênero <i>Piper</i>	16
Figura 2 – Média do percentual de germinação de urediniósporos do fungo <i>H. vastatrix</i>	27
Figura 3 – Média dos halos de inibição de <i>Ralstonia solanacearum</i> por extratos do gênero <i>Piper</i>	40
Figura 4 – Média dos halos de inibição de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> por extratos do gênero <i>Piper</i>	42
Figura 5 – Média dos halos de inibição de <i>R. solani</i> por extratos do gênero <i>Piper</i>	46
Figura 6 – Média do halo de inibição do fungo <i>R. solani</i>	70
Figura 7 – Média do halo de inibição do fungo <i>S. rolfsii</i>	70
Figura 8 – Média do halo de inibição da bactéria <i>R. solanacearum</i>	71
Figura 9 – Média do halo de inibição da bactéria <i>X. axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i>	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies de plantas do gênero <i>Piper</i> e suas atividades biológicas.....	18
Tabela 2 – Resumo da análise de variância do efeito inibitório de diferentes extratos vegetais sobre o percentual da germinação de urediniósporos da ferrugem do cafeeiro	26
Tabela 3 – Resumo da análise de variância da área de inibição mensurada em mm ² , de diferentes extratos vegetais testados no controle da <i>Ralstonia solanacearum</i>	40
Tabela 4 – Resumo da análise de variância da área de inibição mensurada em mm ² , de diferentes extratos vegetais testados no controle da <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. vesicatoria.....	41
Tabela 5 – Resumo da análise de variância da área de inibição mensurada em mm ² , de diferentes extratos vegetais testados no controle da <i>Rhizoctonia solani</i>	43
Tabela 6 – Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Fungicida Azoxistrobina).....	66
Tabela 7 – Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.....	66
Tabela 8 – Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Fungicida Tiabendazol).....	67
Tabela 9 – Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.....	67
Tabela 10 – Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Antibiótico Amoxicilina).....	68
Tabela 11 – Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.....	68
Tabela 12 – Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Antibiótico Amoxicilina).....	69
Tabela 13 – Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Ágar-Água

BDA – Batata Dextrose Ágar

BOD – Biological Organisms Development

E.F.Pa – Extrato Etanólico de Folhas de *Piper aduncum* L.

E.F.Pc – Extrato Etanólico de Folhas de *Piper carniconnectivum* C. DC.

E.F.Ph – Extrato Etanólico de Folhas de *Piper hispidum* Sw.

E.F.Pn – Extrato Etanólico de Folhas de *Piper nigrum* L.

E.F.Pt – Extrato Etanólico de Folhas de *Piper tuberculatum* L.

E.F.Pu – Extrato Etanólico de Folhas de *Piper umbellatum* L.

E.I.Pa – Extrato Etanólico de Inflorescência de *Piper aduncum* L.

E.I.Ph – Extrato Etanólico de Inflorescência de *Piper hispidum* Sw.

E.I.Pt – Extrato Etanólico de Inflorescência de *Piper tuberculatum* L.

E.T.Pa – Extrato Etanólico de Talos de *Piper aduncum* L.

E.T.Pc – Extrato Etanólico de Talos de *Piper carniconnectivum* C. DC.

E.T.Ph – Extrato Etanólico de Talos de *Piper hispidum* Sw.

E.T.Pn – Extrato Etanólico de Talos de *Piper nigrum* L.

E.T.Pt – Extrato Etanólico de Talos de *Piper tuberculatum* L.

E.T.Pu – Extrato Etanólico de Talos de *Piper umbellatum* L.

Et.F.Pa – Extrato Etéreo de Folhas de *Piper aduncum* L.

Et.F.Pc – Extrato Etéreo de Folhas de *Piper carniconnectivum* C. DC.

Et.F.Ph – Extrato Etéreo de Folhas de *Piper hispidum* Sw.

Et.F.Pn – Extrato Etéreo de Folhas de *Piper nigrum* L.

Et.F.Pt – Extrato Etéreo de Folhas de *Piper tuberculatum* L.

Et.F.Pu – Extrato Etéreo de Folhas de *Piper umbellatum* L.

Et.I.Ph – Extrato Etéreo de Inflorescência de *Piper hispidum* Sw.

Et.I.Pt – Extrato Etéreo de Inflorescência de *Piper tuberculatum* L.

Et.T.Pa – Extrato Etéreo de Talos de *Piper aduncum* L.

Et.T.Pc – Extrato Etéreo de Talos de *Piper carniconnectivum* C. DC.

Et.T.Ph – Extrato Etéreo de Talos de *Piper hispidum* Sw.

Et.T.Pn – Extrato Etéreo de Talos de *Piper nigrum* L.

Et.T.Pt – Extrato Etéreo de Talos de *Piper tuberculatum* L.

Et.T.Pu – Extrato Etéreo de Talos de *Piper umbellatum* L.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVO GERAL.....	13
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 FAMÍLIA PIPERACEAE.....	15
2.1.1 Gênero <i>Piper</i>	16
2.2 ESPÉCIES DE PLANTAS DO GÊNERO <i>PIPER</i> E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	17
2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	19
3 APRESENTAÇÃO DOS CAPÍTULOS	20
3.1 CAPÍTULO 1: USO DE PLANTAS DO GÊNERO <i>PIPER</i> NO CONTROLE DA GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS DE <i>Hemileia vastatrix</i>	21
3.2 CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE PLANTAS NO CONTROLE DE <i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> E <i>Rhizoctonia solani</i>	33
3.3 CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DE FOLHAS, TALOS E INFLORESCÊNCIA DE <i>Piper tuberculatum</i> E <i>Piper hispidum</i>	49
3.4 CAPÍTULO 4: EXTRATOS DE <i>Piper tuberculatum</i> e <i>Piper hispidum</i> E SUA FASE ORGÂNICA NO CONTROLE DAS BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS <i>Ralstonia solanacearum</i> E <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> E DOS FUNGOS <i>Rhizoctonia solani</i> E <i>Sclerotium rolfsii</i>	60
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
REFERÊNCIAS	80
ANEXOS	87

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países que apresenta maior diversidade de produção agrícola. Destacando-se principalmente em relação à produção de grãos que vem aumentando consideravelmente no país, com uma safra de 271,4 milhões de toneladas (HUBBARD *et al.*, 2017; CONAB, 2022). Atrelado ao aumento da produção agrícola houve também crescimento do uso de agroquímicos, tornando o Brasil um dos maiores consumidores mundiais de agrotóxicos no ano de 2010 no cenário internacional (PELAEZ *et al.*, 2010).

O controle de fitopatógenos por agroquímicos apesar de eficiente e econômico, pode gerar impactos ambientais, como a poluição do solo, águas e do próprio homem (VEGRO e FERREIRA, 2000; PIGNATI e RIGOTTO, 2013). Nos últimos anos tem aumentado a busca por produtos alternativos, que possam apresentar baixa toxicidade ao homem, menor impacto ambiental e menores custos de aquisição. Isso fez crescer a utilização dos recursos naturais renováveis como fonte de novas substâncias bioativas (MENEZES, 2005; MAZARO *et al.*, 2009; PANG *et al.*, 2012; SPLETOZER *et al.*, 2021; VILAMIL *et al.*, 2021; CORASSA *et al.*, 2022).

Um fator importante que tem contribuído para o desenvolvimento deste setor é a crescente resistência desenvolvida por alguns patógenos a determinadas moléculas, fazendo com que estas percam sua capacidade de controlar determinados patógenos (MAGALDI *et al.*, 2002; SAN *et al.*, 2010).

Esses compostos de origem vegetal são frequentemente mais compactos, contém mais átomos de oxigênio, menor número de átomos de nitrogênio e menor número de anéis aromáticos em cada estrutura (RAMALLO *et al.*, 2011).

Este potencial controle bioativo se caracteriza tanto pela ação direta sobre o patógeno, impedindo ou retardando o crescimento, quanto pela ativação de mecanismos de defesa da planta, como por exemplo, proteínas relacionadas à patogênese – PR-Proteínas, fitoalexinas, peróxido de hidrogênio, desencadeando reações de defesa como a resposta hipersensitiva e a resposta sistêmica adquirida (VAN LOON e VAN KAMMEN, 1970; GOODMAN e NOVACKY, 1994; PASCHOLATI e LEITE, 1994; FERNANDES *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2019).

Na busca por fontes alternativas de controle de fitopatógenos, diversos trabalhos têm sido realizados com diferentes espécies de plantas, tanto para o controle de fungos, tais como a utilização de extrato das cascas de *Byrsonima crassifolia* (canjiqueira) contra *Fusarium solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*, apresentando 37,5% de inibição (ANDRADE *et al.*, 2018), quanto no controle de bactérias, utilizando extratos de *Morinda citrifolia* L. (noni) contra

Xanthomonas axonopodis pv. *Passiflorae* (OLIVEIRA, *et al.*, 2018), dentre tantos outros patógenos (MARTINS e SANTOS, 2016; COSTA *et al.*, 2017; FONTANA *et al.*, 2017; SILVA, 2017; ASSI *et al.*, 2018; KOBAYASHI e AMARAL, 2018), apresentando inibição de até 75%.

Em relação aos princípios bioativos, extratos de plantas do gênero *Piper* vêm sendo estudados quanto ao potencial controle de fitopatógenos de importância agrícola, como fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Colletotrichum scovillei* (ARAÚJO *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2018).

A família Piperaceae, parte componente do estudo desta proposta, encontra-se distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, com descrição de ocorrência de cerca de 291 espécies no Brasil, considerado o quinto gênero mais diverso, tendo sua maior parte em domínio Amazônico (BFG, 2015). Esta família possui grande potencial bioativo e contém diversos metabólitos secundários (NAVICKIENE *et al.*, 2000; FACUNDO e MORAIS, 2003; XIE *et al.*, 2011).

Com o uso do óleo essencial de *Piper hispidinervum* a atividade de inibição do crescimento dos fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides* foi eficiente (ZACARONI *et al.*, 2009). E o óleo essencial de *Piper marginatum* L. apresentou potencial bioativo contra o fungo *F. oxysporum* (SANTOS *et al.*, 2011).

Diante do potencial bioativo destas substâncias contra fitopatógenos e a necessidade de desenvolvimento de protótipos biotecnológicos para tratamento de doenças de plantas, no presente trabalho o objetivo foi avaliar e caracterizar a atividade de extratos totais e frações ativas de espécies do gênero *Piper*, em ensaios *in vitro*, relacionada ao controle de fitopatógenos de importância para a agricultura, como *Hemileia vastatrix*, *Rhizoctonia solani*, *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. Neste trabalho foi possível identificar novos compostos bioativos com uso potencial no controle de fitopatógenos de importância para a agricultura brasileira.

1.1 OBJETIVO GERAL

Identificar extratos totais e frações de espécies da família Piperaceae com potencial bioativo no controle de doenças de importância econômica para a região.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o potencial de extratos de espécies de *Piper* no controle da ferrugem do cafeeiro *in vitro*;

Determinar as atividades antifúngica e antibacteriana de extratos de espécies de *Piper* e suas frações;

Identificar e caracterizar quimicamente extratos com potencial bioativo para o controle de fitopatógenos;

Indicar pelo menos dois insumos com potencial bioativo para controle de fitopatógenos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FAMÍLIA PIPERACEAE

A família Piperaceae faz parte do grupo das Angiospermas, contendo 13 gêneros: Artanthe, Lindenipiper, Macropiper, Manekia, Ottonia, Peperomia, *Piper*, Piperanthera, Pothomorphe, Sarcorhachis, Trianaeopiper, Verhuellia e Zippelia. Possui 6.933 nomes de plantas científicas de classificação de espécies para a Família da Piperaceae, sendo 1.919 nomes de espécies aceitas (GOMES, 2011; THE PLANT LIST, 2013).

Distribuição geográfica com ocorrências confirmadas: Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins); Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe); Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso); Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo); Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) (GUIMARÃES *et al.*, 2022).

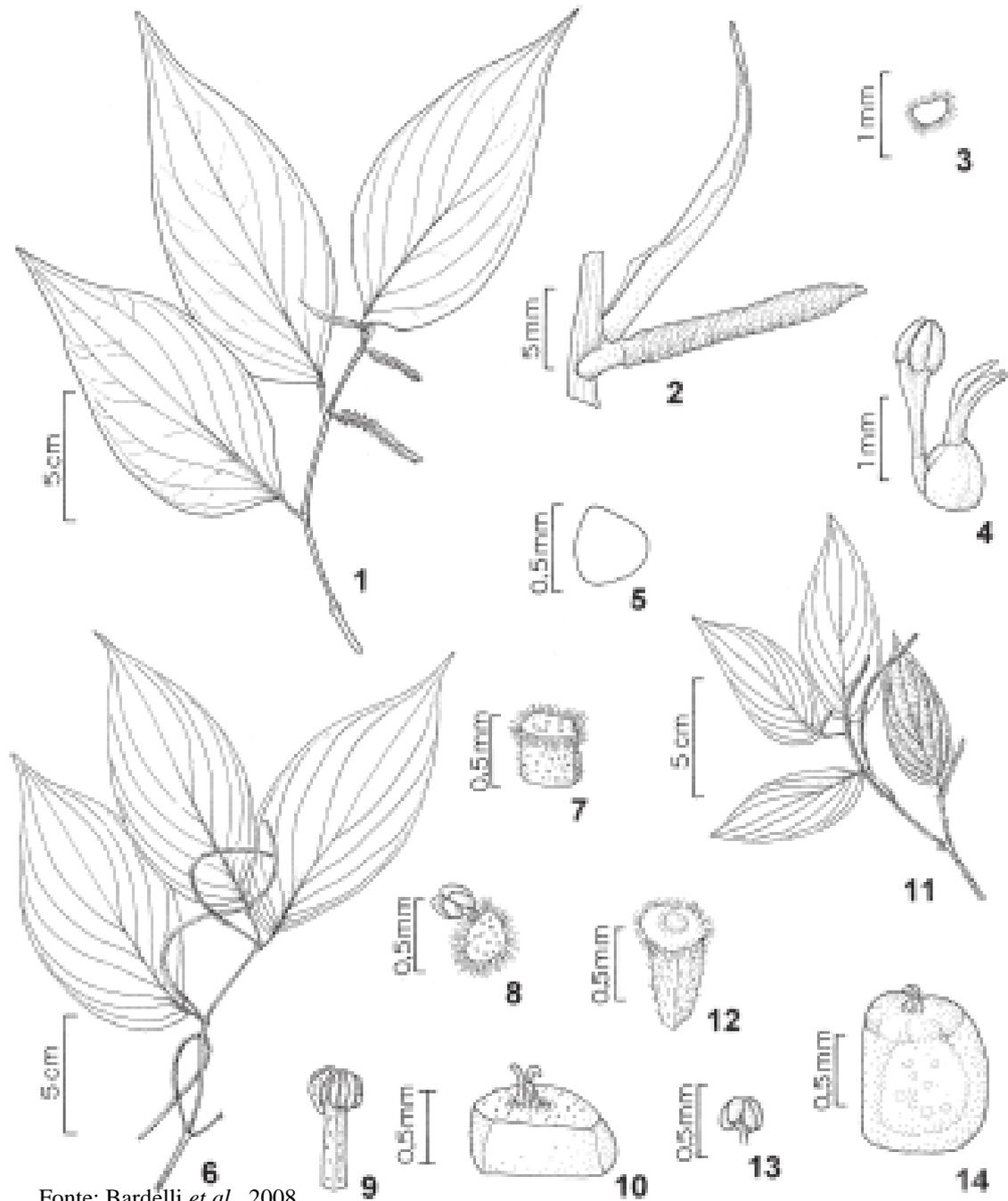
Domínios fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, e tipo de vegetação: Área Antrópica, Caatinga (*stricto sensu*), Campinarana, Campo de Altitude, Campo de Várzea, Campo Limpo, Campo Rupestre, Cerrado (*lato sensu*), Floresta Ciliar ou Galeria, Floresta de Igapó, Floresta de Terra Firme, Floresta de Várzea, Floresta Estacional Decidual, Floresta Estacional Perenifólia, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila (Floresta Pluvial), Floresta Ombrófila Mista, Palmeiral, Restinga, Savana Amazônica, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos (GUIMARÃES *et al.*, 2022).

Muitas espécies pertencentes a essa família também apresentam em sua composição biomoléculas com amplo espectro de ação diante das diversas enfermidades, apresentam propriedades antimicrobiana, inseticidas, fungicidas e/ou fungistático (DIGNANI, 2009; AIRES e LIMA, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2014; PITON *et al.*, 2014).

A pimenta-do-reino ou pimenta preta que é produzida com os frutos de *Piper nigrum* L. é um dos condimentos mais conhecidos e utilizados mundialmente (LIMA *et al.*, 2010), possui uma ampla variedade de metabólicos secundários que se distribuem em diferentes classes de compostos: amidas/alcalóides, propenilfenalinas, apresentando importantes ações biológicas, especialmente anti-inflamatória e antioxidante (BOMTEMPO, 2007; BONG *et al.*, 2010).

2.1.1 Gênero *Piper*

Estas plantas podem apresentar folhas simples, alternas, opostas ou verticiladas, sésseis ou pecioladas, inteiras, de consistência e formas diversas e por possuírem flores muito pequenas, aperiartadas, protegidas por bractéolas 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; BARDELLI *et al.*, 2008) (Figura 1).



Fonte: Bardelli *et al.*, 2008

Figura 1 – Morfologia do gênero *Piper* (Imagens: 1-5. *P. crassinervium*. 1. Ramo com espigas. 2. Detalhe do perfil e espiga jovem. 3. Bractéola. 4. Estame e ovário estiloso. 5. Semente. Figuras 6-10. *P. gaudichaudianum*. 6. Ramo com espigas. 7. Bractéola. 8. Bractéola e estame, em vista frontal. 9. Estame. 10. Drupa. Figuras 11-14.

P. mollicomum. Ramo com espigas. 12. Bractéola. 13. Estame. 14. Drupa (1: *Bardelli* 8; 2-5: *Bardelli* 3; 6-10: *Bardelli* 6; 11-14: *Bardelli* 4)).

O gênero *Piper* L. possui aproximadamente de 297 espécies e desse total 185 espécies podem ser encontradas na Amazônia, 164 encontradas na Mata Atlântica, 68 no Cerrado, 18 na Caatinga, 4 no pantanal e 2 no Pampa (GUIMARÃES *et al.*, 2022). Encontrando-se distribuídas nas margens de florestas, estão entre as que apresentam um grande potencial bioativo (NAVICKIENE *et al.*, 2000; FACUNDO e MORAIS, 2003; XIE *et al.*, 2011; SANTANA, 2012).

Este gênero encontra-se distribuído por todas as regiões do país e em todos os estados, com a região Norte abrigando aproximadamente 182 espécies, 66 destas no estado de Rondônia, 41 em Roraima, 140 no Amazonas, 47 no Amapá, 22 em Tocantins, 83 no Acre e 106 no Pará (GUIMARÃES *et al.*, 2022).

O gênero *Piper* inclui grande número de espécies que possuem biomoléculas de largo interesse, se caracterizam pelo uso medicinal popular e pela importância econômica e comercial, devido à produção de óleos essenciais utilizados pela indústria farmacêutica e de condimentos (SILVA e MACHADO, 1999 apud SOUZA, *et al.*, 2009).

2.2 ESPÉCIES DE PLANTAS BIOATIVAS DO GÊNERO *PIPER* E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Com o intuito de proporcionar um conhecimento mais amplo da família Piperaceae, Oliveira *et al.* (2020) realizaram levantamento bibliográfico de algumas propriedades das plantas do gênero *Piper* e notaram que as diferentes espécies deste gênero apresentaram diversas propriedades químicas que são utilizadas pela comunidade científica e pela população em geral, como é o caso dos condimentos.

Em estudo sobre ocorrências e usos da Família Piperaceae abordando áreas de ocorrências, principais usos e os aspectos etnobotânicos, fitoquímicos e ecológicos das espécies, Nascimento *et al.* (2022) observaram que as espécies de *Piper* se destacaram como fonte de interesse farmacêutico e agrônomo, corroborando com estudos de Oliveira *et al.* (2020).

As espécies pertencentes ao gênero *Piper* são largamente prospectadas como fonte de novos produtos de interesse agrônomo, apresentam uma extensa gama de moléculas bioativas, apresentam um grande potencial fungicida, bactericida, inseticida e nematocida (Figura 1).

Tabela 1: Espécies de plantas do gênero *Piper* e suas atividades biológicas.

Espécie	Parte Utilizada	Alvo	Referências
<i>Piper tuberculatum</i> , <i>P. umbellatum</i> , <i>P. carniconnectivum</i> e <i>P. permucronatum</i>	Folha	<i>Hypothenemus hampei</i>	SOARES <i>et al.</i> (2022)
<i>P. corcovadensis</i>	Folha (óleo)	<i>Sitophilus zeamais</i>	PIMENTEL <i>et al.</i> (2022)
<i>P. umbellatum</i>	Folha	<i>Aedes aegypti</i>	PAULIQUEVIS <i>et al.</i> (2021)
<i>Piper callosum</i> sp	Folha	<i>Colletotrichum</i> sp	VILAMIL <i>et al.</i> (2021)
<i>P. umbellatum</i>	Folha	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Macrophomina phaseolina</i>	GUSMÃO <i>et al.</i> (2020)
<i>P. dilatatum</i> e <i>P. hostmannianum</i>	Folha (óleo)	<i>Aedes aegypti</i>	ALBUQUERQUE <i>et al.</i> (2020)
<i>P. carniconnectivum</i> , <i>P. hispidum</i> , <i>P. nigrum</i> , <i>P. permucronatum</i> , <i>P. tuberculatum</i> e <i>P. umbellatum</i> ,	Folha, Talo e Inflorescência	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i> .	BASTOS <i>et al.</i> (2018)
<i>P. marginatum</i>	Folha	<i>Alternaria</i> sp e <i>Colletotrichum musae</i>	MACÊDO <i>et al.</i> (2018)
<i>P. carniconnectivum</i> , <i>P. hispidum</i> , <i>P. 18uberculatum</i> , <i>P. nigrum</i> L., <i>P. umbellatum</i> e <i>P. permucronatum</i>	Folha, Talo e Inflorescência	<i>Meloidogyne incognita</i>	SANGI <i>et al.</i> (2018)
<i>P. tuberculatum</i>	Talo	<i>Haematobia irritans</i> L.	BRAGA <i>et al.</i> (2017)
<i>P. aduncum</i>	Talo	<i>C. albicans</i>	AIRES e LIMA (2014)
<i>Piper aduncum</i> L.	Folha (óleo)	<i>Aedes aegypti</i>	OLIVEIRA <i>et al.</i> (2013)
<i>P. marginatum</i>	Folha (óleo)	<i>Fusarium oxysporum</i>	SANTOS <i>et al.</i> (2011)
<i>P. hispidum</i>	Folha	<i>Hypothenemus hampei</i>	SANTOS <i>et al.</i> (2010)
<i>P. hispidinervum</i> C. DC	Fruto	<i>Spodoptera frugiperda</i>	LIMA <i>et al.</i> (2009)
<i>P. callosum</i> , <i>P. marginatum</i> var. <i>anisatum</i> e <i>P. enckea</i>	Folha (óleo)	<i>Crinipellis perniciosa</i> , <i>Phytophthora palmivora</i> e <i>P. capsici</i>	SILVA e BASTOS (2007)
<i>P. hispidinervum</i> e <i>P. aduncum</i>	Folha (óleo)	<i>Sitophilus zeamais</i>	ESTRELA <i>et al.</i> (2006)

As plantas de maneira geral produzem grande variedade de compostos orgânicos que parece não ter função direta no crescimento e no seu desenvolvimento, os metabólitos secundários específicos que agem como uma defesa das plantas contra vários herbívoros e microrganismos patogênicos. Esses metabólitos secundários são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A natureza tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Dentre os diferentes reinos, o reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos. Plantas possuem defesas que são de natureza química e, normalmente, envolvem substâncias do metabolismo secundário (CROTEAU *et al.*, 2000; PINTO *et al.*, 2002).

O estudo de metabólitos secundários apresenta inúmeras aplicações práticas. Pela importância das atividades biológicas contra herbívoros e microrganismos muitas dessas substâncias são pesquisadas e os produtos comercialmente utilizados como inseticidas, fungicidas e medicamentos ou até mesmo como fragrâncias e aromatizantes. Os metabólitos secundários podem ser pesquisados mais a fundo e serem utilizados numa agricultura biorracional como alternativa para redução no uso de pesticidas de altos custos e prejudiciais aos seres humanos e meio ambiente (BORGES e AMORIM, 2020).

Os metabólitos têm importantes funções ecológicas nas plantas, eles são responsáveis pela proteção contra herbívoros e patógenos, possuem a função de atração (aroma, cor, sabor) para polinizadores, também são agentes de competição entre plantas e de simbiose entre plantas e microrganismos (TAIZ e ZEIGER, 2006).

O metabolismo secundário vegetal forma vários compostos orgânicos; que por sua vez possuem atividade biológica. As principais classes de metabólitos secundários identificados em espécies vegetais são os compostos nitrogenados, compostos fenólicos ou fenóis e terpenos ou terpenóides (DELBONE e LANDO, 2010).

Alguns fatores influenciam o conteúdo dos metabólitos secundários, e a época em que a coleta é realizada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

3 APRESENTAÇÃO DOS CAPÍTULOS

Esta tese foi apresentada em 4 capítulos, onde foram mencionados os materiais e as metodologias, os resultados e discussão, de acordo com as normas dos periódicos que foram submetidos.

3.1 CAPÍTULO 1: Uso de plantas do gênero *Piper* no controle da germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*. Esse capítulo está formatado na forma de artigo, o qual será submetido à revista Research, Society and Development – ISSN 2525-3409.

3.2 CAPÍTULO 2: Avaliação de extratos de plantas no controle de *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e *Rhizoctonia solani*. Esse capítulo será submetido à Revista Científica.

3.3 CAPÍTULO 3: Avaliação fitoquímica de folhas, talos e inflorescência de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*. Esse capítulo está formatado na forma de artigo, o qual foi submetido à revista Research, Society and Development – ISSN 2525-3409, submetido em 10 de maio de 2022 e publicado em 29 de maio de 2022.

3.4 CAPÍTULO 4: Extratos de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum* e sua fase orgânica no controle das bactérias fitopatogênicas *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Esse capítulo será submetido à Revista Científica.

3.1 CAPÍTULO 1

USO DE PLANTAS DO GÊNERO *PIPER* NO CONTROLE DA GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS DE *Hemileia vastatrix*.

Resumo

A ferrugem alaranjada está entre as doenças mais importantes do cafeeiro, ocasionando perdas de até 50%. O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade de diferentes extratos de plantas do gênero *Piper* frente a germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*. Foram avaliados extratos alcoólicos e etéreos produzidos a partir do material vegetal (folhas, talos e inflorescências). Foram preparados grupos de três placas de Petri contendo ágar-água e os tratamentos avaliados. Para tanto, após solidificação, uma suspensão de esporos (1×10^5 urediniósporos/mL), foi depositada sobre o meio e espalhada com alça de Drigalski. A germinação dos esporos foi determinada de acordo com os 300 primeiros urediniósporos encontrados na varredura de cada placa de Petri. Todos os extratos apresentaram efeito de inibição na germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix*, apresentando germinação abaixo de 20%. Os extratos etanólicos de folha, talo e inflorescência de *P. aduncum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum*, talo e folha de *P. carniconectivum* e folha de *P. hispidum* apresentaram valores de germinação abaixo de 0,5%.

Palavras-chave: Ferrugem; Doença; Fitopatógeno; Controle.

Abstract

Orange rust is among the most important diseases of coffee, causing losses of up to 50%. The objective of this work was to evaluate the activity of different extracts of plants of the genus *Piper* against the germination of urediniospores of *Hemileia vastatrix*. Alcoholic and ethereal extracts produced from plant material (leaves, stalks and inflorescences) were evaluated. Groups of three Petri dishes containing agar-water were prepared and the treatments evaluated. Therefore, after solidification, a spore suspension (1×10^5 urediniospores/mL) was deposited on the medium and spread with a Drigalski loop. Spore germination was determined according to the first 300 urediniospores found in the scan of each Petri dish. All extracts showed an inhibition effect on the germination of urediniospores of *H. vastatrix*, showing germination below 20%. Ethanol extracts from leaf, stalk and inflorescence of *P. aduncum*, leaf and inflorescence of *P. tuberculatum*, stalk and leaf of *P. carniconectivum* and leaf of *P. hispidum* showed germination values below 0.5%.

Keywords: Rust; Disease; Phytopathogen; Control.

1 INTRODUÇÃO

Nos 10 últimos anos a produção mundial de café cresceu em média anual 2,6%, saindo de 140,16 milhões de sacas em 2010/11 com volume estimado de 168,71 milhões em 2019/20. O Brasil está entre os três maiores produtores de café do mundo, seguido de Vietnã e Colômbia, esses três países representam quase 70% de toda produção (OIC, 2019).

Dentre os estados do Brasil que desenvolvem a cafeicultura os que apresentam expressiva produção e contribuição econômica são Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia e Rondônia, representando mais de 95% da produção nacional (CONAB, 2020).

No entanto esta cultura é acometida por doenças que reduzem significativamente sua produção, dentre estas, a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), que é considerada uma das mais importantes, estando amplamente distribuída em todas as regiões produtoras e o prejuízo na produção é em torno de 35% (PATRÍCIO e OLIVEIRA, 2013).

Para o controle de ferrugens os principais fungicidas utilizados são a base de triazóis e estrobilurinas. Contudo, a utilização frequente de tais substâncias, muitas vezes sob condições inadequadas, tem resultado em diminuição da sensibilidade do patógeno (FIALLOS, 2013; SOUZA *et al.*, 2021).

Diante deste cenário, extratos vegetais têm sido utilizados como moléculas bioativas no controle dessas doenças (BELTRAME *et al.*, 2021; CARVALHO e SODRÉ, 2021; MARTINS e SIQUEIRA JUNIOR, 2021; MELO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021; SILVEIRA e BASSAN, 2021; CORASSA *et al.*, 2022). Um dos extratos que vem se destacando são os obtidos à base de pimentas, controlando com eficiência uma grande variedade de fungos, bactérias e nematoides (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2017; BASTOS *et al.*, 2018; SANGI *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, 2020; SPLETOZER *et al.*, 2021; VILAMIL *et al.*, 2021).

Neste trabalho o objetivo foi avaliar a eficiência de extratos vegetais de pimentas do gênero *Piper* no controle da germinação de uredinósporos do fungo fitopatogênico *H. vastatrix*.

2 METODOLOGIA

Para o estudo, espécies do gênero *Piper* foram coletadas e identificadas por meio de material botânico que foi encaminhado para o Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, Porto Velho – RO, tombadas sob os n°: 7760, 7761, 7762, 7763, 7764, 7766, 7767, *Piper umbellatum* L., *P. permucronatum* Yunck, *P. aduncum* L., *P. carniconnectivum* C.D.C, *P. tuberculatum* Jacq., *P. nigrum* L., *P. hispidum* S.W. respectivamente.

Para a realização dessa pesquisa obteve-se permissão de uso dos materiais que estão cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen sob o número A613C64.

As plantas em estágio de florescimento foram coletadas em junho, período em que o município de Porto Velho apresenta temperatura média de 25°C e máxima de 31,5°C, e 32mm de chuva. Estas foram coletadas do Campo Experimental da Embrapa Rondônia (8° 53`20`` de latitude Sul e 63° 06`40`` de longitude Oeste de Grw).

Foram avaliados extratos aquosos, alcoólicos, etéreos produzidos a partir do material vegetal coletado. Para a obtenção dos extratos etanólicos, o material vegetal foi colocado para secar em estufa com circulação de ar à temperatura média de 40°C por cerca de 48 horas, estando secos, as folhas, talos e inflorescências foram triturados em moinho de facas até obtenção de um pó fino, sendo estes submetido à extração de seus compostos, na proporção de 1g do material vegetal para 10 mL do solvente, seguindo metodologia adaptada de Souza (2015).

Os extratos foram acondicionados em erlenmeyer e levados para agitação em Incubadora Shaker a 100 RPM (Rotação Por Minuto) por 24 horas, em temperatura ambiente. Após esta etapa, os extratos foram filtrados em gaze e tecido de nylon de trama fina, acondicionados em recipiente de vidro e levados ao congelador para os ensaios.

O preparo dos extratos etílicos transcorreu da mesma forma que os extratos etanólicos, diferenciando-se apenas nos procedimentos pós-filtragem, pois este foi levado para rotavapor sob temperatura de 40°C e velocidade de 85 RPM, para concentração do material por meio da evaporação do solvente. O material final foi coletado e transferido para tubos do tipo Eppendorf e diluído em álcool 96° (50 mg/mL) e acondicionados ao freezer. Os controles utilizados foram Oxícloreto de Cobre (14 g/L), água mineral estéreo, álcool 96° e éter de petróleo.

Para os testes de germinação de urediniósporos de ferrugem, estes foram obtidos a partir de folhas de cafeeiro infectadas naturalmente no campo por *H. vastatrix*, provenientes do campo experimental da Embrapa Rondônia. Os urediniósporos foram removidos das folhas com o auxílio de um pincel e acumulados em recipiente asséptico. Após esta etapa foram

preparados grupos de três placas de Petri contendo ágar-água (AA) e os tratamentos (1 mL de cada tratamento incorporado a 19 mL de (AA)).

Uma suspensão de esporos (1×10^5 urediniósporos/mL), calibrada em hemocitômetro foi depositada sobre o meio (AA) e espalhada com alça de Drigalski. Após a montagem, as placas foram revestidas com papel laminado e acondicionadas em câmara de crescimento, na ausência de luz, a $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas. Decorrido o tempo indicado, as placas foram submetidas a aproximadamente 5°C para inibir o desenvolvimento do tubo germinativo e permitir a avaliação. A germinação dos esporos foi determinada de acordo com os 300 primeiros urediniósporos encontrados na varredura de cada placa de Petri, seguindo metodologia adaptada de Zambenedetti *et al.* (2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de germinação obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos (Tabela 2).

Tabela 2: Resumo da análise de variância do efeito inibitório de diferentes extratos vegetais sobre o percentual da germinação de urediniósporos da ferrugem do cafeeiro.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	33	40295,7	1221,1	950.3**
Extratos (E)	29	1231,8	42,5	33.1**
Testemunhas (T)	3	11330,0	3776,7	2939.3**
E x T	1	27733,8	27733,8	21584.3**
Resíduo	68	87,4	1,3	
TOTAL	101	40383,0		
MÉDIA geral	8,4			
MÉDIA extratos	2,4			
MÉDIA testemunha	53,6			
CV(%)	13,5			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Neste experimento o coeficiente de variação foi baixo e considerado de precisão. Segundo Pimentel (2000) valores de coeficientes de variação de até 10% podem ser considerados baixos e de alta precisão, valores entre 10 e 20% são de boa precisão.

Dos 30 extratos (etéreo e etanólico) utilizados, todos apresentaram efeito de inibição de germinação de urediniósporos de *H. vastatrix*, quando comparados com os controles água, éter de petróleo e álcool 96° (Figura 2).

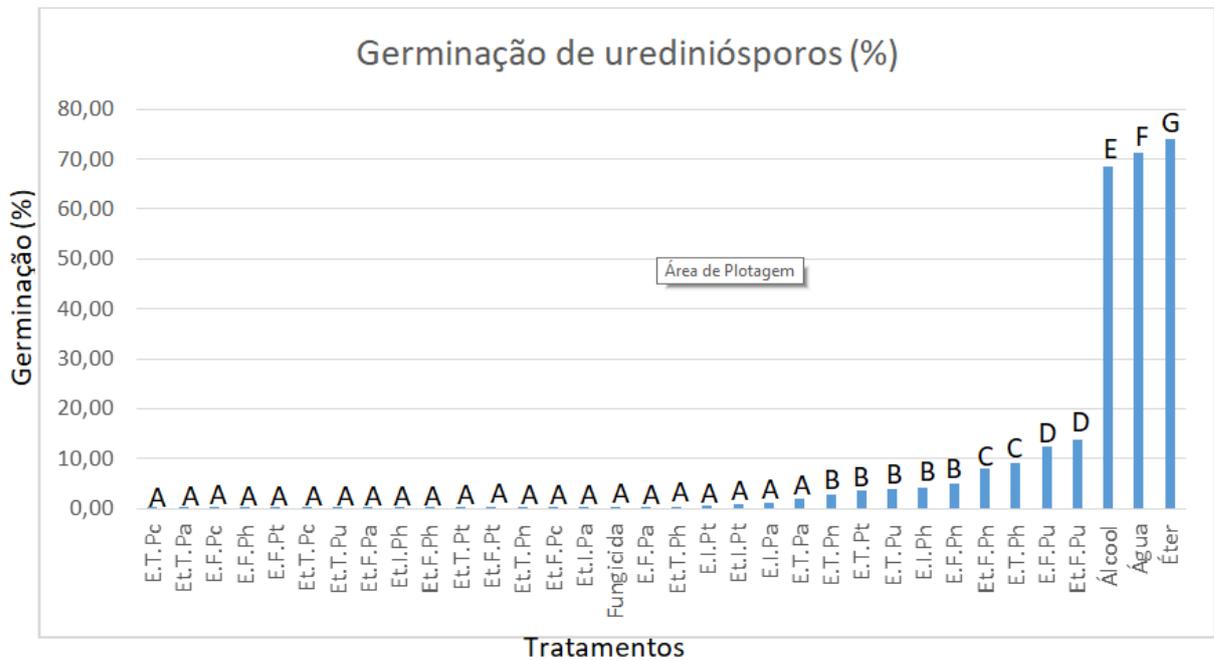


Figura 2 - Média do percentual de germinação de urediniósporos do fungo *H. vastatrix*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem de acordo com o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Legenda: E: Extrato etanólico, Et: Extrato etéreo, F: Folhas, T: talos, I: Inflorescência, Pt: *P. tuberculatum*, Ph: *P. hispidum*, Pa: *P. aduncum*, Pn: *P. nigrum*, Pu: *P. umbellatum*, Pc: *P. carniconecctivum*.

Entre os tratamentos que foram semelhantes ao controle fungicida estão os extratos etanólicos de folha, talo e inflorescência de *P. aduncum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum*, talo e folha de *P. carniconecctivum* e folha de *P. hispidum*. E os extratos etéreos de folha, talo e inflorescência de *P. aduncum*, *P. hispidum*, e *P. tuberculatum*, folha e talo de *P. carniconecctivum* e talo de *P. umbellatum* e *P. nigrum*.

Vale ainda ressaltar que os demais extratos de *Piper* utilizados também foram eficientes no controle da germinação de urediniósporos, uma vez que esta permaneceu abaixo de 20%, o que indica que os metabólitos secundários deste gênero de planta exercem influência sobre o patógeno *H. vastatrix*.

Além do extrato de plantas, outros produtos também tem demonstrado eficiência no controle de doenças, como o extrato etanólico de própolis (EEP) na concentração de 2,0 mL/L que inibiu 99% de germinação de urediniósporos de ferrugem do cafeeiro (Pereira *et al.*, 2007). Assim como a avaliação de germinação de esporos de *H. vastatrix* utilizando extrato etanólico de folhas de nim (*Azadirachta indica*) que apresentou poder de inibição de germinação de esporos, tendo o extrato puro como o mais eficaz (Duarte *et al.*, 2018). Mas há possibilidade do álcool contido no extrato puro ter influenciado o resultado final do experimento, uma vez que este realizou apenas teste com o controle água.

A possibilidade do álcool ou do éter ter interferido no resultado final deste experimento foi sanado, uma vez que os resultados foram confrontados com os grupos controles (água, álcool, éter e fungicida), atribuindo-se aos extratos a capacidade de inibição da germinação.

A germinação de urediniósporos encontrada nos grupos controle foi de aproximadamente 80%, percentual este também observado no trabalho desenvolvido por Salustiano *et al.* (2006), com extratos de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) na inibição *in vitro* de esporos de ferrugem do cafeeiro.

4 CONCLUSÕES

Todos os extratos apresentam efeito de inibição na germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix* com germinação abaixo de 20%.

Os extratos etanólicos de folha, talo e inflorescência de *P. aduncum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum*, talo e folha de *P. carniconectivum* e folha de *P. hispidum* apresentaram valores de germinação abaixo de 0,5%.

Os extratos etéreos de folha, talo e inflorescência de *P. aduncum*, *P. hispidum*, e *P. tuberculatum*, folha e talo de *P. carniconectivum*, talo de *P. umbellatum* e *P. nigrum* apresentam taxa de germinação de urediniósporos de *H. vastatrix* abaixo de 0,5%.

REFERÊNCIAS

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

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

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

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira. Café, SAFRA, v. 6, n. 1, 2020, Primeiro levantamento.

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

DUARTE, D.; OLIVEIRA, M.; SANTANA, K.; IOST, R. Avaliação de germinação de esporos de *Hemileia vastatrix* utilizando extrato etanólico de folhas de nim (*Azadirachta indica*). **Summa Phytopathologica**. 44. *XLI Congresso Paulista de Fitopatologia*, 2018.

FIALLOS, F.R.G.; FORCELINI, C.A. Controle comparativo da ferrugem asiática da soja com fungicida triazol ou mistura de triazol+ estrobilurina. *Bioscience Journal*, v. 29, n. 4, 2013. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/15029>.

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

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

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

OIC. Organização Internacional do Café. Relatório sobre o mercado cafeeiro – dezembro 2019. Disponível em: <http://www.ico.org/documents/cy2019-20/cmr-1219-p.pdf>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2020.

PATRÍCIO, F.R.A.; OLIVEIRA, E.G. Desafios do manejo no controle de doenças do café. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 12, 2013. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va12-fitossanidade02.pdf>.

PEREIRA, C.S.; CARVALHO, S.J.; GUIMARÃES, R.J.; POZZA, E.A. Extrato etanólico de própolis (EEP) na inibição da germinação de uredíniosporos da ferrugem do cafeeiro *Hemileia vastatrix* Berk & Cooke. In: *Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil*, 2007.

PIMENTEL G.F. *Curso de Estatística Experimental*. 14 ed. Piracicaba: Degaspari. p. 477, 2000.

SALUSTIANO, M.E.; FERRAZ FILHO, A.C.; POZZA, E.A.; CASTRO, H.A. Extratos de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) na inibição *in vitro* de *Cylindrocladium scoparium* e de quatro espécies de ferrugens. **Cerne**, n. 12, n. 2, 2006. Disponível em: <https://cerne.ufla.br/site/index.php/CERNE/article/view/414/355>.

SANGI, S.C.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; BASTOS, J.S.F.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; OGRODOWCZYK, L.; NUNES, J.D.K.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-858.2018.008.0019>.

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

SILVEIRA, A.P.; BASSAN, J.S. Plantas medicinais e suas possíveis contribuições: um estudo bibliográfico em dissertações e teses presentes na BDTD no período 2015-2020. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, 2021. DOI: [10.33448/rsd-v10i11.19907](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19907).

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

SOUZA, C.R.F.; FERNANDES, L.P.; BOTT, R.F.; OLIVEIRA, W.P. Influência do processo de secagem e condição de armazenamento de extratos secos de *Bauhinia forficata* e *Passiflora alata* sobre seu perfil de dissolução. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, 2015. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/11_137.

SOUZA, H.; FRANCO JÚNIOR, K.S.; BRIGANTE, G.P.; DIAS, M.S.; FERREIRA, N.C. Antecipação do controle da ferrugem-do-cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) com diferentes fungicidas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 15, n. 3, 2021. DOI: [10.18011/bioeng2021v15n3p454-496](https://doi.org/10.18011/bioeng2021v15n3p454-496).

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

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

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

ZAMBENEDETTI, E.B.; ALVES, E.; POZZA, E.A.; ARAÚJO, D.V. Germinação de uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes métodos de armazenamento. Notas Científicas. **Summa phytopathol.** v. 33, n. 1, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052007000100013>.

3.2 CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE PLANTAS NO CONTROLE DE *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* E *Rhizoctonia solani*.

Resumo

Os agroquímicos contribuem para o aumento da produtividade agrícola, no entanto podem causar danos à saúde e ao meio ambiente. O objetivo neste trabalho foi avaliar folhas, talos e inflorescências das espécies de plantas do gênero *Piper* no controle de *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e *Rhizoctonia solani*. Para a avaliação foram preparados extratos aquosos, etéreos e alcoólicos, obtidos a partir de materiais secos de folhas, talos e inflorescências de *P. carniconectivum*, *P. hispidum*, *P. nigrum*, *P. aduncum*, *P. tuberculatum* e *P. umbellatum*, cultivadas a campo, totalizando 45 extratos. Os testes foram realizados em placas de Petri, a atividade antifúngica e antibacteriana foi testada por meio de ensaios de antibiograma. No qual 10 µL dos extratos foram depositados em poços de 5mm de diâmetro em meio de cultura BDA e foram depositados no centro da placa disco micélico de 5mm de diâmetro. Para avaliação das bactérias, esta foi incorporada ao meio Kado e Heskett e discos contendo 10 µL dos tratamentos foram depositados em placa de Petri. As placas foram vedadas e acondicionadas em câmara de crescimento, a 25°C ± 2°C. Foram medidos os halos de inibição formados. No teste de antibiograma bacteriano com *Ralstonia solanacearum*, observou-se que houve efeito inibitório com extratos etéreo de talos de *P. aduncum*, *P. nigrum*, e *P. umbellatum* e folha de *P. carniconectivum*. Entre os extratos contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* os extratos etéreos de talo e folha de *Piper carniconectivum*, folha de *P. hispidum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum* e os extratos etanólicos de talo de *P. carniconectivum*, folha de *Piper tuberculatum* e folha e talo de *P. hispidum* foram os mais eficientes. Já os extratos aquosos não apresentaram inibição em nenhum dos patógenos avaliados anteriormente.

Palavras-chave: Fungo; Bactéria; Fitopatógeno; Controle.

Abstract

Agrochemicals contribute to increasing agricultural productivity, however they can cause damage to health and the environment. The objective of this work was to evaluate leaves, stems and inflorescences of plant species of the genus *Piper* in the control of *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* and *Rhizoctonia solani*. For the evaluation, aqueous, ethereal and alcoholic extracts were prepared, obtained from dried material of leaves, stems and inflorescences of *P. carniconectivum*, *P. hispidum*, *P. nigrum*, *P. aduncum*, *P. tuberculatum* and *P. umbellatum*, cultivated in the field, totaling 45 extracts. The tests were performed in Petri dishes, the antifungal and antibacterial activity was tested by means of antibiogram assays. In which 10 μ L of the extracts were deposited in 5mm diameter wells in BDA culture medium and deposited in the center of the 5mm diameter mycelium disk plate. To evaluate the bacteria, they were incorporated into Kado and Heskett medium and discs containing 10 μ L of the treatments were placed in a Petri dish. The plates were sealed and placed in a growth chamber at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. The inhibition halos formed were measured. In the bacterial antibiogram test with *Ralstonia solanacearum*, it was observed that there was an inhibitory effect with ether extracts of *P. aduncum*, *P. nigrum*, and *P. umbellatum* stalks and *P. carniconectivum* leaf. Among the extracts against *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* ether extracts of stem and leaf of *Piper carniconectivum*, leaf of *P. hispidum*, leaf and inflorescence of *P. tuberculatum* and ethanol extracts of stem of *P. carniconectivum*, leaf of *Piper tuberculatum* and leaf and stem of *P. hispidum* were the more efficient. On the other hand, the aqueous extracts showed no inhibition in any of the previously evaluated pathogens.

Keyword: Fungus; Bacterium; Phytopathogen; Control.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de agroquímicos vem sendo discutida há muito tempo, segundo pesquisa realizada por Miorin *et al.* (2016), os produtores conhecem os riscos a que estão expostos e os efeitos maléficos dos agroquímicos para o meio ambiente, entretanto não veem solução em curto prazo, senão o uso destes produtos.

Muitos trabalhos vêm sendo realizados na busca da redução ou substituição destes produtos. Uma das alternativas é a busca por novas moléculas bioativas com potencial controle de fitopatógenos. Uma fonte promissora dessas moléculas vem de extratos de plantas, por apresentarem compostos com capacidade inseticida, alelopático, herbicida, nematicida, fungicida, bactericida (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2017; BASTOS *et al.*, 2018; SANGI *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, ESPINOSA *et al.*, 2019; SPLETOZER *et al.*, 2021; VILAMIL *et al.*, 2021; CORASSA *et al.*, 2022).

As espécies do gênero *Piper* são comumente utilizadas como produtos farmacológicos, no tratamento de diversas enfermidades e suas propriedades químicas também são de interesse de pesquisa, na produção de óleos e extratos para o controle de insetos pragas e microrganismos fitopatogênicos (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

O fungo *Rhizoctonia solani* está entre os principais causadores de doenças. Pode sobreviver em resíduos de plantas no solo e na forma de estruturas de resistência, o que dificulta o controle de doenças causadas por esses fungos (SARTORATO e RAVA, 1994).

As bactérias *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* são causadoras de doenças de importância agrônômica, patogênicas para mais de 200 espécies de plantas e sobrevive no solo por mais de cinco anos (ZAMBOLIM *et al.*, 2000).

Neste trabalho o objetivo foi avaliar folhas, talos e inflorescências das espécies de plantas do gênero *Piper* no controle de *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e *Rhizoctonia solani*.

2 METODOLOGIA

Para o estudo de prospecção, espécies da família Piperaceae foram coletadas e identificadas. Para a identificação botânica, o material coletado foi encaminhado para o Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, Porto Velho – RO, tombadas sob os n°: 7760, 7761, 7762, 7763, 7764, 7766, 7767, *Piper umbellatum* L., *P. permucronatum* Yunck, *P. aduncum* L., *P. carniconectivum* C.D.C, *P. tuberculatum* Jacq., *P. nigrum* L., *P. hispidum* S.W. respectivamente.

Para utilização do material vegetal e dos fitopatógenos avaliados foi obtida permissão para pesquisa e cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen sob o número A613C64.

2.1 Preparo de extratos e soluções controles

2.1.1 Preparo dos extratos alcoólicos e aquosos

Para a obtenção dos extratos, os materiais foram colocados para secar em estufa com circulação de ar à temperatura média de 40°C por cerca de 48 horas. Após esse período, as folhas, frutos e talos foram triturados em moinho, até obtenção de material vegetal fino e submetido à extração de seus compostos, na proporção de 1g do pó vegetal para 10 mL do solvente. Estes foram acondicionados em erlenmeyer e levados para agitação em Incubadora Shaker a 100 RPM (rotação por minuto) por 24 horas, em temperatura ambiente. Os extratos foram filtrados em gaze e tecido de nylon de trama fina, acondicionados em recipiente de vidro e levados ao freezer até o momento de sua utilização, seguindo metodologia adaptada de Ferris e Zheng (1999).

2.1.2 Preparo dos extratos etéreos

O preparo transcorreu da mesma forma que os demais extratos, diferenciando-se apenas nos procedimentos pós filtragem, pois este foi acondicionado em balão, levado para rotavapor a temperatura de 40°C e uma velocidade de 85 RPM, para concentração do material por meio da evaporação do solvente. O material final foi coletado e transferido para tubos do tipo Eppendorf e diluído em álcool 96° (50 mg/mL) e levados ao congelador, metodologia adaptada de Ferris e Zheng (1999).

2.1.3 Soluções controles

Foram preparadas como soluções controles para os fungos e bactérias os produtos comerciais: Azoxistrobina (0,6 g/L); Tiabendazol (2 mL/L) e Amoxicilina (500 ppm) (ROMEIRO, 2001; DHINGRA e SINCLAIR, 1995).

2.2 Obtenção dos isolados fúngicos e bacterianos

Foram utilizados isolados de *Rhizoctonia solani* provenientes de folhas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), oriundas do campo experimental da Embrapa Rondônia. As folhas com sintomas de mela e talos com sintomas de mofo foram lavadas em água corrente e posteriormente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 5%, durante um minuto, depois transferidos para um recipiente contendo água mineral estéril e o excesso de umidade foi retirado com papel filtro.

Os fragmentos contendo parte das lesões foram plaqueados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) em condições assépticas e incubados em estufa de crescimento (BOD) em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, até o momento em que a colônia preencheu completamente a placa de Petri de 90 mm de diâmetro. Após este período, realizou-se a repicagem do fungo, onde discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro contendo as estruturas do fungo foram transferidos para novas placas Petri contendo meio BDA e acondicionados em incubadora tipo BOD para obtenção de uma nova colônia fúngica, as quais foram utilizadas para os testes, adaptado de Vieira Júnior (2005).

Os isolados das bactérias *Xanthomonas axonopodis* pv. *Vesicatoria* e *Ralstonia solanacearum* utilizados, encontravam-se preservados em óleo mineral no laboratório de fitopatologia da Embrapa Rondônia e foram cedidos para a realização dos experimentos. As bactérias foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura 523 de Kado e Heskett sólido mantendo-as viáveis e após crescimento os tubos foram armazenados em refrigerador sob temperatura de 4°C (COSTA e FERREIRA, 1991).

2.3 Teste de sensibilidade dos isolados bacterianos

O teste de sensibilidade dos isolados bacterianos aos extratos foi realizado preparando-se culturas de cada bactéria fitopatogênica em meio de cultura 523 de Kado e Heskett líquido, por 24h. Adicionou-se 100 μL da cultura a 100 mL de meio 523 sólido, espalhando o inóculo com a alça de Drigalski, as placas de Petri foram vedadas e levadas à incubadora tipo BOD (KLEMENT *et al.*, 1990).

A obtenção da suspensão bacteriana foi obtida após o aparecimento das primeiras colônias, a estas foram adicionados água mineral estéril, calibrada em espectrofotômetro, tendo absorvância $A_{540\text{ nm}}$ ajustada para 1,200, que corresponde a um inóculo de $3,0 \times 10^6$ UFC/mL (ROMEIRO, 2014).

Adicionou-se 100 µL da suspensão bacteriana a 100 mL de meio 523 sólido fundente, a mistura será vertida em placa de Petri de nove cm de diâmetro até sua completa solidificação (KLEMENT *et al.*, 1990).

Paralelamente, foram preparados discos de papel de 0,5 cm de diâmetro e em seguida, esterilizados. No disco estéril, foi depositada uma gota contendo 10 µL de cada amostra. Os discos foram deixados dentro da câmara de fluxo laminar para evaporação dos solventes. Para cada bactéria fitopatogênica foram testadas quatro repetições de cada agente antimicrobiano. As placas foram mantidas em incubadora a 25°C por 24 e 48 horas, quando avaliou-se a presença ou não de halos de inibição (ROMEIRO, 2001).

Para avaliar o potencial bioativo dos extratos de *Piper* no controle da bactéria *R. solanacearum*, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância – ANOVA.

2.4 Teste de sensibilidade dos isolados fúngicos

Para os ensaios com os fungos foi preparado meio de cultivo padrão BDA (Batata-dextrose-ágar) (DHINGRA e SINCLAIR, 1995) e este vertido em placa de Petri. Sobre o meio, um disco de micélio de 0,5 cm de diâmetro do patógeno desafiante foi depositado no centro da placa. E nas bordas da placa os poços de 0,5 cm contendo 10 µL das amostras. Foi avaliado o efeito inibitório das amostras pela quantificação da presença e tamanho de halos de inibição dos patógenos, conforme descrito em Vieira Júnior (2005).

2.5 Delineamento experimental

Para quantificar o efeito inibitório dos extratos o diâmetro das colônias no sentido longitudinal e transversal (D_1 e D_2) foi utilizado para estimar a área de inibição micelial pela aproximação com a área de uma elipse:

$$A = \pi \cdot \frac{D_1}{2} \cdot \frac{D_2}{2} \quad (1)$$

Em que: A : área de crescimento micelial, D_1 : diâmetro no sentido longitudinal, D_2 : diâmetro no sentido transversal.

O efeito inibitório dos extratos sobre o crescimento micelial foi interpretado considerando delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições por tratamento. Para inferir sobre a precisão experimental foi estimado o coeficiente de variação, conforme a notação apresentada por Pimentel Gomes (2000).

$$CV\% = \frac{100\sqrt{QMR}}{\bar{x}} \quad (2)$$

Em que: $CV\%$:coeficiente de variação experimental, QMR :quadrado médio do resíduo da análise de variância, \bar{x} :média experimental.

Para comparar as médias de tratamentos foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Genes (Cruz *et al.*, 2004). Para os testes *in vitro* o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada extrato e para os grupos controle. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias por meio do programa AFsoft® (SILVA *et al.*, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Antibiograma bacteriano (*Ralstonia solanacearum*).

De acordo com dados obtidos por meio da análise de variância - ANOVA (Tabela 3).

Tabela 3: Resumo da análise de variância da área de inibição mensurada em mm², de diferentes extratos vegetais testados no controle da *Ralstonia solanacearum*.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	10	2294377,2	229437,7	36.7**
Extratos (E)	9	2240718,3	248968,7	39.9**
E x Testemunha (T)	1	53658,8	53658,8	8.6**
Resíduo	33	206094,5	6245,3	
TOTAL	43	2500471,7		
MÉDIA geral	319,0			
MÉDIA extratos	330,1			
MÉDIA testemunha	208,6			
CV(%)	24,8			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Verificou-se que dos extratos avaliados, dez se destacaram no controle da bactéria *Ralstonia solanacearum*, com quatro destes apresentando valores de inibição superiores ao controle antibiótico. São os extratos etéreos de talos de *P. aduncum*, *P. nigrum*, e *P. umbellatum* e folha de *P. carniconectivum*. Os demais foram semelhantes ao controle com antibiótico (Figura 3), os extratos a base de água e álcool foram ineficientes.

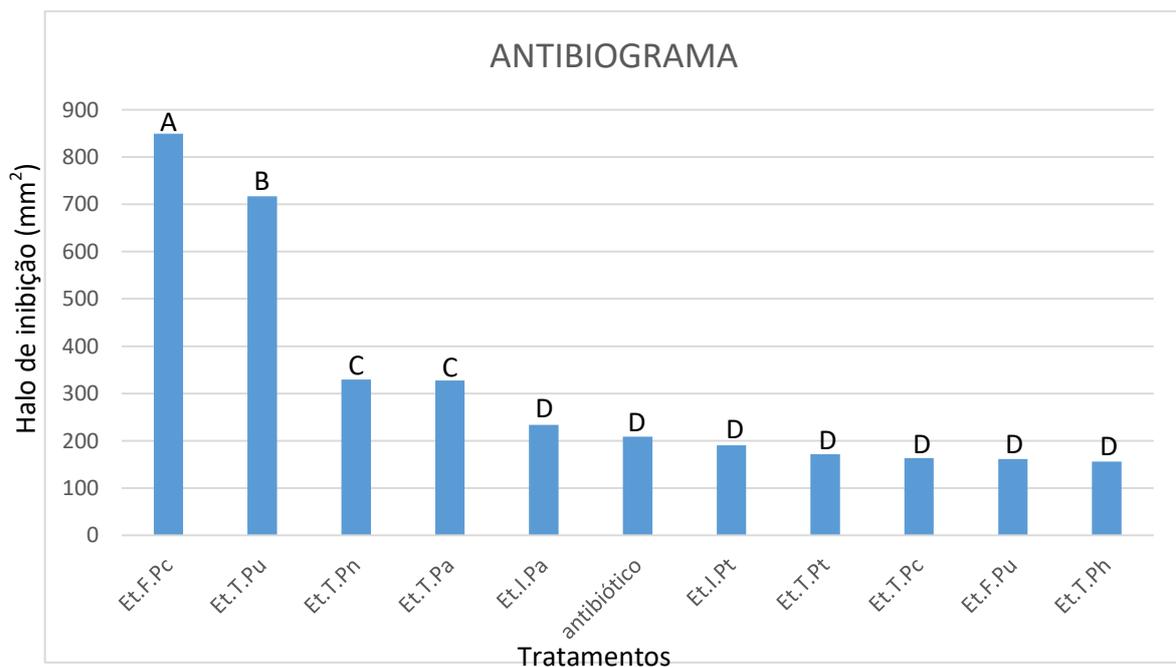


Figura 3 - Média dos halos de inibição de *Ralstonia solanacearum* por extratos do gênero *Piper*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem de acordo com o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

A variação de eficiência com relação ao tipo de solvente utilizado na confecção dos extratos também é observada no trabalho que avaliou a atividade antifúngica do extrato bruto das folhas de *Azadirachta indica* frente às cepas padrão de *Candida albicans*. Com o extrato bruto produzido com álcool etílico 70% e hexano, mostrando-se incapazes de inibir a cepa de *C. albicans* mesmo na concentração de 2000 µg/mL, já o extrato a base de acetato de etila foi capaz de exercer efeitos inibitórios (BERALDO *et al.*, 2015).

Os extratos aquosos de diferentes espécies *Piper* não foram eficientes, possivelmente, devido a menor concentração de compostos bioativos extraídos com potencial de controle dos fitopatógenos em questão. Ausência de atividade também foi observada por Vasconcelos *et al.* (2017), tendo o extrato etanólico das folhas de *Gossypium arboreum* não apresentado atividade antifúngica *in vitro* para o fungo *Lasiodiplodia theobromae*.

A diferença entre os tratamentos utilizando as diferentes partes da planta, provavelmente se deve ao fato de existirem diferentes constituintes e em diferentes concentrações em todas as partes das plantas, essa característica pode variar da espécie da planta, parte utilizada, extrator e finalidade (FACUNDO *et al.*, 2008; MEDEIROS *et al.*, 2012; RODRIGUES *et al.*, 2015; SENAR, 2017).

3.2 Antibiograma bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*).

Para avaliar o potencial bioativo dos extratos de *Piper* no controle da bactéria *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos (Tabela 4).

Tabela 4: Resumo da análise de variância da área de inibição mensurada em mm², de diferentes extratos vegetais testados no controle da *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*

	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	9	2994505,9	332722,9	48.9**
Extratos (E)	8	821081,5	102635,2	15.1**
E x Testemunha (T)	1	2173424,4	2173424,4	319.1**
Resíduo	30	204318,5	6810,6	
TOTAL	39	3198824,2		
MÉDIA geral	378,2			
MÉDIA extratos	300,5			
MÉDIA testemunha	1077,5			
CV(%)	21,8			

FV: fonte de variação, GL: grau de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Entre os extratos que foram utilizados contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, nove entre eles apresentaram halo de inibição, entre os quais estão os extratos etéreos de talo e folha de *Piper carniconecctivum*, folha de *P. hispidum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum* e os extratos etanólicos de talo de *P. carniconecctivum*, folha de *P. tuberculatum* e folha e talo de *P. hispidum* (Figura 4).

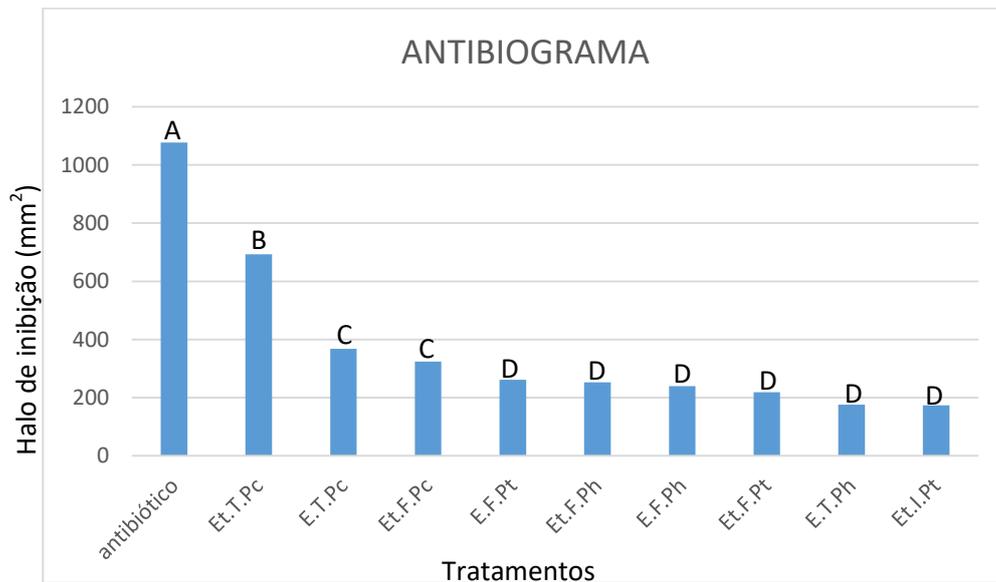


Figura 4 - Média dos halos de inibição de *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* por extratos do gênero *Piper*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem de acordo com o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Dos extratos utilizados, apenas os extratos a base de água não foram eficientes no controle desta bactéria, tal resposta pode ser explicada pelos compostos extraídos. Edwards *et al.* (2012) afirmaram que alguns compostos são extraídos mais facilmente em álcool como os flavonoides, enquanto os ácidos e os açúcares pelos extratos aquosos.

Os óleos essenciais por sua vez têm potencial em funções inseticidas, antibacterianas, antifúngicas e antivirais, pois controlam efetivamente várias pragas e patógenos devido à ação de inúmeros grupos funcionais, como álcoois, aldeídos, fenólicos, terpenos e cetonas (SARTORELLI *et al.*, 2007; SWAMY *et al.*, 2016). Essas substâncias são encontradas em folhas, caules, raízes e flores, e quando ocorre um ataque de herbivoria ou de patógenos são liberadas por ativação local sem prejudicar a planta (TAIZ *et al.*, 2017).

Outro fator relevante é a parte utilizada da espécie vegetal, uma vez que há evidências de diferença no controle de fitopatógenos em relação as diferentes partes destas. Medeiros *et al.* (2012) em pesquisa avaliando a atividade antibacteriana de extratos alcoólicos de *Senna alata* sobre o crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e na redução da bacteriose em casa de vegetação, demonstrou-se que houve diferenças na eficiência dos diferentes

extratos (folha e vagem) (Silva *et al.*, 2017). Assim como a utilização de extratos de raízes e vagens no controle do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* em meloeiro.

Esta característica também foi evidenciada por Rodrigues *et al.* (2015), em estudo com extratos de sementes e folhas de *Annona muricata* contra *Aphis craccivora*, onde observaram que o extrato hexânico da semente na concentração 0,5% apresentou eficiência para o manejo do pulgão-preto do feijão caupi, já o extrato hexânico das folhas se apresentou ineficiente.

3.3 Antibiograma fúngico (*Rhizoctonia solani*).

Para avaliar o potencial bioativo dos extratos de *Piper* no controle do fungo *R. solani*, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos. Foi obtido coeficiente de variação dentro de uma faixa considerada aceitável, segundo Pimentel Gomes (2000) e o resumo da análise constam na (Tabela 5).

Tabela 5 - Resumo da análise de variância da área de inibição mensurada em mm², de diferentes extratos vegetais testados no controle da *Rhizoctonia solani*.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	30	9536517,2	317883,9	15.6**
Extratos (E)	29	9101211,2	313834,9	15.3**
E x Testemunha (T)	1	435305,9	435305,9	21.3**
Resíduo	93	1901877,8	20450,3	
TOTAL	123	11438394,9		
MÉDIA geral	692,0			
MÉDIA extratos	681,2			
MÉDIA testemunha	1016,5			
CV(%)	20,7			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Do total de extratos avaliados, 30 (extratos etéreos e etanólicos) apresentaram inibição do crescimento micelial do fungo *R. solani*, e 15 (extratos aquosos) não apresentaram tal efeito. Tendo o extrato etéreo de talo de *P. carniconecctivum* e o extrato etanólico de folha de *P. tuberculatum* apresentado valores de inibição superiores ao controle fungicida, e os extratos etanólicos de talo de *P. carniconecctivum* e folha de *P. hispidum* estatisticamente semelhantes ao controle fungicida (Figura 5).

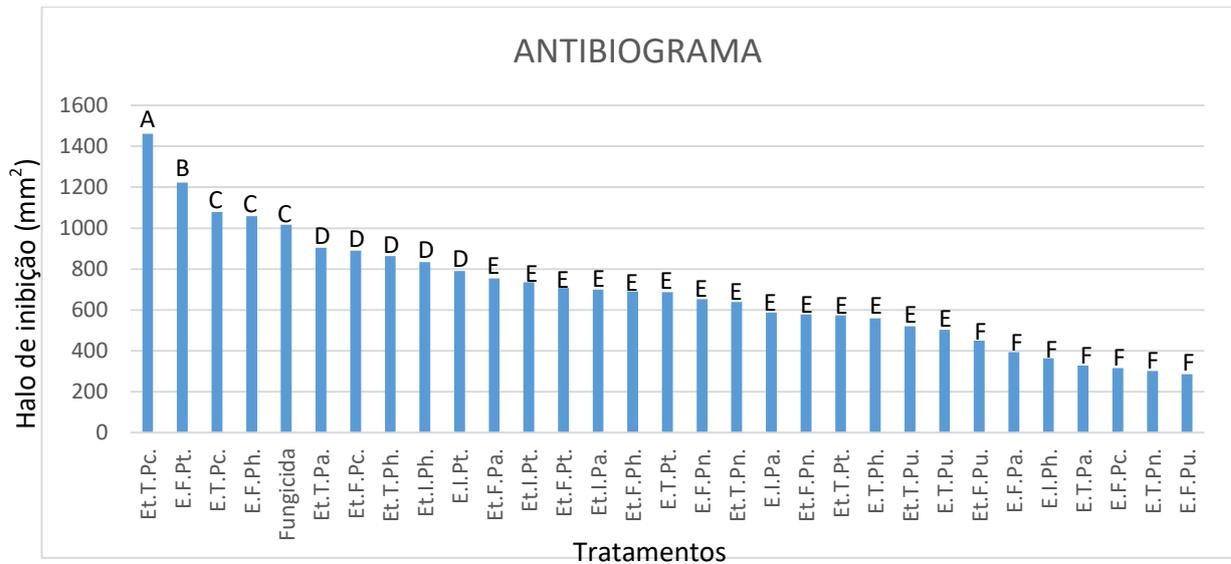


Figura 5 - Média dos halos de inibição de *R. solani* por extratos do gênero *Piper*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem de acordo com o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Garcia *et al.* (2012) verificaram ação inibitória de extrato de pimenta longa (*Piper aduncum*) sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, com 43% de inibição. Macêdo *et al.* (2018) também evidenciaram a eficiência de controle de *P. marginatum* na concentração de 50% proporcionando melhor ação antifúngica em *Colletotrichum musae*, com redução de 20,2% em relação ao controle.

A diferença de eficiência dos extratos aquosos em relação aos extratos etéreos e etanólicos pode ter sido influenciado devido a presença de flavonoides (Edwards *et al.*, 2012).

Extratos etanólicos são largamente prospectados como fonte de substâncias para o controle de diversas pragas e doenças de importância econômica. São inúmeros os trabalhos envolvendo fungos e bactérias fitopatogênicas. Como os trabalhos de Vigo-Schultz *et al.* (2006) verificando o potencial de *Mikania glomerata* no controle da *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Silva *et al.* (2017) com extratos alcoólicos de *Senna alata* sobre o crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, e Moura *et al.* (2016) com extratos etanólicos de própolis contra *Botrytis cinerea* e *Rhizopus nigricans*, alcançando resultados de inibição de 38%, 37,82% e 43,23% respectivamente.

4 CONCLUSÕES

Os extratos etéreos de talos de *P. aduncum*, *P. nigrum*, e *P. umbellatum* e folha de *P. carniconectivum* apresentam efeito inibitório para a bactéria *Ralstonia solanacearum*.

Entre os extratos contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* os extratos etéreos de talo e folha de *P. carniconectivum*, folha de *P. hispidum*, folha e inflorescência de *P. tuberculatum* e os extratos etanólicos de talo de *P. carniconectivum*, folha de *Piper tuberculatum* e folha e talo de *P. hispidum* foram os mais eficientes.

O extrato etéreo de talo de *P. carniconectivum* e o etanólico de folha de *P. tuberculatum* apresentaram valores de inibição superiores ao controle fungicida e os extratos etanólicos de talo de *P. carniconectivum* e folha de *P. hispidum* foram semelhantes ao fungicida comercial utilizado contra *R. solani*.

Extratos aquosos de *P. tuberculatum*, *P. hispidum*, *P. aduncum*, *P. umbellatum*, *P. nigrum* e *P. carniconectivum* não apresentaram efeito inibitório frente aos fitopatógenos *R. solanacearum*, *X. axonopodis* pv. *Vesicatoria* e *R. solani*.

REFERÊNCIAS

ALFONSI, W.M.V.; COLTRI, P.P.; ZULLO JÚNIOR, J.; PATRÍCIO, F.R.A.; ALFONSI, E.L. Período de incubação da ferrugem do cafeeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 2, p. 134 - 140, 2019.

BERALDO, J.I.; BERNARDI, N.de O.; MEURER, M.; COSTA, G.M.; ARANTES, V.P. Estudo da atividade antifúngica de extratos vegetais de *Azadirachta indica* frente a cepa padrão de *Candida albicans* ATCC 10231. **Arq. Cienc. Saúde**. v. 19, n. 1, p. 25 - 30, 2015.

CORASSA, J.D.N.; MACHINER, M.; VALLADAO, D.M.S.; ANDRIGHETTI, C.R.; WEBERLING, J.B. Effect of ethanolic extracts of plants on *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e30511223395, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.23395. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/23395>.

COSTA, C.P.; FERREIRA, M.C. Preservação de microrganismos: Revisão. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v. 3, n. 22, p. 263 - 268, 1991.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 2004. v. 2. p.480.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. Basic Plant Pathology Methods, Boca Raton, CRC Press, p. 1995, 355.

EDWARDS, J.E.; BROWN, P.N. TALENT, N.; DICKINSON, T.A.; SHIPLEY, P.R.A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. **Phytochemistry**, v. 79, p. 5 – 26, 2012. Disponível em: doi: 10.1016/j.phytochem.2012.04.006.

ESPINOSA, R.Z.; LIBÓRIO, F.H.M.; SILVA, L.I.; ZONETTI, P.C.; MANNIGEL, A.R.; FELIPE, D.F.; GONÇALVES-ZULIANI, A.M.O.; BIDO, G.S. Atividade alelopática de extrato aquoso de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden sobre alface (*Lactuca sativa* L.) e picao-preto (*Bidens pilosa* L.) **Revista Valore**, v. 4 (Edição Especial), p. 1 - 14., 2019. DOI: <https://doi.org/10.22408/rev4020193111-14>.

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

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sourcers of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology, **Marceline**, v. 31, p. 241 - 263, 1999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620379/>>.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48 - 57, 2012.

KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, v. 60, p. 969 - 979, 1970.

KLEMENT, Z.; RUDOLF, K.; SANDS, D.C. Methods in phytobacteriology, Budapest, Akademiai Kiadó, 568 p. 1990.

MACÊDO, C.G.; SOUSA, B.C.M.; FRAGA, S.S.; LOURIDO, K.A.; LUSTOSA, D.C.; SILVA, E.O.; CASTRO, K.C.F. Fitoquímica e atividade antifúngica do extrato de folhas de *Piper marginatum* no controle de fitopatógenos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 6, p. 70 - 77, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0009>.

MEDEIROS, E.V.; VIANA, M.G.; ALBUQUERQUE, C.C.; VIANA, F.A.; SILVA, K.M.B. Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 16, n. 11, p. 1166 - 1170, 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662012001100004>>.

MIORIN, J.D.; CAMPONAGARA, S.; DIAS, G.L.; SILVA, N.M.; VIERO, C.M. Percepções de agricultores sobre o impacto dos agrotóxicos para a saúde e o meio ambiente. *Revista de Enfermagem do Centro Oeste Mineiro*, v. 6, n. 3, p. 2410 - 2420, 2016.

MOURA, G.S.; JASKI, J.M.; FRANZENER, G. Potencial de extratos etanólicos de própolis e extratos aquosos de plantas espontâneas no controle de doenças pós-colheita do morango. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 5, p. 57 - 63, 30, 2016.

OLIVEIRA, M.L.B.; FRANÇA, T.A.R.; CAVALCANTE, F.S.; LIMA, R.A. O gênero *Piper* no Brasil: o estado da arte da pesquisa. **Biodiversidade**, v. 19, n. 3, 2020, p. 198.

PIMENTEL GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. 14 ed. Piracicaba: Degaspari 2000, p.477.

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

ROMEIRO, R.S. Métodos em Bacteriologia de Plantas, Editora UFV, Viçosa, MG, Brasil, 2001, p. 297.

ROMEIRO, R.S. Métodos em bacteriologia de plantas. Capítulo 8: Inoculação de bactérias fitopatogênicas em plantas. 1ª reimpressão – Viçosa. Ed. UFV, 2014, p. 64.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 300p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 50). ISSN 0101-9716.

SARTORELLI P.; MARQUIORETO A.D, AMARAL-BAROLI A.; LIMA, M.E.L.; MORENO P.R.H. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of eucalyptus. **Phytotherapy Res.** 2007, v. 21. Doi: <https://doi.org/10.1002/ptr.2051>

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

SILVA, C.T.B.; ISHIDA, A.K.N.; LEMOS, W.P.; FREIRE, A. N.R. Atividade antibacteriana de extratos de *Senna alata* L. roxb. sobre a mancha bacteriana do maracujazeiro. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 14 n. 25; p. 182, 2017.

SILVA, D.J.B.; JORGE, L.A.C. AFSOFT – Software para análise foliar. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 17. São Carlos, novembro, 2009. **Anais eletrônicos**. Local, SIIC USP, 2009. Disponível em: < <http://www.usp.br/siicusp/resumos/17Siicusp/resumos/6027.Pdf>>.

SWAMY M. K.; AKHTAR M. S.; SINIAH U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evid Based Comp Altern Med*. 2016, p. 21. Doi: <https://doi.org/10.1155/2016/3012462>

TAIZ, L.; ZEIGER, E; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. 6ª Ed., Porto Alegre, Artmed, 2017.

VASCONCELOS, C.C.; ISACKSSON, J.G.L.; SILVA, C.B.; LIMA, N.L.; CABRAL, A.; ALMEIDA, S.S.M.S.; PENA, R.C.M. Efeito do extrato foliar de *Gossypium arboreum* L. (algodão) sob o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. **Biota Amazônia**. v. 7, n. 1, p. 38 - 44, 2017.

VIEIRA JUNIOR, José Roberto. **Procariotas residentes do filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura**. 2005. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

VIGO-SCHULTZ, S.C.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; PORTZ, R.L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve-flor. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 4, p. 515 - 524, 2006.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA, H. Controle de doenças de plantas – hortaliças. Viçosa, 2000.

3.3 CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DE FOLHAS, TALOS E INFLORESCÊNCIA DE *Piper tuberculatum* E *Piper hispidum*

Resumo

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

Palavras-chave: Metabólitos; Alcaloides; Compostos fenólicos.

Abstract

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

Keyword: Metabolites; Alkaloids; Phenolic compounds.

1 INTRODUÇÃO

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

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

As espécies *Piper tuberculatum* L. e *Piper hispidum* são utilizadas como fonte de controle de fitopatógenos de interesse econômico, compostas de metabólitos secundários com funções inseticidas, nematicidas, bactericidas e/ou fungicidas (BRAGA *et al.*, 2017; SANGI *et al.*, 2018; BASTOS *et al.*, 2018).

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

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

2 METODOLOGIA

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

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

2.1 Saponinas

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

2.2 Flavonoides

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

2.3 Taninos

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

2.4 Compostos fenólicos

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

2.5 Cumarinas

Adicionou-se 2,0 mL da solução etanólica a um tubo de vidro, tampou-se com papel de filtro impregnado em solução de NaOH (10%) e levou-se a banho Maria a 100 °C por 10

min. Removeu-se o papel de filtro e examinou-se sob luz ultravioleta com 100nm de comprimento de onda. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

2.6 Antraconona

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

2.7 Antraconona: teste de Borntrager

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

2.8 Alcaloides

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

2.9 Triterpenos

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

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio dos resultados encontrados pode-se observar que as plantas estudadas apresentam diferentes constituintes em relação as espécies *P. tuberculatum* e *P. hispidum* (Quadros 1 e 2).

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

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

Fonte: Autores (2022).

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

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

Fonte: Autores (2022).

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

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

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

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

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

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

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

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

Facundo e colaboradores (2008) avaliando os constituintes químicos de talos e frutos de *Piper tuberculatum* e raízes de *P. hispidum* observaram a presença de fenilpropanóides e

sesquiterpenos, os fenilpropanóides foram encontrados em maior quantidade nas raízes de *P. hispidum* e os sesquiterpenos em talos e frutos de *P. tuberculatum*.

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

4 CONCLUSÕES

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

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

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, K.P.C.; BARROS, A.C.V.; PANTOJA, T.M.A.; CAVALCANTE, F.S.A.; LIMA, R.A. Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. **Revista gestão e sustentabilidade ambiental**. v. 8, n. 3, p. 550 - 565, 2019.
- BASTOS, J.S.F.; FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; SANGI, S.C.; OGRODOWCZYK, L.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. Potencial de controle de espécies de *Piper* sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, p. 260 - 272, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0023>.
- BRAGA, A.G.S.; BARBIERI, F.S.; BRITO, L.G.; CELESTIANO, C.O.; COSTA, T.S.; FACUNDO, V.A. Atividade pesticida de extratos de *Piper tuberculatum* Jacq sobre *Haematobia irritans* L. **Biota Amazônia**. Open Journal System, v. 7, n. 1, p. 54 – 57, 2017.
- CARDOSO, J.C.; OLIVEIRA, M.E.B.S.; CARDOSO, F.C.I. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira**. v. 37, p. 124 - 132, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190201>.
- COLLI, A.; NASCIMENTO, A.M.; XAVIER, L.M.; RUBIM, I.B. Propriedades físico-mecânicas e preservação, com boro e tanino, do *Bambusa tuldoides* (Munro). **Floresta e Ambiente**, v. 14, n. 1, p. 56 - 64, 2007.
- FACUNDO, V.A.; POLLLI, A.R.; RODRIGUES, R.V.; MILITÃO, J.S.L.T.; STABELLI, R.G.; CARDOSO, C.T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 733 - 742, 2008. doi.org/10.1590/S0044-59672008000400018.
- FERNANDES, M.; SKORONSKI, E.; TREVISAN, V.; ALVES, M. V.; ELY, C.; JOÃO, J.J. Aplicação de tanino como coagulante no reuso da água de lavagem de automóveis e a utilização do lodo na agricultura. **Revista Eletrônica do PRODEMA Fortaleza**, v. 9, n. 1, p. 06 - 16. 2015.
- FRITZEN, M.; DUTRA, R.L.; CRIVELLI, S.R.M. **Farmacognosia I**. 1 ed.. SESES. Rio de janeiro 2016.
- GARCÍA, A.Á.; CARRIL, E. PÉREZ-URRIA. Metabolismo secundário de plantas. Reduca (Biologia). **Serie Fisiología Vegetal**. v. 2, n. 3, p. 119 - 145, 2009.
- GONÇALVES, A.P.S.; LIMA, R.A. Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* Jacq. **South American Journal of Basic Education, Tachnical and Technological**. v. e, n. 2, p. 100 - 109, 2016.
- GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E.S.; QUEIROZ, G.A. 2015 *Piperaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB190>>. Acesso em 07 de dezembro de 2020.

OLIVEIRA, M.L.B.; FRANÇA, T.A.R.; CAVALCANTE, F.S.A.; LIMA, R.A. O gênero *Piper* no Brasil: o estado da arte da pesquisa. **Biodiversidade**. v. 19, n. 3, 2020, p. 198.

PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; TOFFOLI, E.; NAVA, G.A. Teor e composição química de óleo essencial de cidrô em função da sazonalidade e horário de colheita. **Horticultura Brasileira**. v. 31, 2013, p. 203 – 209.

PINTO, E.G.; LANA, A.J.D.; LIMA, R.A. Estudo fitoquímico do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ. sobre cepas de *Escherichia coli* in vitro. **South America Journal of Basic Education**, Technical and Technological, v. 3, n. 2, p. 27 - 36, 2016.

RADI, P.A.; TERRONES, M.G.H. Metabólitos secundários de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 20, n. 2, p. 18 - 22, 2007.

RIBEIRO, S.M.; BONILLA, O.H.; LUCENA, E.M.P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. Iheringia, **Série Botânica**. v. 73, n. 1, p. 31 - 38, 2018.

SANGI, S.C.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; BASTOS, J.S.F.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; OGRODOWCZYK, L.; NUNES, J.D.K.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, p. 212 - 223, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-858.2018.008.0019>.

SILVA, A.D.; KOWALSKI, L.; PAGNO, A.R.; PIANA, M. Atividade antimicrobiana de flavonoides: uma revisão de literatura. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 51 – 65, 2020.

SILVA, F.C.O.; FERREIRA, M.K.A.; SILVA, A.W.; MATOS, M.G.C.; MAGALHÃES, F.E.A.; SILVA, P.T.; BANDEIRA, P.N.; MENEZES, J.E.S.A.; SANTOS, H.S. Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, 2020.

VALOTTO, C.F.B.; SILVA, H.H.G.; CAVASIN, G.; GERIS, R.; RODRIGUES FILHO, E.; SILVA, I.G. Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno *labdano*, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44, n. 2, p. 194 - 200, 2011.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). **South African Journal of Botany**, v. 89, p. 164 – 175, 2013. Disponível em: doi: 10.1016/j.sajb.2013.06.006.

XAVIER, M.N. **Estudo da composição química, variação sazonal e atividade biológica do óleo essencial de *Cardiophyllum calophyllum***. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, 2015.

3.4 CAPÍTULO 4

EXTRATOS DE *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum* E SUA FASE ORGÂNICA NO CONTROLE DAS BACTÉRIAS *Ralstonia solanacearum* E *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* E DOS FUNGOS *Rhizoctonia solani* E *Sclerotium rolfsii*.

Resumo

Diversas espécies de plantas vêm sendo estudadas como fonte de novas biomoléculas. Neste trabalho o objetivo foi avaliar folhas, talos e inflorescências de duas espécies gênero *Piper*, *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*, no controle de *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Para a avaliação foram preparados extratos alcoólicos e a fase orgânica de cada extrato. Os testes foram realizados em placas de Petri, a atividade antifúngica e antibacteriana foi testada por meio de ensaios de antibiograma. Para isso, 10 µL dos extratos foram depositados em poços de 5mm de diâmetro em meio de cultura BDA e foram depositados no centro da placa disco micélico de 5mm de diâmetro. Para avaliação das bactérias, esta foi incorporada ao meio Kado e Heskett e discos contendo 10 µL dos tratamentos foram depositados em placa de Petri. As placas foram vedadas e acondicionadas em câmara de crescimento, a 25°C ± 2°C. Foram medidos os halos de inibição formados. Os resultados obtidos indicam maior inibição ao crescimento dos patógenos com o uso das fases orgânicas dos extratos de *P. hispidum*.

Palavras-chave: Fungo; Bactéria; Fitopatógeno; Controle.

Abstract

Several plant species have been studied as a source of new biomolecules. In this work the objective was to evaluate leaves, stems and inflorescences of two species of *Piper* genus, *Piper tuberculatum* and *Piper hispidum*, in the control of *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. For the evaluation, alcoholic extracts and the organic phase of each extract were prepared. The tests were performed in Petri dishes, the antifungal and antibacterial activity was tested by means of antibiogram assays. For this, 10 μL of extracts were deposited in 5mm diameter wells in PDA culture medium and placed in the center of the 5mm diameter mycelium disk plate. To evaluate the bacteria, they were incorporated into Kado and Heskett medium and discs containing 10 μL of the treatments were placed in a Petri dish. The plates were sealed and placed in a growth chamber at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. The inhibition halos formed were measured. The results obtained indicate greater inhibition of pathogen growth with the use of organic phases of *P. hispidum* extracts.

Keyword: Fungus; Bacterium; Phytopathogen; Control.

1 INTRODUÇÃO

Diversas espécies de plantas vêm sendo estudadas como fonte de novas biomoléculas, e o gênero *Piper* tem se mostrado promissor nesta busca. Apresentando inúmeras atividades biológicas, como agentes fitoterápicos, inseticidas, nematocidas, antibacterianas e antifúngicas (BRAGA *et al.*, 2017; SANGI *et al.*, 2018; BASTOS *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2020).

O gênero abrange arbustos, árvores, ervas, liana/volúvel/trepadeiras e subarbusto. O Brasil possui aproximadamente 290 espécies de *Piper*, distribuídas em todas as regiões do país. As espécies *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum* são conhecidas popularmente como pimenta longa e bexa nixpu (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

Essas espécies são promissoras na busca de moléculas bioativas, por possuir em sua composição alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, flavonoides, cumarinas, saponinas, triterpenos/esteroides e taninos (PINTO *et al.*, 2016; GONÇALVES e LIMA, 2016). Estes metabólitos são importantes atrativos para polinizadores, além de servirem para proteção das plantas contra herbívoros e patógenos (REZENDE *et al.*, 2016).

O controle dos fungos e bactérias é de grande importância na agricultura brasileira, uma vez que estes são causadores de doenças e responsáveis pela redução na produtividade de culturas de interesse alimentar (MICHEREFF *et al.*, 2005; ZAMBOLIM *et al.*, 2000).

No presente trabalho o objetivo foi avaliar extratos de diferentes partes das plantas *P. tuberculatum* e *P. hispidum* e sua fase orgânica contra os fungos *R. solani* e *S. rolfsii* e as bactérias *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. vesicatoria.

2 METODOLOGIA

Para o estudo de prospecção, espécies da família Piperaceae foram coletadas e identificadas. Para a identificação botânica, o material coletado foi encaminhado para o Herbário Dr. Ary Tupinambá Penna Pinheiro, Porto Velho – RO, tombadas sob os n°: 7764, 7767, *P. tuberculatum* Jacq., e *P. hispidum* S.W. respectivamente. Para o material vegetal e os fitopatógenos avaliados foi obtida permissão para pesquisa e estão cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen sob o número A613C64.

Para a obtenção dos extratos, os materiais foram colocados para secar em estufa com circulação de ar à temperatura média de 40°C durante 48 horas. Após esse período, as folhas, frutos e talos foram triturados em moinho, até obtenção de um pó fino e submetido à extração de seus compostos, na proporção de 1g do pó vegetal para 10 mL do solvente. Estes foram acondicionados em erlenmeyer e levados para agitação em Incubadora Shaker a 100 RPM (rotação por minuto) por 24 horas, em temperatura ambiente. Os extratos foram filtrados em gaze e pano de nylon de trama fina, acondicionados em recipiente de vidro e levados ao congelador até a realização dos ensaios. Metodologia adaptada de (FERRIS e ZHENG, 1999). Para os testes de antibiograma, os extratos foram diluídos em cinco concentrações (50; 25; 12,5; 6,25 e 3,12 mg/mL).

Foram preparadas como soluções controle para os fungos e bactérias os produtos comerciais: Azoxistrobina (0,6 g/L); Tiabendazol (2 mL/L) e Amoxicilina (500 ppm) (ROMEIRO, 2001; DHINGRA e SINCLAIR, 1995).

Para a obtenção da fase orgânica o material vegetal foi seco em estufa, foram adicionados 20 mL do solvente extrator, ou da mistura e solubilizado no ultrassom por 20 min. Em seguida foram adicionados 20 mL de metanol e água (4:1) (v:v) e a solução foi novamente homogeneizada no ultrassom por 10 min. Esta solução foi deixada em repouso por 30 min, para então ser filtrada em papel de filtro comum e funil de büchner, obtendo duas frações. O resíduo retido no papel de filtro comum constituído por fibras, gorduras e graxas foi desprezado. O filtrado foi concentrado a um décimo do volume em evaporador rotatório a temperatura de 70°C. Em seguida a solução foi acidificada com ácido sulfúrico concentrado, colocada em funil de separação e adicionados 10 mL de clorofórmio e agitada. O processo foi repetido por três vezes, separando a fase orgânica (terpenóides e compostos fenólicos) da básica e polar (SILVA, 2009a, apud DI STASI, 1996).

A fase orgânica foi concentrada em evaporador rotatório à temperatura de 70°C. Para os testes de antibiograma foi utilizada cinco concentrações (50; 25; 12,5; 6,25 e 3,12 mg/mL).

O teste de sensibilidade dos isolados bacterianos aos extratos foi realizado preparando-se culturas de cada bactéria fitopatogênica em meio 523 - Kado & Heskett líquido, por 24h. Adicionou-se 100 µL da cultura a 100 mL de meio 523 sólido, espalhando o inóculo com a alça de Drigalski, as placas de Petri foram vedadas e levadas à incubadora tipo BOD (KLEMENT *et al.*, 1990).

A obtenção da suspensão bacteriana foi obtida após o aparecimento das primeiras colônias, a estas foram adicionado água mineral estéril, calibrada em espectrofotômetro, tendo absorvância $A_{540\text{ nm}}$ ajustada para 1,200, que corresponde a um inóculo de $3,0 \times 10^6$ UFC/mL (ROMEIRO, 2014).

Adicionou-se 100 µL da suspensão bacteriana a 100 mL de meio 523 sólido fundente, a mistura foi vertida em placa de Petri de nove cm de diâmetro até sua completa solidificação (KLEMENT *et al.*, 1990).

Foram preparados discos de papel de 0,5 cm de diâmetro e em seguida, esterilizados. No disco estéril, foi depositada 10 µL de cada amostra. Os discos foram deixados dentro da câmara de fluxo laminar para evaporação dos solventes. Para cada bactéria fitopatogênica foram testadas quatro repetições de cada agente antimicrobiano. As placas foram mantidas em incubadora a 25°C por 24 e 48 horas, quando se avaliou a presença ou não de halos de inibição (ROMEIRO, 2001).

Para os ensaios com os fungos foi preparado meio de cultivo padrão BDA (Batata-dextrose-ágar) (DHINGRA e SINCLAIR, 1995) e este vertido em placa de Petri. Sobre o meio, um disco de micélio de 0,5 cm de diâmetro do patógeno desafiante foi depositado no centro da placa. E nas bordas da placa os poços de 0,5 cm contendo 10 µL das amostras. Foi avaliado o efeito inibitório das amostras pela quantificação da presença e tamanho de halos de inibição dos patógenos, conforme descrito em Vieira Júnior (2005).

Para quantificar o efeito inibitório dos extratos o diâmetro das colônias no sentido longitudinal e transversal (D_1 e D_2) foi utilizado para estimar a área de inibição micelial pela aproximação com a área de uma elipse:

$$A = \pi \cdot \frac{D_1}{2} \cdot \frac{D_2}{2} \quad (1)$$

Em que: A : área de crescimento micelial, D_1 : diâmetro no sentido longitudinal, D_2 : diâmetro no sentido transversal.

O efeito inibitório dos extratos sobre o crescimento micelial foi interpretado considerando delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições por

tratamento. Para inferir sobre a precisão experimental foi estimado o coeficiente de variação, conforme a notação apresentada por Pimentel Gomes (2000).

$$CV\% = \frac{100\sqrt{QMR}}{\bar{x}} \quad (2)$$

Em que: $CV\%$:coeficiente de variação experimental, QMR :quadrado médio do resíduo da análise de variância, \bar{x} :média experimental.

Para comparar as médias de tratamentos foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Genes (CRUZ *et al.*, 2004). Para os testes *in vitro* o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada extrato e para os grupos controle. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias por meio do programa AFsoft® (SILVA *et al.*, 2009b).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados dos tratamentos x *R. solani*

Para avaliar o potencial bioativo dos tratamentos com *Piper* no controle do fungo *R. solani*, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6. Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Fungicida Azoxistrobina).

FV	GL	SQ	QM	F
Concentrações	4	2128604,89	532151,22	58,15
Extratos	11	889840,41	80894,58	8,84
Conc x Extratos	44	402640,21	9150,91	6,61
Resíduo	183	253243,21	1383,84	
Total	239	3674328,73		
Média	99,32			
CV(%)	37,45			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Tabela 7. Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.

Conc.\Extratos	PTF	PTT	PTI	PHF	PHT	PHI
3	0 Bc	0 Bb	0 Bb	0 Bc	0 Bc	0 Bb
6	0 Bc	27,03Bb	49,88Bb	30,68Bc	0 Bc	0 Bb
12	69,08Bc	39,3Bb	85,9Bb	52,45Bc	25,7Bc	25,38Bb
25	117,7Cb	37,3Db	87,13Cb	110,78Cb	125Cb	32,1Db
50	214,93Ca	138,9Da	232,13Ca	242,63Ca	379,13Ba	179,88Da
Conc.\Extratos	PTF1	PTT1	PTI1	PHF1	PHT1	PHI1
3	0 Bc	0 Bb	0 Bc	104,6Ad	0 Bc	0 Bc
6	26,25Bc	0 Bb	49,85Bc	156,38Ad	0 Bc	0 Bc
12	26,1Bc	53Bb	75,73Bc	220,85Ac	67,5Bb	0 Bc
25	118,75Cb	60,08Db	202,28Bb	336,73Ab	110,2Cb	133,03Cb
50	236,18Ca	138,38Da	354,68Ba	601,33Aa	241,43Ca	286,25Ca

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo.

Dos doze tratamentos utilizados todos apresentaram efeito inibitório frente ao patógeno *R. solani*, sendo os mais eficientes as fases orgânicas e extrato bruto de folha de *Piper hispidum*.

Foi possível observar que a medida que a concentração do tratamento foi elevada, houve um aumento do controle do patógeno avaliado, tal fato pode ser melhor evidenciado no tratamento com extrato bruto de folhas de *Piper hispidum* que apresentam valores de inibição de 0, 30,68, 52,45, 110,78 e 242,63 em relação as concentrações utilizadas.

3.2 Resultados dos tratamentos x *S. rolfsii*

Para avaliar o potencial bioativo dos tratamentos com *Piper* no controle do fungo *S. rolfsii*, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8. Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Fungicida Tiabendazol).

FV	GL	SQ	QM	F
Concentrações	4	2111907,53	527976,88	48,56**
Extratos	11	1103781,92	100343,81	9,23**
Conc x Extratos	44	478333,00	10871,20	5,61**
Resíduo	183	354330,04	1936,23	
Total	239	4045279,47		
Média	197,38			
CV(%)	22,29			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Tabela 9. Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.

Conc.\Extratos	PTF	PTT	PTI	PHF	PHT	PHI
3	0 Dd	0 Dd	224,22Ac	0 Dd	56,2Cc	0 Dc
6	79,35Cc	131,77Cc	273,58Ac	150,89Cc	118,86Cb	0 Dc
12	164,99Cb	219,84Bb	328,68Ab	278,49Ab	131,11Cb	193,89Cb
25	172,28Cb	244,87Bb	321,3Ab	289,88Ab	191,52Ca	291,18Aa
50	346,92Ca	342,42Ca	495,55Aa	373,21Ca	174,29Da	337,62Ca
Conc.\Extratos	PTF1	PTT1	PTI1	PHF1	PHT1	PHI1
3	131,35Bc	72,32Cd	119,55Bd	104,98Bb	44,01Cd	0 Dc
6	146,11Cc	143,75Cc	216,97Bc	285,9Aa	108,63Cc	0 Dc
12	248,91Bb	148,31Cc	237,09Bc	293,91Aa	168,77Cb	0 Dc
25	341,14Aa	239,07Bb	309,66Ab	269,83Ba	198,65Cb	88,18Db
50	284,73Cb	324,78Ca	408,48Ba	346,78Ca	461,42Aa	165,98Da

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo.

Todos os tratamentos apresentaram efeito inibitório frente ao fungo *S. rolfsii*, sendo os mais eficientes na maior concentração o extrato bruto e a fase orgânica de inflorescência de *Piper tuberculatum* e a fase orgânica de talo de *P. hispidum*.

Observou-se que a medida que a concentração do tratamento foi elevada, houve também um aumento do controle do patógeno avaliado, tal fato pode ser evidenciado no tratamento com extrato bruto de inflorescência de *P. tuberculatum* que apresentam valores de inibição de 224,22, 273,58, 328,68, 321,3 e 495,55 em relação ao aumento das concentrações.

3.3 Resultados dos tratamentos x *R. solanacearum*

Para avaliar o potencial dos tratamentos com *Piper* no controle de *R. solanacearum*, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10. Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Antibiótico Amoxicilina).

FV	GL	SQ	QM	F
Concentrações	4	301328,39	75332,09	172,25**
Extratos	11	15251,57	1386,51	3,17**
Conc x Extratos	44	19242,57	437,33	3,81**
Resíduo	180	20660,52	114,78	
Total	239	356483,06		
Média	37,09			
CV(%)	28,88			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Tabela 11. Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.

Conc.\Extratos	PTF	PTT	PTI	PHF	PHT	PHI
3	0 Ac	0 Ac	0 Ac	0 Ad	0 Ac	0 Ad
6	0 Bc	0 Bc	0 Bc	0 Bd	0 Bc	0 Bd
12	0 Cc	0 Cc	0 Cc	45,98 Ac	28,40 Bb	28,58 Bc
25	61,69 Bb	60,64 Bb	59,53 Bb	79,18 Ab	36,61 Cb	61,94 Bb
50	88,23 Ba	98,48 Ba	76,92 Ca	115,06 Aa	69,74 Ca	92,6 Ba
Conc.\Extratos	PTF1	PTT1	PTI1	PHF1	PHT1	PHI1
3	0 Ad	0 Ac				
6	0 Bd	0 Bd	0 Bd	33,41 Ac	0 Bd	0 Bc
12	42,82 Ac	48,94 Ac	43,75 Ac	47,33 Ac	28,23 Bc	27,92 Bb
25	64,09 Bb	65,22 Bb	59,82 Bb	78,19 Ab	43,69 Cb	72,83 Aa
50	97,23 Ba	94,73 Ba	84,84 Ca	114,36 Aa	90,73 Ba	83,43 Ca

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo.

Dos tratamentos utilizados todos apresentaram efeito inibitório frente ao patógeno *R. solanacearum*, tendo como melhor tratamento a fase orgânica de folhas de *Piper hispidum* que apresentam valores de inibição de 0, 33,41, 47,33, 78,19 e 114,36 a medida em que as concentrações foram elevadas.

3.4 Resultados dos tratamentos x *X. axonopodis* pv. vesicatoria

Para avaliar o potencial bioativo dos tratamentos com *Piper* no controle da bactéria *X. axonopodis* pv. vesicatoria, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, para avaliação da existência de diferença entre os percentuais de inibição dos diferentes extratos (Tabelas 12 e 13).

Tabela 12. Resumo da análise de variância de delineamento fatorial com testemunha da avaliação da área do halo de inibição produzida por 12 extratos avaliados em 5 concentrações diferentes, em comparação com o tratamento testemunha (Antibiótico Amoxicilina).

FV	GL	SQ	QM	F
Concentrações	4	417447,14	104361,78	67,24**
Extratos	11	424280,97	38570,99	24,85**
Conc x Extratos	44	68287,84	1551,99	3,37**
Resíduo	180	82834,08	460,18	
Total	239	992850,04		
Média	64,70			
CV(%)	33,15			

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, QM: quadrado médio, F: teste F, **: significativo de acordo com o teste F a 1% de probabilidade.

Tabela 13. Agrupamento das médias das áreas do halo de inibição utilizando diferentes extratos.

Conc.\Extratos	PTF	PTT	PTI	PHF	PHT	PHI
3	0 Cd	0 Cc	0 Cc	0 Cd	0 Cc	0 Cc
6	0 Cd	0 Cc	0 Cc	54,09 Bc	0 Cc	0 Cc
12	46,35 Cc	0 Dc	0 Dc	105,34 Bb	36,31 Cb	48,43 Cb
25	76,28 Cb	41,15 Cb	60,79 Cb	111,44 Bb	62,17 Cb	69,32 Cb
50	120,4 Ca	76,91 Da	97,39 Da	115,16 Ba	136,65 Ba	94,43 Da
Conc.\Extratos	PTF1	PTT1	PTI1	PHF1	PHT1	PHI1
3	46,39 Bd	0 Cc	0 Cc	83,69 Ad	43,98 Bc	47,75 Bb
6	50,83 Bd	0 Cc	0 Cc	145,55 Ac	50,57 Bc	57,21 Bb
12	85,31 Bc	44,72 Cb	0 Dc	158,86 Ac	73,15 Bb	72,32 Bb
25	107,10 Bb	60,26 Cb	59,79 Cb	214,52 Ab	75,70 Cb	79,41 Cb
50	162,19 Ba	90,57 Da	90,79 Da	314,44 Aa	158,72 Ba	115,70 Ca

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo.

Dos doze tratamentos utilizados todos apresentaram efeito inibitório frente ao patógeno *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, sendo o mais eficiente a fase orgânica de folha de *Piper hispidum* que apresentou valores de inibição de 83,69, 145,55, 158,86, 214,52 e 314,44 em relação as concentrações utilizadas.

Pode-se verificar aumento exponencial de controle dos patógenos com o aumento da concentração dos tratamentos utilizados, bem como a diferença significativa entre os tratamentos (Figuras 6, 7, 8 e 9).

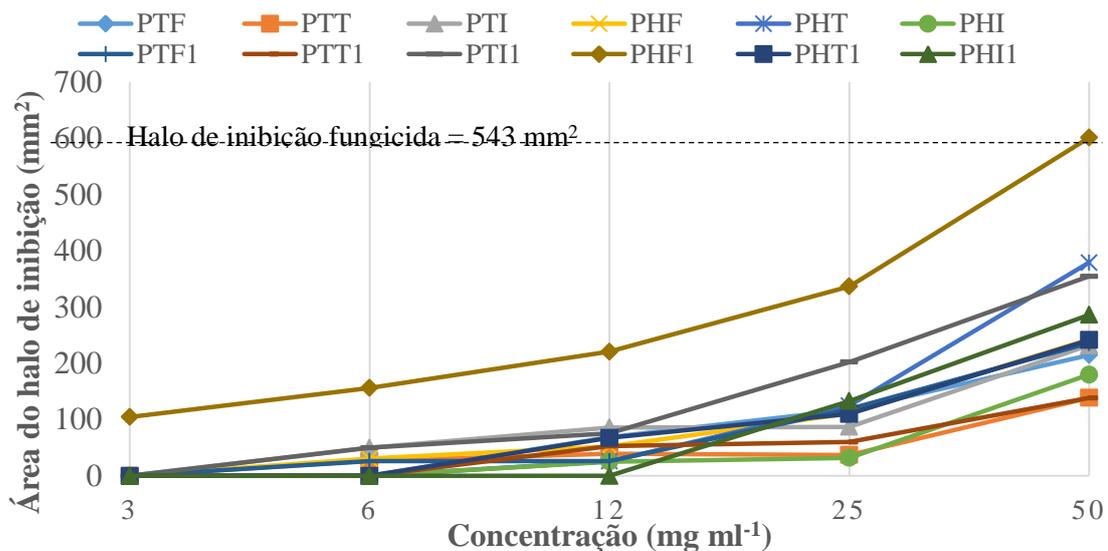


Figura 6 - Média do halo de inibição do fungo *R. solani*. Legenda: PTF: *P. tuberculatum* (Folha), PTT: *P. tuberculatum* (Talo), PTI: *P. tuberculatum* (Inflorescência), PHF: *P. hispidum* (Folha), PHT: *P. hispidum* (Talo), PHI: *P. hispidum* (Inflorescência), PTF1: *P. tuberculatum* (Folha) fase orgânica, PTT1: *P. tuberculatum* (Talo) fase orgânica, PTI1: *P. tuberculatum* (Inflorescência) fase orgânica, PHF1: *P. hispidum* (Folha) fase orgânica, PHT1: *P. hispidum* (Talo) fase orgânica, PHI1: *P. hispidum* (Inflorescência) fase orgânica.

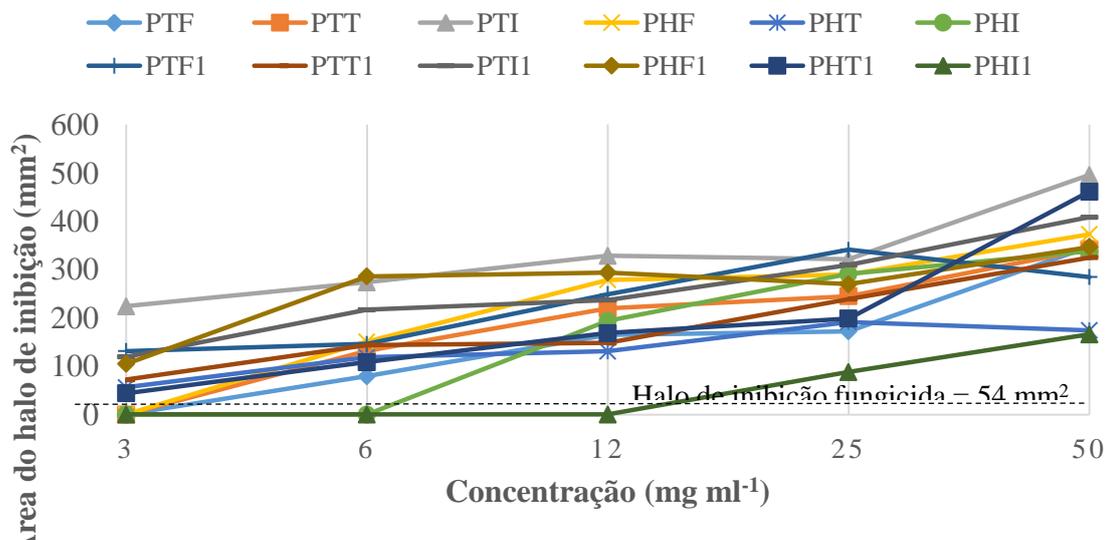


Figura 7 - Média do halo de inibição do fungo *S. rolfsii*. Legenda: PTF: *P. tuberculatum* (Folha), PTT: *P. tuberculatum* (Talo), PTI: *P. tuberculatum* (Inflorescência), PHF: *P. hispidum* (Folha), PHT: *P. hispidum* (Talo), PHI: *P. hispidum* (Inflorescência), PTF1: *P. tuberculatum* (Folha) fase orgânica, PTT1: *P. tuberculatum* (Talo) fase orgânica, PTI1: *P. tuberculatum* (Inflorescência) fase orgânica, PHF1: *P. hispidum* (Folha) fase orgânica, PHT1: *P. hispidum* (Talo) fase orgânica, PHI1: *P. hispidum* (Inflorescência) fase orgânica.

fase orgânica, PTI1: *P. tuberculatum* (Inflorescência) fase orgânica, PHF1: *P. hispidum* (Folha) fase orgânica, PHT1: *P. hispidum* (Talo) fase orgânica, PHI1: *P. hispidum* (Inflorescência) fase orgânica.

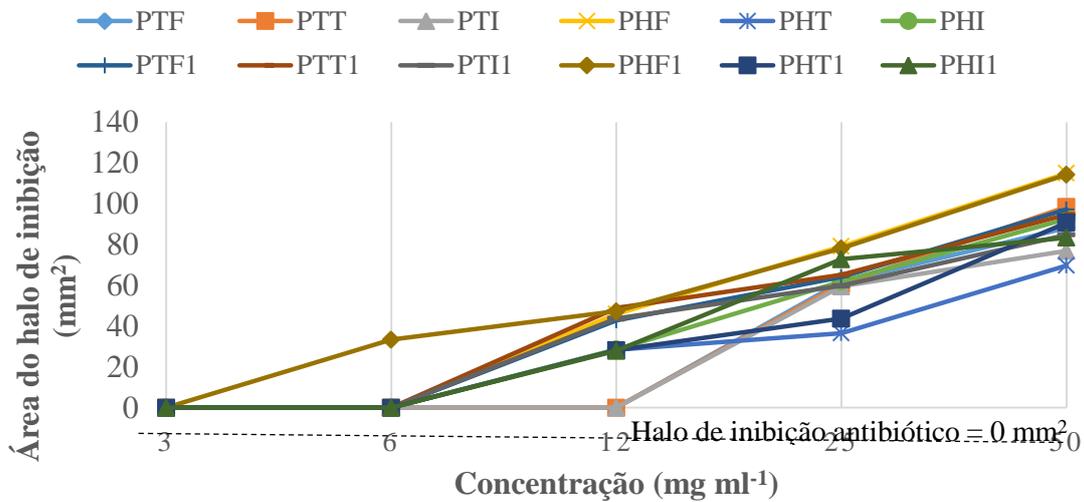


Figura 8 – Média do halo de inibição da bactéria *R. solanacearum*. Legenda: PTF: *P. tuberculatum* (Folha), PTT: *P. tuberculatum* (Talo), PTI: *P. tuberculatum* (Inflorescência), PHF: *P. hispidum* (Folha), PHT: *P. hispidum* (Talo), PHI: *P. hispidum* (Inflorescência), PTF1: *P. tuberculatum* (Folha) fase orgânica, PTT1: *P. tuberculatum* (Talo) fase orgânica, PTI1: *P. tuberculatum* (Inflorescência) fase orgânica, PHF1: *P. hispidum* (Folha) fase orgânica, PHT1: *P. hispidum* (Talo) fase orgânica, PHI1: *P. hispidum* (Inflorescência) fase orgânica.

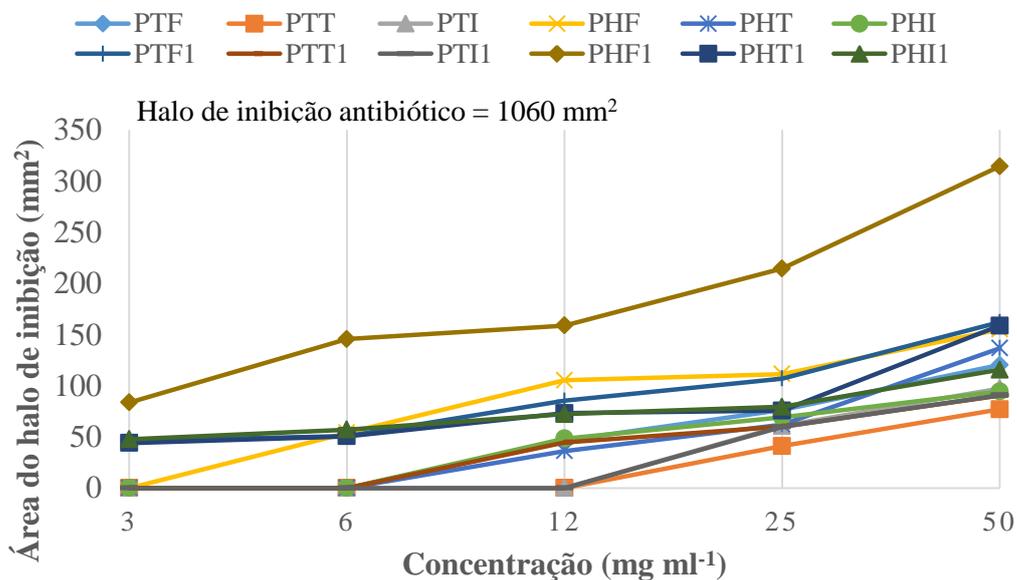


Figura 9 – Média do halo de inibição da bactéria *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*. Legenda: PTF: *P. tuberculatum* (Folha), PTT: *P. tuberculatum* (Talo), PTI: *P. tuberculatum* (Inflorescência), PHF: *P. hispidum* (Folha), PHT: *P. hispidum* (Talo), PHI: *P. hispidum* (Inflorescência), PTF1: *P. tuberculatum* (Folha) fase orgânica, PTT1: *P. tuberculatum* (Talo) fase orgânica, PTI1: *P. tuberculatum* (Inflorescência) fase orgânica, PHF1: *P. hispidum* (Folha) fase orgânica, PHT1: *P. hispidum* (Talo) fase orgânica, PHI1: *P. hispidum* (Inflorescência) fase orgânica.

Espécies de plantas do gênero *Piper* vêm sendo cada vez mais estudadas, por apresentarem substâncias com potencial biotecnológico para a agricultura (OLIVEIRA *et al.*,

2020; RODRIGUES e OLIVEIRA, 2021), em particular para atividade antimicrobiana (PINTO *et al.*, 2016; BASTOS *et al.*, 2018; MACÊDO *et al.*, 2018) e inseticida (BRAGA *et al.*, 2017; SPLETOZER *et al.*, 2021; SOARES *et al.*, 2022).

Entre os melhores tratamentos estão os provenientes da espécie *P. hispidum*, destacando-se a fase orgânica das folhas, com halo de inibição fúngico de *R. solani* superior ao controle fungicida e halo de inibição superiores aos demais em relação as bactérias *R. solanacearum* e *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*. Os melhores controles para o fungo *S. rolfsii* foram os provenientes de extrato de inflorescência de *P. tuberculatum* na concentração de 50 mg/mL e a fase orgânica de inflorescência de *P. hispidum* na mesma concentração.

A fase orgânica de extratos vegetais possui basicamente terpenóides e compostos fenólicos (SILVA, 2009a, apud DI STASI, 1996), essas substâncias estão envolvidas na defesa de plantas contra pragas e doenças (VIZZOTO *et al.*, 2010). Tornando os extratos de plantas fonte de prospecção de novas moléculas de interesse, este fato é evidenciado nos diversos trabalhos envolvendo o uso de plantas (TELAXKA *et al.*, 2018; ALMEIDA *et al.*, 2019; ALBIERO *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020; MORAIS *et al.*, 2021; SPLETOZER *et al.*, 2021; SOUSA *et al.*, 2021; SOARES *et al.*, 2022; CAMELO *et al.*, 2022).

Atividade dos tratamentos utilizando folhas, talos e inflorescência de *P. tuberculatum* e *P. hispidum* apresentadas neste trabalho provavelmente está relacionada com a constituição química das espécies, que possuem os metabólitos secundários, alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, compostos fenólicos, cumarinas e triterpenos (PINTO *et al.*, 2016; GONÇALVES e LIMA 2016; FREIRE *et al.*, 2022).

A atividade antimicrobiana dos extratos utilizados neste estudo pode ser devido aos seus componentes químicos que interagem com a membrana plasmática do patógeno, causando distúrbios estruturais, o que pode promover a exposição do conteúdo celular (BAKKALI *et al.*, 2008). Costa e colaboradores (2011) utilizando óleo de cravo da Índia sobre as hifas de fungos fitopatogênicos constataram presença de vacúolos e desorganização dos conteúdos celulares, diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação das hifas, além de menor turgescência das mesmas.

Apesar dos extratos serem provenientes da mesma planta, houve diferença no controle dos patógenos avaliados quando comparadas às partes utilizadas (folhas, talos e inflorescência). Tem-se constatado, na literatura, pesquisas *in vitro* demonstrando que diversos patógenos podem ser controlados por extratos vegetais de uma parte específica das plantas, como o controle de *Fusarium oxysporum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

por extratos de *Senna alata* (MEDEIROS *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2017) e *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. por extratos de *Annona muricata* L. (FERREIRA *et al.*, 2014).

Observou-se neste estudo, diferenças no halo de inibição de todos os fitopatógenos em virtude das concentrações de cada extrato utilizado. Os resultados de Venturoso *et al.* (2011) revelaram que o efeito do extrato de canela e de alho foi dependente das concentrações utilizadas, constatando-se maior atividade antifúngica com o aumento das concentrações.

Marcondes *et al.* (2014), avaliando a influência dos extratos aquosos de plantas no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos, relataram a redução do crescimento micelial do fungo *Fusarium moniliforme* com o aumento das concentrações dos extratos de alho, cravo da índia, orégano, pimenta-do-reino e sálvia.

Ao avaliar a ação dos extratos brutos de *Cinnamomum zeylanicum* sob dois isolados de *Quambalaria eucalypti*, Gomes *et al.* (2016) relataram que, quanto maior a concentração do extrato bruto, maior foi sua atividade antifúngica. Este efeito também foi detectado por Nascimento *et al.* (2013), ao avaliar extratos de plantas medicinais sobre o crescimento do fungo *Cercospora calendulae*.

4 CONCLUSÕES

Todos os extratos e suas fases orgânicas apresentaram efeito inibitório frente aos fitopatógenos *R. solani*, *S. rolfsii*, *R. solanacearum* e *X. axonopodis* pv. vesicatoria.

A eficiência dos extratos e suas fases orgânicas aumenta conforme o aumento da concentração dos tratamentos.

Houve diferença no controle dos patógenos avaliados quando comparadas as partes utilizadas das espécies vegetais (folhas, talos e inflorescência).

REFERENCIAS

ALBIERO, B.; FREIBERGER, G.; VANIN, A.B. Atividade inseticida e repelente de extrato e pó de sementes de *Anethum graveolens* e *Azadirachta indica* frente ao *Sitophilus zeamais*. **Scientia Plena**, v. 16, n. 4, 2020. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.047203>.

ALMEIDA, K.P.C.; BARROS, A.C.V.; PANTOJA, T.M.A.; CAVALCANTE, F.S.; LIMA, R.A. prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. **Revista Gestão e Sustentabilidade ambiental**. v. 8, n. 3, 2019. DOI: 10.19177/rgsa.v8e32019550-565.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, p. 446 - 475, 2008.

BASTOS, J.S.F.; FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; SANGI, S.C.; OGRODOWCZYK, L.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. Potencial de controle de espécies de *Piper* sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, p. 260 - 272, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0023>.

BRAGA, A.G.S.; BARBIERI, F.S.; BRITO, L.G.; CELESTIANO, C.O.; COSTA, T.S. FACUNDO, V.A. Atividade pesticida de extratos de *Piper tuberculatum* Jacq sobre *Haematobia irritans* L. **Biota Amazônia**. Open Journal System, v. 7, n. 1, p. 54 – 57, 2017.

CARAMELO, C.S.; PAZ, J.R.; FIGUEIREDO, A.M.C.; GIBBERT, L.F.; DAVID, G.Q.; EBURNEO, L.; MAGALHÃES, A.; SILVA, Z.M. Efeito do extrato pirolenhoso no desenvolvimento in vitro do *Rhizoctonia Solani* em Alta Floresta – MT. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 6, p. 48168 - 48179, 2022.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 2004. v. 2, p. 480.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240 - 245, 2011.

DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. **Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora Unesp, 1996.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic Plant Pathology Methods**, Boca Raton, CRC Press, 1995, p. 355.

FREIRE, T.C.; SANGI, S.C.; BASTOS, J.S.F.; FONSECA, A.S.; SILVA, R.R.; VIEIRA JÚNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F. Avaliação fitoquímica de folhas, caules e inflorescências de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 11, n. 7, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i7.30174.

FERREIRA, E.F.; JOSÉ, A.R.S.; BOMFIM, M.P.; PORTO, J.S.; JESUS, J.S. Uso de extratos vegetais no controle IN VITRO DO *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. coletado em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, n. 2, p. 346 - 352, 2014.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, Marceline, v. 31, p. 241 - 263, 1999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620379/>>.

GOMES, E.M.C.; PENA, R.C.M.; ALMEIDA, S.S.M.S. Composição fitoquímica e ação fungicida de extratos brutos de *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Quambalaria eucalypti*. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 4, p. 54 - 58, 2016.

GONÇALVES, A.P.S.; LIMA, R.A. Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 3 n. 2. p. 100 – 109, 2016.

GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E.S.; QUEIROZ, G.A. Piperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12790>>.

KLEMENT, Z; RUDOLF, K.; SANDS, D.C. Methods in phytobacteriology, Budapest, Akademiai Kiadó, 1990, p. 568.

MACÊDO, C.G.; SOUSA, B.C.M.; FRAGA, S.S.; LOURIDO, K.A.; LUSTOSA, D.C.; SILVA, E.O.; CASTRO, K.C.F. Fitoquímica e atividade antifúngica do extrato de folhas de *Piper marginatum* no controle de fitopatógenos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 6, p. 70 - 77, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0009>.

MARCONDES, M.M.; MARTINS MARCONDES, M.; BALDIN, I.; MAIA, A.J.; LEITE, C.D.; FARIA, C.M.D.R. Influência de diferentes extratos aquosos de plantas medicinais no desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 896 - 904, 2014.

MEDEIROS, E.V.; VIANA, M.G.; ALBUQUERQUE, C.C.; VIANA, F.A.; SILVA, K.M.B. Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 16, n. 11, p.1166 - 1170, 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662012001100004>>.

MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; PERUCH, L.A.M.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. p. 1 - 18, 2005.

MORAIS, S.M.; PINHEIRO, H.B.; REBOUÇAS-FILHO, J.V.; CAVALCANTE, G.S.; BONILLA, O.H. GÊNERO *Cryptostegia*: Fitoquímica, atividades biológicas e aplicações industriais. **Quim. Nova**, v. 44, n. 6, p. 709 - 716, 2021.

NASCIMENTO, J.M.; SERRA, A.P.; BACCHI, L.M.; GAVASSONI, W.L.; VIEIRA, M.C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 751 - 756, 2013.

OLIVEIRA, M.L.B.; FRANÇA, T.A.R.; CAVALCANTE, F.S.; LIMA, R.A. O gênero *Piper* no Brasil: O estado da arte da pesquisa. *Biodiversidade*, v. 19, n. 3, p. 198 - 210, 2020.

PEREIRA, L.A.; SANTOS, D.C.; RODRIGUES, P.F.A.; ANDRADE, E.H.A.; GUIMARÃES, E.F. Valor de uso, indicações terapêuticas e perfil farmacológico e etnofarmacológico de duas espécies do gênero *Piper* L. em uma comunidade quilombola na Amazônia Oriental Brasileira. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 7, p. 52027 – 52039, 2020.

PIMENTEL GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. 14 ed. Piracicaba: Degaspari 2000, p. 477.

PINTO, E.G.; LIMA, R.A.; LANA, A.J. Estudo fitoquímico do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ. sobre cepas de *Escherichia coli in vitro*. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 3 n. 2. p. 27 – 36, 2016.

REZENDE, F.E.M.; ROSADO, D.; MOREIRA, F.A.; CARVALHO, W.R.S. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. In: **VI Botânica no Inverno 2016** / Org. Miguel Peña H. [et al.]. – São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2016. p. 223.

RODRIGUES, D.W.; OLIVEIRA, J.A.S. Óleos essenciais de *Piper* l. (piperaceae) e sua aplicação biotecnológica na agricultura: uma revisão da literatura. *Arquivos do Mudi*, v. 25, n. 2, p. 100 - 110, 2021.

ROMEIRO, R.S. Métodos em Bacteriologia de Plantas, Editora UFV, Viçosa, MG, Brasil, 2001, p. 297.

ROMEIRO, R.S. Métodos em bacteriologia de plantas. Capítulo 8: Inoculação de bactérias fitopatogênicas em plantas. 1ª reimpressão – Viçosa. Ed. UFV, 2014, p. 64.

SANGI, S.C.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; BASTOS, J.S.F.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; OGRODOWCZYK, L.; NUNES, J.D.K.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v. 9, n. 8, p. 212 - 223, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-858.2018.008.0019>.

SILVA, C.T.B.; ISHIDA, A.K.N.; LEMOS, W.P.; FREIRE, A N.R. Atividade antibacteriana de extratos de *Senna alata* l. roxb. sobre a mancha bacteriana do maracujazeiro. *Enciclopédia Biosfera*, v. 14, n. 25; p. 182, 2017.

SILVA, D.J.B.; JORGE, L.A.C. AFSOFT – Software para análise foliar. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 17. São Carlos, novembro, 2009b. **Anais eletrônicos**. Local, SIIC USP, 2009b. Disponível em: < <http://www.usp.br/siicusp/resumos/17Siicusp/resumos/6027.Pdf>>.

SILVA, Renata Reis. **Análise exploratória do efeito do solvente na análise de metabólitos secundários das folhas de *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill por métodos quimiométricos**. 2009a. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

SOARES, W.P.; COSTA, J.N.M.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; CIPRIANI, H.N.; SOUZA, J.G.; FERNANDES, C.F. Atividade inseticida de extratos botânicos sobre a Broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). **Rama: Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 15, n. 1, p. e8064, 2022.

SOUSA, P.S.A.; RODRIGUES, M.G., SANTOS, M.S.; OLIVEIRA, W.S.; MACHADO, C.S.; VIEIRA, M.A.S., SILVA, J.O.; CARDOSO, F.; ALVARENGA, E.M. (2021). Prospecção Científica e Tecnológica do Potencial Biotecnológico da Cafeína como Agente Larvicida e Nematicida. **Cadernos De Prospecção**, v. 14, n. 3, p. 931. <https://doi.org/10.9771/cp.v14i3.36566>.

SPLETOZER, A.G.; SANTOS, C.R.; SANCHES, L.A.; GARLET, J. Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 2, p. 974 - 997, 2021. <https://doi.org/10.5902/1980509832244>.

TELAXKA, F.J.; JASKI, J.M.; SCHEFFER, D.C.; GEBAUER, J.T.; MOURA, G.S.; FRANZENER, G. Extrato aquoso e fermentado de fumo-bravo (*Solanum mauritianum* Scop) na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ao crestamento bacteriano comum. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 3, p. 81 - 90, 2018.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A.; SOUZA, F.R. Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arq. Inst. Biol.**, v. 78, n. 1, p. 89 - 95, 2011.

VIEIRA JUNIOR, José Roberto. **Procariotas residentes do filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura**. 2005. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A.C.; WEBER, G.E.B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010, p. 16 – (Embrapa Clima Temperado. **Documentos**, 316). ISSN 1516-8840.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X R.; COSTA, H. Controle de doenças de plantas – hortaliças. Viçosa, 2000.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados obtidos, podemos sugerir o potencial do gênero *Piper*, em suas diferentes espécies, como fonte de biomoléculas com atividades fungicidas e bactericidas. Podemos indicar que há variações nas constituições químicas das diferentes partes das plantas, e que são acentuadas quando são utilizadas diferentes soluções extratoras.

As espécies *Piper hispidum* e *Piper tuberculatum* são importantes fontes de moléculas a serem utilizados no controle de *H. vastatrix*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *R. solanacearum* e *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*.

O fracionamento e caracterização dos materiais mais promissores, notadamente nas classes químicas identificadas com potencial de controle dos fitopatógenos avaliados precisam ser feitos em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- 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, v. 3, 2014. Disponível em: <<http://revistas.pucsp.br/index.php/reb/article/view/17507>>.
- ANDRADE, B.S.; MATIAS, R.; CORRÊA, B.O.; OLIVEIRA, A.K.M.; GUIDOLIN, D.G. F.; ROEL, A.R. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of *Byrsonima crassifolia* on soil phytopathogen control. **Brazilian Journal of Biology**. v. 78, n. 1, p. 140 – 146, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.166532>.
- ALBUQUERQUE, J.S.; GAMA, E.; FRANÇA, L.P.; JESUS, R P. Atividade larvicida dos óleos essenciais de *Piper dilatatum* e *Piper hostmannianum* (Piperaceae) para o controle de *Aedes Aegypti* (Culicidae) em laboratório. **DêCiência em Foco**. v. 4, n. 1 p. 22 – 28.
- ARAÚJO, E.R.; HARAND, W.; LIMA, I.C.; DIAS, F.C.R.; SANTANA, A.A.D.; CARVALHO, R.R.C.; LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 2, p. 88 - 94, 2014.
- ASSI, L.; VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; MEINERZ, C.C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de pinta preta e de mancha bacteriana em tomateiro por extrato formulado de *Rosmarinus officinalis*. **Summa Phytopathol.**, v. 44, n. 4, p. 355 - 360, 2018.
- ALVARADO-CASTILLO, G.; BENÍTEZ-BADILLO, G.; LOZADA-GARCÍA, J.A.; ORTIZ-CEBALLOS, G.C.; TORRES-PELAYO, V.R. Uredospores' mycelium germination inhibition of coffee rust (*Hemileia Vastatrix*) through three alternative compounds: First study. Wulfenia. **Journal Klagenfurt.Austria**. v. 24, n. 2, 2017.
- BARDELLI, K.C.; KIRIZAWA, M.; SOUSA, A.V.G. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) da Mata Atlântica da Microbacia do Sítio Cabuçu-Proguaru, **Hoehnea**, v. 35, n. 4 p. 553 - 561, 2008.
- BASTOS, J.S.F.; FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; SANGI, S.C.; OGRODOWCZYK, L.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S.. Potencial de controle de espécies de *Piper* sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, p. 260 - 272, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0023>.
- BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085 - 1113, 2015.
- 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.
- BORGES, L.P.; AMORIM, V.A. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, p. 54 - 67, 2020.

BRAGA, A.G.S.; BARBIERI, F.S.; BRITO, L.G.; CELESTINO, C.O.; COSTA, T.S.; FACUNDO, V.A.. Atividade pesticida de extratos de *Piper tuberculatum* Jacq sobre *Haematobia irritans* L. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 1, p. 54 - 57, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n1p54-57>.

CONAB, 2022. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 9, n. 11, safra 2021/22, décimo primeiro levantamento, agosto 2022.

CORASSA, J.D.N.; MACHINER, M.; VALLADAO, D.M.S.; ANDRIGHETTI, C.R.; WEBERLING, J.B. Effect of ethanolic extracts of plants on *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e30511223395, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.23395.

COSTA, A.P.; MOURA, G.S.; GEBAUER, J.T.; FRANZENER, G. Extrato aquoso e óleo essencial de gengibre induzem mecanismos bioquímicos de defesa em feijoeiro. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n. 2, p. 79 - 86, 2019.

COSTA, R.C.; ISHIDA, A.K.N.; MIRANDA, V.S.; DAMASCENO FILHO, A.S.; SILVA, C.T. B.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, L.C. Extratos vegetais, formulações a base de extrato vegetal e produtos químicos no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 26 - 33, 2017.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. *Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

DELBONE, C.A.C.; LANDO, R.L. Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. **Congresso de Educação do Norte Pioneiro**. 10ª ed. UENP-CCNE-CLA-Campus Jacarezinho. 2010. ISSN-1808-3579.

DIGNANI, D.F. **Peperomia blanda (Piperaceae): avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante**. 2009. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, 2009.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S.D. Toxicity of essential oils of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* against *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217 - 222, 2006.

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

FERNANDES, C.F.; MORAES, V.C.P.; VASCONCELOS, I.M.; SILVEIRA, J.A.G.; OLIVEIRA, J.T.A. Induction of an anionic peroxidase in cowpea leaves by exogenous salicylic acid. **Journal of Plant Physiology**, v. 163, p. 1040 - 1048, 2006.

FONTANA, D.C.; KULCZYNSKI, S.M.; TREVISAN, R.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; PINHEIRO, M.V.M.; PRETTO, M.M.; DIEL, M.I. Uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão parda do pessegueiro. **Revista Cultivando o Saber**, v. 10, n. 2, p. 148 - 165, 2017.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Revisão. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>

GOMES, T.C.B.L. **Peperomia pelúcida L. (H.B.K.): Caracterização, desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de flavonoides**. 2011. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

GUIMARÃES, E.F.; MEDEIROS, E.V.S.S.; QUEIROZ, G.A. *Piper* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12735>>. Acesso em: 09 nov. 2022.

GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E.S.; QUEIROZ, G.A. Piperaceae in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

GOODMAN, R.N.; NOVACKY, A.J. The hypersensitive reaction in plants to pathogens. APS Press, St Paul, 1994.

GUSMÃO, D.E.; CHAVESA, P.O.; COELHO, R.M.; PEDRINHO, D.R.; Pereira, S.R.; CORRÊA, B.O. Avaliação do Efeito do Extrato Etanólico de *Piper umbellatum* L. no Controle Alternativo de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*. **Ensaios e Ciência**, v. 24, n. 5, p. 516 - 522, 2020. DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2020v24n5-esp.p516-522>.

HADDAD, F.; SARAIVA, R.M.; MIZUBUTI, E.S.G.; ROMEIRO, R.S.; MAFFIA, L.A. Antifungal compounds as a mechanism to control *Hemileia vastatrix* by antagonistic bacteria. **Tropical Plant Pathology**. v. 38 n. 5, p. 398 - 405, 2013.

HUBBARD, C.; ALVIM, A.M.; GARROD, G. Brazilian Agriculture as a Global Player L'agriculture brésilienne au plan mondial Brasilianische Landwirtschaft als 'Global Player'. Agricultural Economics Society and European Association of Agricultural Economists (EAAE). **EuroChoices**, v. 1, n. 16, p.3 - 4, 2017.

KOBAYASHI, B.F. ; AMARAL, D.R. Efeito de extratos vegetais de plantas do Cerrado para controle de pinta-preta em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 2, p. 189 - 192, 2018.

JARAMILLO, M.S.; MANOS, P.S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, n. 1, 2001.

LIMA, J.S.S.; OLIVEIRA, R.B.; ROCHA, W.; OLIVEIRA, P.C.; QUARTEZANI, W.Z. Análise espacial de atributos químicos do solo e da produção da cultura pimentado-reino (*Piper nigrum*, L.). **IDESIA**, v. 28, n. 2, p. 31 - 39, 2010.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B.A.; RODRIGUES, V.G.; GUIMARÃES, P.L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Acta Amazônica**. v. 39, n. 2, 2009, p. 377 - 382 DOI: doi.org/10.1590/S0044-59672009000200016.

MACÊDO, C.G.; SOUSA, B.C.M.; FRAGA, S.S.; LOURIDO, K.A.; LUSTOSA, D.C.; SILVA, E.O.; CASTRO, K.C.F. Fitoquímica e atividade antifúngica do extrato de folhas de *Piper marginatum* no controle de fitopatógenos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 6, p. 70 - 77, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0009>.

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

MARTINS, M.C.B.; SANTOS, C.D.G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 135 - 142, 2016.

MAZARO, S.M.; WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS, I.; CITADIN, I.; POSSENTI, J.C. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1424 - 1430, 2009.

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

NASCIMENTO, E.V.; BONILLA, O.H.; LUCENA, E.M.P.; NASCIMENTO, Y.A.P.; VIEIRA, M.I.C.; FARIAS, I.B.M.; NASCIMENTO, S.F.; LIMA, F.R.A. Ocorrências e usos da Família Piperaceae, em especial no Estado do Ceará: Revisão e nova identificação geográfica. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 183 - 205, 2022.

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

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**, 2013.

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

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. RAPP, v. 2, p. 1 - 51, 1994.

PAULIQUEVIS, C.F.; OLIVEIRA, A.K.M.; MATIAS, R.; SILVA, P.G.; ZANELLA, D. F.P.; ROEL, A.R.; PORTO, K.R. Efeito larvicida do extrato etanólico de *Piper umbellatum* sobre o mosquito *Aedes aegypti*. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 8, n. 1, p. 84 - 101, 2021.

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.

PEREIRA, R.B.; LUCAS, G.C.; PERINA, F.J.; ALVES, E. Essential oils for rust control on coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 36, n. 1, p. 16-24, 2012. DOI:10.1590/S1413-70542012000100002.

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

PIMENTEL, C.S.L.; ALBUQUERQUE, B.N.L.; ROCHA, S.K.L.; SILVA, A.S.; SILVA, A. B.V.; BELLON, R.; AGRA-NETO, A.C.; AGUIAR, J.C.R.O.F.; PAIVA, P.M.G.; PRINCIVAL, J.L.; NAPOLEÃO, T.H.; NAVARRO, D.M.A.F. Insecticidal activity of the essential oil of *Piper corcovadensis* leaves and its major compound (1-butyl-3,4-methylenedioxybenzene) against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Pest Manag Sci.**; v. 78, p. 1008 – 1017, 2022. DOI 10.1002/ps.6712.

PINTO, Â.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, supl.1, p. 45 - 61, 2002.

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**, n. 11, 2014.

RAMALLO, I.A.; SALAZAR, M.O.; MENDEZ, L.; FURLAN, R.L.E. Chemically engineered extracts: Source of bioactive compounds. **Accounts of Chemical Research**, v. 44, n. 4, p. 241 - 250, 2011.

SAN, T.M.; VEJAYAN, J.; SHANMUGAN, K.; IBRAHIM, H. Screening antimicrobial activity of venoms from snakes commonly found in Malaysia. **Journal of Applied Sciences**, v. 10, n. 19, p. 2328 - 2332, 2010.

SANGI, S.C.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; BASTOS, J.S.F.; FONSECA, A.S.; FREIRE, T.C.; OGRODOWCZYK, L.; NUNES, J.D.K.; OLIVEIRA, K.C.C.; ROCHA, R.B.; BARBIERI, F.S. (2018). Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-858.2018.008.0019>.

SANTANA, H.T. **Estudo fitoquímico de *Piper alatabaccum* Trel & Yunck, 1950 e avaliação da atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: culicidae) em condições de campo simulado**. 2012. 90p. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, RO, 2012.

SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; FERNANDES, C.F.; SILVA, A.G.; FACUNDO, V.A. Atividade fungicida do óleo essencial de *Piper marginatum* L. (Piperaceae) sobre *Fusarium oxysporum* (Schlecht) *in vitro*. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 9 - 14, 2011.

SANTOS, M.R.A.; 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 de Botânica**, v. 33, n. 2, p. 319 - 324, 2010.

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*. **Fitopatologia Brasileira**, 2007.

SILVA, E.M.J.; MACHADO, S.R. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 22, p. 117 - 24. 1999.

SILVA, C.T.B.; ISHIDA, A.K.N.; LEMOS, W.P.; FREIRE, A.N.R. Atividade antibacteriana de extratos de *Senna alata* L. roxb. sobre a mancha bacteriana do maracujazeiro. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 14 n. 25, p. 182, 2017.

SILVA, J.L.; SOUZA, P.E.; MONTEIRO, F.P.; FREITAS, M.L.O.; SILVA JÚNIOR, M.B.; BELAN, L.L. Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 539 - 544, 2014.

SOARES, W.P.; COSTA, J.N.M.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; CIPRIANI, H.N.; SOUZA, J.G.; FERNANDES, C.F. Atividade inseticida de extratos botânicos sobre a Broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 15, n. 1, 2022.

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

SOUZA, L.A.; ALBIERO, A.L.M.; ALMEIDA, O.J.G.; LOPES, W.A.L.; MOURÃO, K.S.M.; MOSCHETA, I.S. Estudo Morfo-anatômico da Folha e do Caule de *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 28 n. 1, p. 103 – 107, 2009.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant physiology. 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: Fisiologia vegetal. 4ª ed., 820 p. 2009.

THE PLANT LIST, The Plant List is a working list of all known plant species. Version 1.1, released in September, 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org>>.

VAN LOON, L.C.; VAN KAMMEN, A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var ‘Samsun’ and ‘Samsun NN’. Changes in protein constitution after infection with TMV. **Virology**. v. 40, p. 199 - 211, 1970.

VEGRO, C.L.R.; FERREIRA, C.R.R.P.T. Evolução das despesas com defensivos agrícolas e fertilizantes para a safra de café 200/01 nos estados de São Paulo e Paraná. Informações Econômicas. 2000. Porto Velho, RO.

VILAMIL, E.S.; DEMOSTHENES, L.C.R.; CANIATO, F.F.; BENTES, J.L.S.; COSTA NETO, P.Q. (2021). Efeito do extrato vegetal de *Piper callosum* sp. *in vitro* sobre

Colletotrichum sp. Agente etiológico da antracnose do pimentão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7 n. 3. DOI:10.34117/bjdv7n3-462.

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

ZACARONI, L.M.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; PIMENTEL, F.A.; GUIMARÃES, L.G.L.; SALGADO, A.P.S.P. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 1, p. 193 - 198, 2009.

ANEXOS**Avaliação fitoquímica de folhas, talos e inflorescência de *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum***Phytochemical evaluation of leaves, stems and inflorescences of *Piper tuberculatum* e *Piper hispidum*Evaluación fitoquímica de hojas, tallos e inflorescencias de *Piper tuberculatum* y *Piper hispidum*

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

Tamiris Chaves FreireORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8938-3751>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: tamirischavesfreire@gmail.com**Simone Carvalho Sangi**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7365-015X>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: simonecarvalhosangi@gmail.com**Jessica Silva Félix Bastos**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8009-979X>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: jessicafelixbio@gmail.com**Aline Souza da Fonseca**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4019-3412>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: alinesouzadafonseca@gmail.com**Renata Reis da Silva**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0600-2691>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: renata.reis@embrapa.br**José Roberto Vieira Junior**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7939-8119>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: jose-roberto.vieira@embrapa.br**Cléberon de Freitas Fernandes**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5269-1139>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: cleberon.fernandes@embrapa.br**Resumo**

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

Palavras-chave: Metabólitos; Alcaloides; Compostos fenólicos.

Abstract

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

Keyword: Metabolites; Alkaloids; Phenolic compounds.

Resumen

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

Palabras clave: Metabolitos; Alcaloides; Compuestos fenólicos.

1. Introdução

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

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

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

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

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

2. Metodologia

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

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

2.1 Saponinas

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

2.2 Flavonoides

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

2.3 Taninos

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

2.4 Compostos fenólicos

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

2.5 Cumarinas

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

2.6 Antracnona

Em um tubo de ensaio foram adicionados 200 mg da planta em pó e 1 mL de solução de NH₄OH (10%), agitou-se vigorosamente por 2 min., adicionou-se mais 1 mL de solução de NaOH (10%). A coloração rósea indica presença deste metabólito secundário.

2.7 Antracnona: teste de Borntrager

Em 100 mg de planta em pó adicionou-se 5 mL de clorofórmio, a mistura foi filtrada. Forma adicionados 2 mL do filtrado com 2 mL de NH₄OH (10%). Uma cor rosa brilhante confirma sua presença.

2.8 Alcaloides

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

2.9 Triterpenos

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

3. Resultados e Discussão

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

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

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

Fonte: Autores (2022).

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

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

Fonte: Autores (2022).

(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30174>

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4. Conclusão

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

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

Agradecimentos

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

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

UNIR – Universidade Federal de Rondônia.

Referências

- Almeida, K. P. C., Barros, A. C. V., Pantoja, T. M. A., Cavalcante, F. S. A. & Lima, R. A. (2019) Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *Revista gestão e sustentabilidade ambiental*. 8(3), 550-565
- Bastos, J. S. F., Fernandes, C. F., Vieira Junior, J. R., Fonseca, A. S., Freire, T. C., Sangi, S. C., Ogródowczyk, L., Oliveira, K. C. C., Rocha, R. B. & Barbieri, F. S. (2017) Potencial de controle de espécies de Piper sobre fungos fitopatogênicos. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 9(8), 260- 272 <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0023>
- Braga, A. G. S., Barbieri, F. S., Brito, L. G., Celestiano, C. O., Costa, T. S. & Facundo, V. A. (2017) Atividade pesticida de extratos de *Piper tuberculatum* Jacq sobre *Haematobia irritans* L. *Biota Amazônia*. Open Journal System. 7(1), 54 – 57.
- Cardoso, J. C., Oliveira, M. E. B. S. & Cardoso, F. C. I. 2019. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira* 37: 124-132. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190201>.
- Colli, A., Nascimento, A. M., Xavier, L. M. & Rubim, I. B. (2007) Propriedades físico-mecânicas e preservação, com boro e tanino, do Bambusa tuldoides (Munro). *Floresta e Ambiente*, 14(1), 56 – 64.
- Facundo, V. A., Polli, A. R., Rodrigues, R. V., Militão, J. S. L. T., Stabelli, R. G. & Cardoso, C. T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amazonica*, 38(4), 733-742, 2008. doi.org/10.1590/S0044-59672008000400018.
- Fernandes, M., Skoronski, E., Trevisan, V., Alves, M. V., Ely, C. & João, J. J. (2015) Aplicação de tanino como coagulante no reuso da água de lavagem de automóveis e a utilização do lodo na agricultura. *Revista Eletrônica do PRODEMA Fortaleza*, Brasil, 9(1), 06-16.
- Fritzen, M., Dutra, R. L. & Crivelli, S. R. M. Farmacognosia I. SESES. 2016.
- García, A. Á. & Carril, E. Pérez-Urria. (2009) Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2(3), 119-145.
- Gonçalves, A. P. S. & Lima, R. A. (2016) Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* Jacq. *South American Journal of Basic Education*, Technical and Technological. (2), 100-109
- Guimarães, E. F., Carvalho-Silva, M., Monteiro, D., Medeiros, E. S. & Queiroz, G. A. 2015 *Piperaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB190>>.
- Oliveira, M. L. B., França, T. A. R., Cavalcante, F. S. A. & Lima, R. A. (2020) O gênero Piper no Brasil: o estado da arte da pesquisa. *Biodiversidade*. 19(3), 198.
- Paulus, D., Valmorbidia, R., Toffoli, E. & Nava, G. A. 2013. Teor e composição química de óleo essencial de cidrô em função da sazonalidade e horário de colheita. *Horticultura Brasileira* 31: 203-209.
- Pinto, E. G., Lana, A. J. D. & Lima, R. A. (2016) Estudo fitoquímico do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ. sobre cepas de *Escherichia coli* in vitro. *South America Journal of Basic Education*, Technical and Technological, 3(2), 27-36.
- Radi, P. A. & Terrones, M. G. H. (2007) Metabólitos secundários de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmácia*, 20(2), 18-22.
- Ribeiro, S. M., Bonilla, O. H. & Lucena, E. M. P. (2018) Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. Iheringia, *Série Botânica*, 73 (1): 31-38.
- Sangi, S. C., Vieira Junior, J. R., Fernandes, C. F., Bastos, J. S. F., Fonseca, A. S., Freire, T. C., Ogródowczyk, L., Nunes, J. D. K., Oliveira, K. C. C., Rocha, R. B. & Barbieri, F. S. (2018) Extratos de Piper no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. *Revista Ibero- Americana de Ciências Ambientais*, 9(8), 212-223, <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-858.2018.008.0019>.
- Silva, A. D., Kowalski, L., Pagno, A. R. & Piana, M. (2020) Atividade antimicrobiana de flavonoides: uma revisão de literatura. *Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas*, 4(1), 51-65.
- Silva, F. C. O., Ferreira, M. K. A., Silva, A. W., Matos, M. G. C., Magalhães, F. E. A., Silva, P. T., Bandeira, P. N., Menezes, J. E. S. A. & Santos, H. S. (2020) Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. *Revista Virtual de Química*, 12(1)
- Valotto, C. F. B., Silva, H. H. G., Cavasin, G., Geris, R., Rodrigues Filho, E. & Silva, I. G. (2011) Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno labdano, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 44(2), 194-200.
- Wink, M. (2013) Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 89, 164–175 [10.1016/j.sajb.2013.06.006](http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.006).
- Xavier, M. N. Estudo da composição química, variação sazonal e atividade biológica do óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum*. *Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde*, 2015.