



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO - IF GOIANO
CÂMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROQUÍMICA**



VALDENIR PEREIRA MORAIS

**EXTRATOS ATIVOS DE *PIPER ADUNCUM L.*, SOBRE OS
FUNGOS *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM (LIB.) DE BARRY*,
COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES (PENZ.) SACC. E
RHIZOPUS STOLONIFER (EHRENB. FR.) VUILL., TESTE *IN VITRO*
E *IN VIVO* EM SOJA**

**RIO VERDE – GO
Fevereiro De 2023**



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO - IF GOIANO
CÂMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROQUÍMICA**



**EXTRATOS ATIVOS DE *PIPER ADUNCUM L.*, SOBRE OS
FUNGOS *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM (LIB.) DE BARRY*,
COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES (PENZ.) SACC. E
RHIZOPUS STOLONIFER (EHRENB. FR.) VUILL., TESTE *IN VITRO*
E IN VIVO EM SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA - Área de concentração Agroquímica..

Mestrando: Valdenir Pereira Morais

Orientadora: Prof. Dra. Cassia Cristina Alves

Co-orientador: Dr. Mayker Lazaro Dantas

RIO VERDE – GO

Fevereiro De 2023

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- Tese (doutorado)
 Artigo científico
 Dissertação (mestrado)
 Capítulo de livro
 Monografia (especialização)
 Livro
 TCC (graduação)
 Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

VALDENIR PEREIRA MORAIS

Matrícula:

2021103310310023

Título do trabalho:

EXTRATOS ATIVOS DE *PIPER ADUNCUM* L., SOBRE OS FUNGOS *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) DE BARRY, *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES* (PENZ.) SACC. E *RHIZOPUS STOLONIFER* (EHRENB. FR.) VUILL., TESTE IN VITRO E IN VIVO EM SOJA

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

• Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;

• Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;

• Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, GO

Local

24 / 04 / 2023

Data

Valdenir Pereira Moraes

AUTOR: VALDENIR PEREIRA MORAIS

Ciente e de acordo:

Cassia C. F. Alves

ORIENTORA: DRA. CASSIA CRISTINA ALVES

FIXA CATALOGRÁFICA

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

MM827e MORAIS, VALDENIR PEREIRA MORAIS
EXTRATOS ATIVOS DE PIPER ADUNCUM L., SOBRE OS
FUNGOS SCLEROTINIA SCLEROTIORUM (LIB.) DE BARRY,
COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES (PENZ.) SACC. E
RHIZOPUS STOLONIFER (EHRENB. FR.) VUILL., TESTE IN
VITRO E IN VIVO EM SOJA. / VALDENIR PEREIRA MORAIS
MORAIS; orientadora Cassia Cristina Fernandes
Alves; co-orientadora Mayker Lazaro Dantas Miranda.
-- Rio Verde, 2023.
80 p.

Dissertação (Mestrado em MESTRADO EM AGROQUÍMICA) -
- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2023.

1. PRODUTOS NATURAIS. 2. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.
3. FITOQUÍMICA . 4. FITOPATOGENO. I. Cristina
Fernandes Alves, Cassia , orient. II. Lazaro Dantas
Miranda, Mayker , co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 nº2376



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 14/2023 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
ATA Nº/93
BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos vinte e cinco dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e três, às 09h00min (nove horas), reuniram-se os componentes da banca examinadora em sessão pública realizada por videoconferência, para procederem a avaliação da defesa de Dissertação, em nível de mestrado, de autoria de **VALDENIR PEREIRA MORAIS**, discente do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pela presidente da Banca Examinadora, Prof.^a Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida ao autor para, em 30 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o examinado, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, e procedidas às correções recomendadas, a Dissertação foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE (a) NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**, na área de concentração em Agroquímica, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGAq da versão definitiva da Dissertação, com as devidas correções. Assim sendo, a defesa perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60 (sessenta) dias** da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa dissertação em periódicos após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado, e para constar, foi lavrada a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada eletronicamente pelos membros da Banca Examinadora.

Membros da Banca Examinadora

Nome	Instituição	Situação no Programa
Cassia Cristina Fernandes Alves	IF Goiano - Campus Rio Verde	Presidente
Hilton Costa Louzeiro	Universidade Federal do Maranhão - Campus Pinheiro	Membro externo
Elizabeth Aparecida Josefi da Silva	Conselho Escolar CEPMG - Sebastião do Vale	Membro externo



Documento assinado eletronicamente por:

- Hilton Costa Louzeiro, Hilton Costa Louzeiro - Professor Avaliador de Banca - Ufma (06279103000119), em 26/02/2023 00:08:47.
- Elizabeth Aparecida Josefi da Silva, 2014102200240522 - Discente, em 25/02/2023 11:19:07.
- Cassia Cristina Fernandes Alves, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 25/02/2023 11:01:49.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 24/02/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 469591

Código de Autenticação: 2913d0a957



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 14/2023 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

EXTRATOS ATIVOS DE PIPER ADUNCUM L., SOBRE OS FUNGOS SCLEROTINIA SCLEROTIORUM (LIB.) DE BARRY, COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES (PENZ.) SACC. E RHIZOPUS STOLONIFER (EHRENB. FR.) VUILL., TESTE IN VITRO E IN VIVO EM SOJA.

Autor: Valdenir Pereira Morais
 Orientadora: Cassia Cristina Fernandes Alves

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica - Área de Concentração Agroquímica

APROVADA em 25 de fevereiro de 2023.

Prof. Dr. Hilton Costa Louzeiro
 Avaliador externo - Universidade
 Federal do Maranhão

Prof.^a Dr.^a Elizabeth Aparecida
 Josefi da Silva
 Avaliadora externa - Conselho
 Escolar CEPMG Sebastião do Vale

Prof.^a Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves
 Presidente da Banca - IF Goiano / Campus Rio Verde

Documento assinado eletronicamente por:

- Elizabeth Aparecida Josefi da Silva, 2014102200240522 - Discente, em 06/03/2023 16:47:57.
- Hilton Costa Louzeiro, Hilton Costa Louzeiro - Professor Avaliador de Banca - Ufma (06279103000119), em 25/02/2023 11:29:24.
- Cassia Cristina Fernandes Alves, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 25/02/2023 11:07:24.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 24/02/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 469595
 Código de Autenticação: a798099653



Até aqui me ajudou o Senhor.

AGRADECIMENTOS

À minha família: Meus avós Aldenora Andreлина da Silva e Pedro Alves Pereira, a minha mãe Lucilene da Silva Pereira e aos meus irmãos Débora Pereira Morais e Idenilson Pereira Morais por sempre me apoiarem e confiarem em mim.

À minha orientadora Cassia Cristina Alves, pela oportunidade, confiança, carinho e por toda dedicação. Ao meu coorientador Mayker Lazaro Dantas pela disponibilidade e atenção.

Ao programa de Programa de Pós-Graduação Agroquímica (PPGAq). Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano - IF Goiano. Muito obrigado!

Agradeço também, as instituições de ensino superior e as agências fomento e pesquisa:

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás – FAPEG. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Ao Polo Inovação da Empresa Brasileira de Pesquisa e Inovação Industrial - EMBRAPPII do IF Goiano da pela concessão de bolsas e recursos que me serviram de estímulo para continuar na pesquisa científica.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Valdenir Pereira Morais, nasceu em 1994, na cidade maranhense de São Vicente Férrer, concluiu o ensino médio na escola ludovicense C. E. Profª. Margarida Pires Leal. Possui formação técnica em Mineração pelo Instituto Tecnológico Ruy Barbosa - ITERB (2018), Graduou-se em Tecnologia em Gestão Comercial pela Faculdade Estácio (2021), no mesmo ano concluiu o Bacharelado em Agronomia pelo Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Possui Pós-Graduação (*Latu-sensu*) em Agronomia pela Faculdade Dom Alberto (2021). No mesmo ano ingressou no Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Agroquímica pelo Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, sob orientação da Professora Doutora Cassia Cristina Alves na linha de pesquisa Agroquímica.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Metabólitos secundários.....	2
2.2. Extratos vegetais	4
2.3. <i>Piper aduncum L.</i>	6
2.4. Atividades biológicas de <i>Piper aduncum L.</i>	7
2.5. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Barry.....	11
2.6. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Sacc.	13
2.7. <i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb. Fr.) Vuill.....	14
2.8. <i>Glycine max.</i>	16
3. REFERÊNCIAS.....	18
4. OBJETIVOS	26
4.1. OBJETIVO GERAL	26
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
5. CAPÍTULO I: UMA ATUALIZAÇÃO SOBRE <i>PIPER ADUNCUM L.</i> , SEUS METABÓLITOS BIOATIVOS E SEU POTENCIAL PARA DESENVOLVER BIOPRODUTOS 27	
5.1. INTRODUÇÃO	29
5.2. O gênero <i>Piper</i>	30
5.3. A família <i>Piperaceae</i>	31
5.4. Estudos etnobotânicos e usos medicinais de <i>P. aduncum</i>	32
5.5. Atividades biológicas de extratos de <i>P. aduncum</i> e seus constituintes químicos	33
5.6. Atividades biológicas de OEs de <i>P. aduncum</i> e seus constituintes químicos	41
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIAS.....	45
8. CAPÍTULO II: EXTRATOS DE <i>PIPER ADUNCUM L.</i> NO CONTROLE ALTERNATIVO <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> DE FITOPATÓGENOS DE INTERESSE AGRONÔMICO	49
RESUMO	49
ABSTRACT.....	50
8.1. INTRODUÇÃO	51
9. MATERIAL E MÉTODOS	52
9.1. Material vegetal.....	52
9.2. Preparação dos extratos hexânicos.....	52
9.3. Identificação dos constituintes voláteis dos extratos hexânicos.....	52
9.4. Cepas fúngicas	53
9.5. Atividade antifúngica de EH-FO e EH-IN <i>in vitro</i> pelo método da difusão do disco.....	53
9.6. Atividade antifúngica de EH-FO e EH-IN <i>in vitro</i> no testa da folha destacada.....	54
9.7. Delineamento e Estatística dos Testes <i>in vitro</i>	54

9.8.	Teste antifúngico <i>in vivo</i> em plantas de soja.....	55
9.9.	Análise estatística dos testes <i>in vivo</i>	55
10.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
11.	CONCLUSÃO	62
12.	AGRADECIMENTOS.....	62
13.	REFERÊNCIAS	63
14.	CONCLUSÃO GERAL.....	65
15.	ANEXOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Foto da <i>Piper aduncum</i> (Fonte: Próprio Autor)	6
Figura 2: <i>Piper aduncum</i> L. (Piperaceae)	30
Figura 3: Constituintes químicos isolados de <i>P. aduncum</i> :	36
Figura 3: (Continuação). Constituintes químicos isolados de <i>P. aduncum</i> :.....	38
Figura 4. Principais constituintes químicos encontrados nos OEs de <i>P. aduncum</i> L.	43
Figura 5. Folhas de soja no teste da folha destacada com aplicação dos extratos mais ativos 5 dias após inculadas com o fungo do mofo branco. 1: folha sem tratamento. 2: folha pulverizada com EH-IN na concentração C2. 3: folha pulverizada com EH-IN na concentração C1.	60
Figura 6. Plantas de soja acometidas com inóculo do fungo <i>S. sclerotiorum</i> nos tramentos: testemunha (a esquerda) e concentração C1 (a direita) de EH-IN.	61

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Constituintes voláteis identificados (EH-FO) e de *Piper aduncum* (EH-IN)...56

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1: Atividades biológicas <i>P. aduncum</i> contra diferentes fungos comprovadas através de estudos científicos em laboratórios.....	8
Quadro 2: Compostos ativos isolados de folhas, frutos e galhos de <i>Piper aduncum</i> L., com atividade antifúngica em estudos científicos.....	9
Quadro 3: Etiologia, sobrevivência e disseminação do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . .	13
_Toc131720772 Quadro 4: Etiologia, sobrevivência e disseminação do fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	14
Quadro 5: Etiologia, sobrevivência e disseminação do fungo <i>Rhizopus stolonifer</i>	15
Quadro 6: Atividades biológicas já descritas para <i>P. aduncum</i>	39
Quadro 7. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de EH-FO e EH-IN contra <i>S. sclerotiorum</i> pelo teste da folha destacada.....	59
Quadro 8. Atividade inibitória in vivo de EH-FO e EH-IN contra <i>S. sclerotiorum</i> em plantas de soja.....	60

ÍNDICE DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

% - Porcentagem

°C – Graus Celsius

BDA - Batata dextrose ágar

CG – EM Cromatografia gasosa - acoplada à espectrometria de massas

CGL - *C. gloeosporioides*

EH - Extrato hexânico

EV - Extrato Vegetal

FO – Folhas

g – Grama

g/mL – Gramas por mililitros

ICM - Inibição do Crescimento Micelial

IN – Inluorescências

Kg - Quilograma

m – Metros

mL – Mililitros

mm - Milímetros

N-P-K – Nitrogênio, Potássio e Fósforo

OE - Óleo essencial

ppm- Parte por milhão

RST- *R. Stolonifer*

SSC- *S. Sclerotiorum*

µL – Microlitros

RESUMO

MORAIS, VALDENIR PEREIRA. **Extratos ativos de *Piper aduncum* L., sobre os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill teste *in vitro* e *in vivo* em soja.** 2023. Dissertação apresentada ao Instituto Federal Educação Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica para a obtenção do título de Mestre em Agroquímica.

Agroquímicos à base de metabólitos secundários de plantas, como os extratos vegetais, são uma alternativa para o controle de fungos de importância agrônômica, por serem menos tóxicos, biodegradáveis, mais seguros ao meio ambiente. A *Piper aduncum* é uma planta de regiões tropicais pertencente à família Piperaceae com importantes atividades biológicas contra insetos, bactérias e fungos. Nesse contexto, objetivou-se com este trabalho avaliar a atividade antifúngica de extratos hexânicos das folhas e inflorescência de *Piper aduncum* sobre os fungos agrícolas *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus stolonifer*, determinar a composição química dos extratos e testar a atividade fúngica na cultura da soja. Os compostos majoritários identificados no extrato hexânico das folhas foram: germacreno B (33.1%), valenceno (14.5%), β -cadineno (9.1%), α -humuleno (8.1%) e β -cubebeno (6.5%). No extrato da inflorescências os compostos predominantes foram: viridiflorol (20.5%), espatulenol (15.2%), germacreno B (9.7%), α -cubebeno (8.2%) e valenceno (6.4%). A atividade antifúngica *in vitro* demonstrou que o extrato hexânico das flores apresentou maior atividade antifúngica com os fungos estudados. Nos teste *in vivo* com as concentrações mais ativas pode-se concluir que a *Piper aduncum* em especial o extrato das inflorescências, tem potencial para utilização no manejo integrado de doenças na soja, reduzindo a severidade da doença mofo branco, provavelmente se tiverem seus compostos majoritários isolados.

PALAVRAS-CHAVE: Produtos Naturais, Metabólitos Secundários, Fitoquímica, Fitopatogeno.

ABSTRACT

MORALS, VALDENIR PEREIRA. Active extracts of *Piper aduncum* L., on the fungi *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill test in vitro and in vivo in soybean. 2023. Dissertation presented to the Federal Institute of Education Science and Technology Goiano – Campus Rio Verde – GO, as part of the requirements of the Graduate Program in Agrochemistry to obtain the title of Master in Agrochemistry.

Agrochemicals based on secondary plant metabolites, such as plant extracts, are an alternative for controlling fungi of agronomic importance, as they are less toxic, biodegradable, and safer for the environment. *Piper aduncum* is a tropical plant belonging to the Piperaceae family with important biological activities against insects, bacteria and fungi. In this context, the objective of this work was to evaluate the antifungal activity of hexane extracts from the leaves and inflorescences of *Piper aduncum* on the agricultural fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer*, to determine the chemical composition of the extracts and to test the fungal activity in the culture of soy. The major compounds identified in the hexane leaf extract were: germacrene B (33.1%), valencene (14.5%), β -cadinene (9.1%), α -humulene (8.1%) and β -cubebene (6.5%). In the inflorescence extract the predominant compounds were: viridiflorol (20.5%), spathulenol (15.2%), germacrene B (9.7%), α -cubebene (8.2%) and valencene (6.4%). The in vitro antifungal activity demonstrated that the hexane extract of the flowers showed greater antifungal activity with the studied fungi. In vivo tests with the most active concentrations, it can be concluded that *Piper aduncum*, in particular the extract of the inflorescences, has potential for use in the integrated management of diseases in soybeans, reducing the severity of the white mold disease, probably if its major compounds are isolated.

KEYWORDS: Natural Products, Secondary Metabolites, Phytochemistry, Phytopathogen

1. INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de químicos sintéticos na agricultura levam a poluição ambiental, acúmulo de xenobióticos e toxicidade para organismos não-alvo. Gerando preocupação no meio científico que tem buscado alternativas mais seguras e viáveis. Agroquímicos à base de plantas podem ser menos tóxicos, biodegradáveis, mais seguros ao meio ambiente e com capacidade de proteger culturas do ataque de patógenos (LIMA, et al., 2020). Agroquímicos estes alternativos como os óleos essenciais e os extratos botânicos.

Extratos vegetais e óleos essenciais são produtos naturais extraídos de plantas com propriedades variadas, decorrentes do metabolismo secundário (CARDOSO et al., 2022). Muitos deles não são tóxicos para a saúde humana e ao meio ambiente (DÍAZ-TIELAS et al., 2016), logo, têm se tornado uma alternativa para os diversos produtos sintéticos com a mesma função. Diversas pesquisas estão sendo desenvolvidas para explorar a composição química, a eficiência e a aplicabilidade destes produtos. Sob essa perspectiva, a planta *Piper aduncum* L., se enquadra como uma planta com importantes propriedades químicas e biológicas a serem estudadas.

A *Piper aduncum* que tem como nomes populares pimenta-de-macaco, pimenta-de-fruto-ganchoso e tapa buraco, é uma planta nativa de zonas tropicais, sendo encontrada nos biomas Amazônia, Bioma Cerrado e Pampa, pertencente a família das Piperaceae. Investigações sobre espécies de *Piper* resultaram no isolamento de vários agentes compostos químicos, como: alcalóides, amidas, propenilfenóis, ligninas, neolignanas, terpenos, esteróides, piperolídeos, chalconas, diidrocalconas, flavonas e flavanonas, com diferentes atividades biológicas (PARMAR, et al., 1997; ARROYO et al., 2022). Efeitos farmacológicos de extratos de *P. aduncum* (etanólico e metanólico) e seus óleos essenciais foram demonstrados, incluindo atividades antileishmania, antibacteriana, citotóxica e antifúngica (VALADARES et al., 2018; SALEHI et al., 2019).

Sob esse viés, existem perspectivas promissoras para o controle de fungos de amplo espectro agrícola como *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill., utilizando extratos vegetais dessa planta, principalmente em relação a custos econômicos e impacto ambiental.

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, é o causador do mofo branco na soja, que pode afetar 100% da produção de culturas de importância econômica no país, como hortaliças

e cucurbitáceas (abobora, melancia e melão). Além disso esse patógeno é considerado o segundo mais agressivo na cultura da soja e pode permanecer viável no solo por períodos superior a oito anos (MARAFIGO et al., 2022), dificultando o seu controle, mesmo por agentes químicos industrializados.

O *Colletotrichum gloeosporioides* é o agente causador da antracnose, doença pós-colheita, que provoca a perda da qualidade dos frutos em geral, com lesões de ferrugem (WEI et al., 2017) em culturas como citros (limão e laranja), solanáceas (pimenta, tomate e batata) além de cucurbitáceas. O controle da doença, depende do uso de fungicidas sintéticos, porém, a utilização desses produtos gera preocupação devido aos efeitos indutores de resistência em fungos patogênicos e o impacto ambiental que pode ser gerado (OLIVEIRA et al., 2017).

Já o *Rhizopus stolonifer*, é um fungo cosmopolita, encontrados no solo, frutas e vegetais. Este é responsável pela podridão mole em pós-colheita, causando prejuízos a várias culturas como batata, mamão, cenoura, melão e pepino, gerando grandes perdas desses produtos agrícolas durante o armazenamento, transporte e comercialização (OLIVEIRA et al., 2019). As doenças causadas por fitopatógenos em pós-colheita são responsáveis por 90% das perdas de frutas e hortaliças destacando as infecções fúngicas causadas pelo *Rhizopus*.

A aplicação de químicos sintéticos nos pomares e hortas, ou durante o beneficiamento dos frutos, ainda é o método mais utilizado para o controle da maioria das doenças fúngicas, que geram gastos e podem causar problemas de saúde a grandes e pequenos produtores em todo país. Pesquisadores têm procurado substituir produtos sintéticos por produtos naturais, pois extratos e óleos essenciais de plantas possuem compostos com propriedades fúngicas e/ou fungitóxicas em sua composição (ZACCARDELLI et al., 2020; KHANZADA et al., 2021).

O uso da *Piper aduncum* entra como uma alternativa interessante e viável para muitas regiões do país. Diante do exposto, a presente proposta teve como objetivo identificar compostos químicos presentes no extrato hexânico das folhas e inflorescências de *P. aduncum* testar a atividade antifúngica em fungos agrícolas e *in vivo* na cultura da soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Metabólitos secundários

Os produtos do metabolismo vegetal desempenham importantes funções ecológicas tanto na evolução das plantas quanto e na interação com outros organismos. Estes

produtos podem ser classificados em metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são complexos de substâncias comuns em todas as plantas que estão envolvidos diretamente no crescimento e desenvolvimento vegetal (AMORIM et al., 2020), como por exemplos açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos.

Já os metabólitos secundários (ou especializados), desempenham importantes papéis na defesa e adaptação das plantas. Os metabólitos secundários são divididos em três grupos: compostos fenólicos, compostos nitrogenados e terpenos. (AMORIM, 2020)

Os compostos fenólicos são substâncias que apresentam o grupo fenol, com hidroxila funcional em um anel aromático. Os compostos fenólicos vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com cerca de 10 mil compostos. Alguns deles são solúveis apenas em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos, glicosídeos solúveis em água e há fenóis que são grandes polímeros insolúveis (DE OLIVEIRA, 2023). Alguns compostos fenólicos como taninos, antocianinas, lignina, isoflavonas, flavonas e flavonoides previnem herbivoria e patógenos nas plantas (AMORIM et al., 2020). Plantas como *Piper aduncum* por exemplo possuem esses grupos de metabólitos (VALADARES et al., 2018), que tem como função a atração de polinizadores e possuindo efeitos inibitórios de fungos (SANTOS et al., 2022).

Compostos nitrogenados, possuem nitrogênio (N) em sua estrutura, nesse grupo estão incluídos alcaloides, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos não protéicos. São usados como fármacos em mamíferos (AMORIM et al., 2020). Dos compostos nitrogenados, os mais famosos são os alcalóides, que são compostos de baixa massa molecular, encontrados em aproximadamente 20% das plantas vasculares. Esses compostos, possuem funções biológicas diversificadas, atuam especialmente na proteção das plantas contra a herbivoria e possuem efeitos tóxicos ao homem e propriedades medicinais (DE OLIVEIRA, 2023).

Os terpenos ou terpenoides, são hidrocarbonetos naturais produzidos pelas plantas, constituem a maior e mais complexa classe de produtos naturais, com cerca de 55.000 moléculas descobertas (AMORIM et al., 2020). São agregados em grupos segundo o tamanho da cadeia de moléculas que os compõem. Cada uma de suas moléculas é formada por uma combinação de cinco átomos de carbono ligados a oito átomos de hidrogênio (C₅H₈), numa estrutura denominada isopreno (GEEN POWER, 2023). Entre eles destacam-se os hemiterpenos (C-5), monoterpenos (C-10), sesquiterpenos (C-15), diterpenos (C-20), sesterpenos (C-25), triterpenos (C-30), tetraterpenos (C-40) e politerpenos (> C-40) (BROCK e DICKSCHAT, 2013). Estes compostos são encontrados em caules, folhas, flores, frutos e

raízes de vegetais, sendo compostos aromatizantes (SOUZA et al., 2023) sendo usados como intermediários na polinização e na proteção dos vegetais. Esses compostos estão entre os mais relatados no combate a insetos. O limoneno é um terpeno, e o mais abundante na natureza que provém de variedades cítricas (FOREZI et al., 2021; LEGNAIOLI, 2022).

A exploração da atividade de compostos do metabolismo secundário de plantas tem se tornado uma alternativa interessante no controle de doenças agrícolas (KHANZADA et al., 2021), com potencial ecológico, substituindo assim emprego de químicos sintéticos, através do uso de metabólitos de plantas como no caso dos óleos essenciais (OE) e extratos vegetais (EV), uma vez que, dependendo da espécie, apresentam, em sua composição, substâncias com propriedades inseticidas, antibacterianas e fungicidas.

2.2. Extratos vegetais

. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 725/2022 – Regulamento técnico sobre aditivos e aromatizantes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2022): “Extratos são produtos obtidos por esgotamento, a frio ou a quente, a partir de produtos de origem animal, vegetal ou microbiana com solventes permitidos. Devem conter os princípios aromáticos, voláteis e fixos correspondentes ao respectivo produto natural. Podem apresentar-se como: extratos líquidos: obtidos sem a eliminação do solvente ou eliminando-o de forma parcial; e extratos secos: obtidos com a eliminação do solvente.”

Logo, os extratos vegetais consistem em preparações concentradas, que podem ser obtidos das diversas partes das plantas, como folhas, raízes, flores e frutos. Podem possuir consistência sólida, líquida, ou viscosa (GEA, 2023) e cores geralmente amarronzadas ou escurecidas. Características que, dependem da espécie de planta, do órgão vegetal do qual se produz o extrato e principalmente dos tipos de compostos extraídos.

Os extratos vegetais (EVs) são compostos botânicos fotodegradáveis, constituídos por uma infinidade de substâncias ativas provenientes da fotoassimilação das plantas como terpenos, compostos fenólicos, compostos nitrogenados que são produzidos objetivando a proteção da planta contra estresses abióticos e bióticos (AMORIM, 2020). Nesse sentido, os EVs consistem em uma mistura complexa de substâncias com usos promissores, sobretudo na área agrícola no combate a doenças e pragas de difícil controle (CARDOSO et al., 2022).

De acordo com (Soares et al., (2020) técnica de preparação de extratos sólido-líquido é uma parte crucial na química de produtos naturais, haja visto, que os extratos

fornecerão os compostos que serão a base do estudo, tornando o isolamento de substâncias mais fácil. As substâncias separadas terão afinidade com o solvente utilizado. Essas substâncias, podem ser extraídas por solventes simples como a água ou álcool, ou por extratores mais específicos como metanol, acetado de etila, hexano, etc. A extração dos compostos químicos precisa ser adequada aos metabólitos deseja extrair. Nesse sentido, o solvente desempenha a função mais importante na extração, haja visto que, quanto mais seletivo o solvente, mais direcionada será a obtenção das substâncias desejadas (SOUSA et al., 2022).

EVs hidroalcoólicos, por exemplo, também chamados de extratos herbais, são capazes de retirar das partes vegetais de interesse como cascas e folhas substâncias mais polares como taninos. Extratos obtidos com acetato de etila, extraem compostos de média polaridade como flavonóides e compostos fenólicos. Os EV hexânicos por sua vez, são capazes de extrair compostos apolares como terpenoides, esteroides, ácidos fenólicos. Contudo, isso não impede que compostos com outras polaridades sejam separados por quelação e arraste no extrato.

A aplicabilidade dos EVs, se dão em diversos nichos de mercado como o cosmético (MENDONÇA, ALVES, DOS SANTOS, 2023), o farmacêutico e o alimentício (KRANS E KUBALA 2020). De acordo com Souza (2022), o mercado de extratos vegetais é relativamente novo no Brasil, porém nos Estados Unidos e na Europa a substituição do leite, animal, por exemplo, por opções a bebidas à base de extratos de plantas como soja, aveia, arroz, amêndoas, coco é consolidada (MENEZES, 2020).

O uso de EVs na agricultura como agroquímico, também faz-se interessante e viável, uma vez que, possuem menor toxicidade para os seres humanos e ao meio ambiente quando comparados com produtos fitossanitários sintéticos (PARREIRA, et al. 2018; LIMA, et al. 2020). Porém, apesar dos benefícios declarados, o uso de plantas apresentam algumas desvantagens, principalmente no que tange a escassez de dados relacionados à fitotoxicidade, à persistência e aos efeitos sobre organismos benéficos (MENEZES, 2005). Haja visto que os EVs possuem muitas substâncias ativas comprovadamente eficazes que podem ser isoladas e utilizadas como pesticidas ou podem servir como protótipo para síntese química no desenvolvimento de novas classes de pesticidas (CARDOSO et al., 2022). Ademais, outro desafio no uso de EV é o desenvolvimento de formulações capazes de manter os ingredientes ativos por mais tempo, haja visto que, como os EVs possuem moléculas orgânicas que tendem a serem mais sensíveis à degradação, transformadas em moléculas mais simples, perdendo sua atividade e seu potencial de uso. Logo, estudos e testes com

plantas com potencial pesticida é parte crucial para a descoberta de compostos e desenvolvimento de novos produtos

2.3. *Piper aduncum* L.

A *Piper aduncum* (Linnaeus, 1753 - Figura 1) popularmente chamada de pimenta-de-macaco, pimenta-longa, aperta-ruão, matico, erva de jaboti, jaborandi-do-mato, é planta nativa de áreas tropicais, pertencente a família das *Piperaceae*. Essa família compreende cerca de 3.600 espécies que se distribuem em regiões tropicais e subtropicais nos hemisférios norte e sul. Inclui plantas herbáceas, arbustos e (menos frequentemente) árvores, distribuídas em oito gêneros. (MONZOTE et al., 2017). O gênero *Piper* é o mais amplamente representado com cerca de 2000 espécies (GUTIÉRREZ et al., 2016).

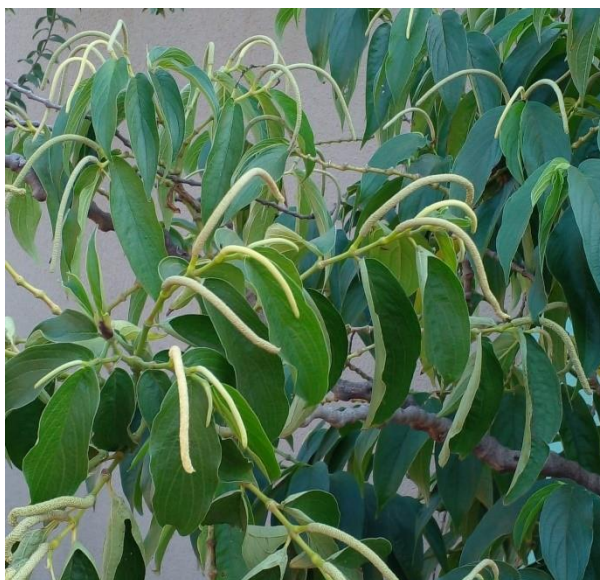


Figura 1: Foto da *Piper aduncum* (Fonte: Próprio Autor)

Segundo Guimarães (2023) pode-se encontrar essa planta em todos os biomas brasileiros como o Cerrado, a Amazônia e os Pampas. Desde locais como áreas antropizadas até florestas densas. Ela se desenvolve como arvoretas eretas ou arbustos de até 3 m de altura, ramos sem saliências, com entrenós variando de 4,9 a 7,7 cm (GISD, 2021; GUIMARÃES 2023). Outras características botânicas são: folhas simples, alternadas, opostas ou verticiladas, com margens inteiras e odor típico. As inflorescências são espigas ou racemos, solitárias ou não, axilares, terminais, curvada oposta à folha em um pedúnculo de 12-17 cm, branco a amarelo pálido. Suas flores são amontoadas em fileiras transversais regulares, são abundantes, minúsculas, bissexuais ou unissexuais, clamídias e bracteadas com brácteas peltadas. Cada flor é formada por 2-6 estames livres

com anteras rimosas; tem 1-4 estigmas, sésseis ou com pistilo, ovário superior, séssil ou pedicelado, uniloculares e com óvulo basal. Os frutos são drupas em formato de espiga (POTZERNHEIM et al. 2006; GUIMARÃES, 2023). As sementes marrons a pretas, de 0,7 mm a 1,25 mm de comprimento, são comprimidas, com superfície reticulada. (GISD, 2021).

A *P. aduncum* tem demonstrado resultados promissores em diversas pesquisas científicas nas áreas farmacológica e agrícola, tanto no uso de seus óleos essenciais como os seus extratos botânicos. Além de suas propriedades químicas e biológicas, um importante fator que torna os estudos com a *P. aduncum*, serem significativos é sua disponibilidade. É uma planta sustentável, uma vez que seus OEs e EVs são obtidos através de suas partes aéreas, sendo que esta espécie possui alta capacidade de rebrota, logo, vários cortes podem ser realizados ao longo de um ano.

O ciclo vegetativo da *P. aduncum* é relativamente curto, possuindo tolerância a solos com alto pH e de baixa fertilidade, fácil propagação e grande capacidade de adaptação a ambientes diversos (GILIOLI, 2022), com potencial de uso na recomposição de áreas degradadas (LIMA, 2015). Tais características facilitam a domesticação e o cultivo da *P. aduncum* sendo uma alternativa viável para a geração de renda (GILIOLI, 2022), pois essa planta apresenta um alto teor de metabólitos secundários em relação a outras espécies aromáticas, sendo uma espécie com potencial para ser utilizada como fonte de metabólitos para produtos de diversos setores, que até agora não foi utilizada (HERRERA, 2022).

2.4. Atividades biológicas de *Piper aduncum* L.

Por suas propriedades variadas, a *P. aduncum* tem sido utilizada na medicina popular, no tratamento de diversos distúrbios, como asma, bronquite, tosse, dor abdominal, diarreia e reumatismo (SANTOS et al., 2021), sendo uma espécie com grandes potenciais a serem explorados (MORAIS et al., 2023).

EVs orgânicos das folhas dessa planta apresentaram atividades antibacteriana, moluscicida e citotóxica, que é associado a presença de derivados ácido benzoico e dihidrochalconas (ORJALA et al., 1993). Suas atividades antimicrobianas, estão relacionadas aos princípios ativos das folhas que contém alcaloides, triterpenos, esteroides, flavonoides, fenóis, taninos, saponinas, açúcares redutores, quinonas, compostos graxos, cumarinas, resinas além de outros metabólitos secundários como: bioativos, como dilapiol, linalol, nerolidol, amidas, propenilfenóis, lignanas, piperolídeos, chalconas, diidrochalconas,

flavonas e flavanonas (VÁSQUEZ et al., 2015; VALADARES et al., 2018). Estudos fitoquímicos revelaram uma grande diversidade de metabólitos secundários, com ação antifúngica em plantas do gênero *Piper* (REIGADA et al., 2007; JOHNNY et al., 2011). Contudo, cada planta possui sua singularidade no que diz respeito a quantidade desses metabólitos, por conta de fatores bióticos e abióticos decorrentes do ambiente no qual a planta vive (NOZELLA, et al., 2022).

Experimentos confirmam as atividades biológicas de compostos secundários de *P. aduncum* como extratos vegetais e óleos essenciais na área agrícola. Extratos botânicos hexânicos, acetato de etila e etanol foram extraídos das folhas da *P. aduncum* e testados contra insetos, apresentando atividades favoráveis (LUCENA et al., 2017). Atividade antifúngica com uso dessa planta foi registrada contra *Crinipellis perniciosa*, o agente causador da doença do cacau, a vassoura-de-bruxa, além de fungos patogênicos de trigo, cebola, repolho, banana e outros (POHLIT et al., 2006). Ademais, outros autores realizaram ensaios biológicos avaliando o potencial antifúngico da *P. Aduncum* (Quadro 1).

Quadro 1: Atividades biológicas *P. aduncum* contra diferentes fungos comprovadas através de estudos científicos em laboratórios.

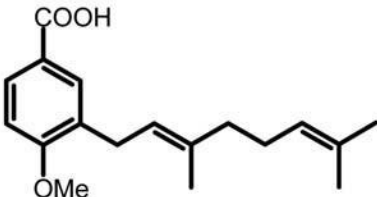
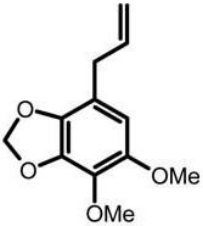
Atividade antifúngica de compostos secundários de <i>Piper aduncum</i>		
Organismo	Atividade	Referência
<i>Aspergillus flavus</i>	Extrato alcoólico	LENTZ et al., 1998
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Óleo essencial	MAIA et al., 1998
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Extrato alcoólico	LENTZ et al., 1998
<i>Candida albicans</i>	Extrato alcoólico	LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997; CÁCERES et al., 1991
<i>Colletotrichum musae</i>	Óleo essencial	BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Extrato alcoólico	LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997
<i>Penicillium oxalicum</i>	Extrato de éter de petróleo	ORJALA et al., 1993
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Extrato alcoólico	LENTZ et al., 1998; BALDOQUI et al., 1999
<i>Trichophyton</i>	Extrato alcoólico	LENTZ et al., 1998

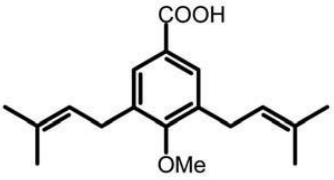
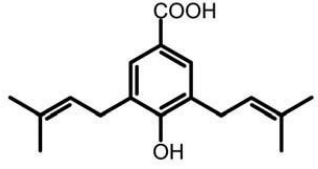
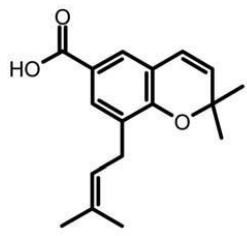
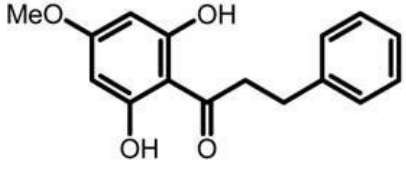
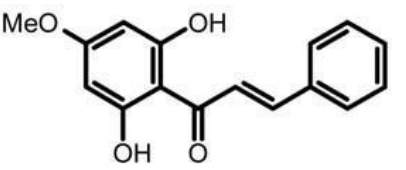
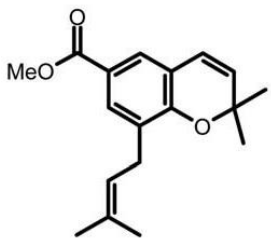
<i>mentagrophytes</i>		
-----------------------	--	--

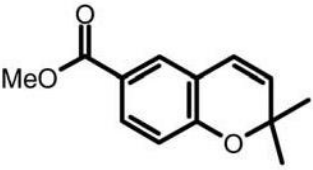
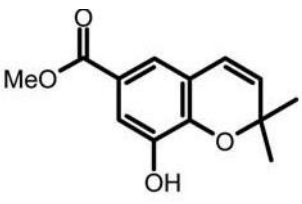
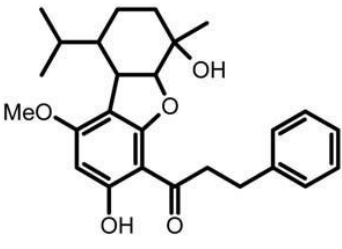
(POHLIT et al., 2006) – ADAPTADO.

A *Piper Aduncum* L., pode ser considerada fonte de metabólicos com potencial de combater agentes infecciosos de caráter farmacológico e agrícola (MORAIS et al., 2023). Sob o viés, agrícola, a preocupação do público com a poluição ambiental e a incapacidade de controlar doenças fúngicas, devido ao desenvolvimento de patógenos resistentes a fungicidas está levando cientistas ao rápido desenvolvimento de alternativas eficazes e economicamente viáveis no controle dessas doenças com o uso de produtos naturais. As atividades antifúngicas da *P. Aduncum* se devem a gama de compostos presentes em seus OEs e EVs. Conquanto, é importante ressaltar que diferentes extratos, com diferentes partes vegetais, apresentam diferenças quanto a ação sobre diferentes fungos (VILAMIL et al., 2022). Nesse contexto, pesquisas constantes, na área de química e produtos naturais se fazem necessárias. Estudiosos têm identificado e isolado compostos de *P. Aduncum* que possuem essas atividades específicas no combate de fungos (Quadro 2).

Quadro 2: Compostos ativos isolados de folhas, frutos e galhos de *Piper aduncum* L., com atividade antifúngica em estudos científicos.

Compostos ativos isolados de <i>Piper aduncum</i> L.		
Composto	Formúla Estrutal	Referência
Ácido 3-(3',7'-dimetil-2',6'-octa-dienil)-4-metóxi-benzóico		LENTZ et al., 1998; BALDOQUI et al., 1999
Pseudo-dilapiole (2,3-metilenodióxi-4,5-dimetóxi-alil-benzeno)		NAIR; BURKE, 1990
Ácido 4-metóxi-3,5-bis(3'-metil-2'-butenil)-benzóico		LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997;

		CÁCERES et al., 1991
Ácido nervogênico (ácido 4-hidróxi-3,5-bis(3-metil-2-butenil) benzóico)		LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997; CÁCERES et al., 1991
Ácido 2,2-dimetil-8-(3'-metil-2'-butenil)-2H-cromeno-6-carboxílico		LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997; CÁCERES et al., 1991
2',6'-dihidróxi-4'-metóxi-diidrochalcona		LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997; CÁCERES et al., 1991
2', 6'-dihidróxi-4'-metóxi-chalcona;		LENTZ et al., 1998; OKUNADE et al., 1997; CÁCERES et al., 1991
2,2- dimetil-8-(3'-metil-2'-butenil)-2H-cromeno-6-carboxilato de metila		et al., 2002

2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila		MORANDIM et al., 2002
8-hidróxi-2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila		MORANDIM et al., 2002
Adunctina E ((5'aR*,6'S*,9'R*,9'aS*)-1-[5'a,6',7',8',9',9'a-hexaidro-3',6'-diidroxil-1'-metóxi-6'-metil-9'-(1"-metiletil)dibenzo[b,d]furan-4'-il]-3-fenilpropan-1-ona);		MORANDIM et al., 2002

(POHLIT et al., 2006) – ADAPTADO.

Apesar do isolamento destes compostos com forte atividade biológica, não há registros do desenvolvimento de agentes agrícolas envolvendo essa espécie, uma área da pesquisa científica a ser ainda explorada. Espera-se que os extratos de plantas sejam potenciais substitutos para fungicidas sintéticos (KONG et al., 2019). Sob essa, ótica observa-se a importância da expansão de estudos com a *P. aduncum*.

2.5. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Barry é um fungo de solo, pertencente à classe Ascomycetes, ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae (MYCOBANK, 2023). É considerado um patógeno de plantas onívoro, destrutivo e inespecífico que acomete cerca de 650 espécies de plantas (TELMA et al., 2022).

É o agente causador da doença agrícola conhecida como mofo branco (por tipicamente identificado por seu micélio branco) ou podridão de *sclerotinia*, pode ser

encontrado em regiões temperadas, subtropicais e tropicais (SOUSA et al., 2021). Por ser um fungo de amplo espectro (MEYER, 2022). Pode afetar a produção de diversas culturas de importância econômica no país. Desde culturas de campo, frutíferas até plantas ornamentais, árvores, arbustos e inúmeras ervas daninhas. Sendo considerada uma doença de difícil controle.

Outra característica importante desse fungo é a formação de escleródios, estruturas de resistência, formadas em condições limitadas de nutrientes (MARQUES et al., 2014), com formatos ovais ou arredondados, formadas de melanina, construindo estruturas duras e enegrecidas (MEYER, 2022), permitindo que esse patógeno possa permanecer viável no solo por até 8 anos (MARAFIGO et al., 2022), dificultando seu controle, mesmo com agentes químicos industrializados. Quando em condições favoráveis, como baixas temperaturas, altas umidades e hospedeiros suscetíveis, essa estrutura de resistência e propagação pode germinar (BOLTON et al. 2006; GÖRGEN et al. 2009).

Contudo, a principal cultura de interesse econômico atingida por esse organismo no país, é a soja, que pode ser infectada, levando a morte de até 100% das lavouras quando atacada pelo fungo. O primeiro relato desta doença no Brasil foi no Estado do Paraná em 1975, no qual 70% das plantas de soja estavam infectadas em campos destinados à produção de sementes (FERREIRA et al. 1981). É considerado a segunda doença mais importante para a cultura da soja, atrás apenas da ferrugem asiática (MEYER et al., 2015; MACHADO, 2017). Sua distribuição abrange 95 países e quase todos os continentes, incluindo África, Ásia, Austrália, Europa, América do Norte e América do Sul.

Podem infectar frutos, folhas e flores, o mesmo leva ao anelamento da haste causando o rompimento do xilema e floema (WILLBUR et al., 2019), matando a planta ou causando redução significativa no rendimento do número e peso das sementes. Além disso, micélios desse fungo podem ficar no tegumento e no cotilédone e escleródios em sementes. Favorecendo o transporte de longa distância desse fungo por material infectado (TASIOR; 2022). Após a semente infectada ou detritos infestados retornarem ao campo no plantio, o fungo desenvolve apotécios a partir de escleródios seguidos pela produção de ascósporos (PIRES, 2022), que podem ser disseminados a curtas distâncias.

O ciclo de vida do *S. sclerotiorum* em campos de soja é altamente dependente das condições climáticas, levando a uma ocorrência altamente esporádica da doença ao longo das estações e uma distribuição agregada dentro dos campos (WILLBUR et al., 2019). A aplicação de fungicidas é muitas vezes de custo proibitivo, impraticável e

perigosa para o meio ambiente e a saúde humana (KUMAWAT et al., 2021).

O Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (2018) afirma que o uso de fungicidas com um ou poucos modos de ação correm maior risco de se tornarem ineficazes. Para auxiliar na longevidade dos fungicidas químicos, o uso de outras ferramentas de manejo torna-se importante para evitar o uso excessivo de fungicidas sintéticos. Logo, o controle alternativo para o manejo da *Sclerotinia* representa uma opção racional sustentável (MACENA et al., 2020), sobretudo com o uso de compostos naturais vegetais. Especificações da biologia desse fungo, podem ser observadas no Quadro 3.

Quadro 3: Etiologia, sobrevivência e disseminação do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

Doença	Morfo branco, Murcha de <i>Sclerotinia</i> , Podridão de <i>Sclerotinia</i> .
Etiologia	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .
Sobrevivência	Escleródios, Restos culturais, Hospedeiros alternativos.
Disseminação	Água de irrigação e chuva Implementos agrícolas, Mudanças infectadas, Resto culturais contaminados.
Condições favoráveis	Temperatura de 20 °C a 24 °C, Alta umidade do solo, Excesso de nitrogênio, Solos muito cultivados.

(UENO e COSTA, 2018) - ADAPTADO.

2.6. *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc é uma espécie de fungo, pertencente classe Coelomycetes, gênero *Colletotrichum*. Esse gênero inclui fungos considerados os maiores patógenos de plantas em todo o mundo. Caracterizam-se pela formação de estruturas denominadas acérvulos, no tecido da planta hospedeira parasitada, sendo uma das características da doença conhecida como antracnose (SANTOS et al., 2022). Apesar dos esporos desse fungo não serem estruturas de resistência, os micélios do fungo podem permanecer viáveis por longo período fazendo persistir o ciclo da doença.

A antracnose provoca a perda da qualidade dos frutos em geral (WEI et al., 2017). Manifestando-se, inicialmente, na forma de manchas pardo avermelhadas que se estendem por todo o fruto. Em seguida, pontuações escuras, com leves saliências,

formadas pelos acérvulos do fungo, aparecem na casca dos frutos (AGROLINK, 2022). A antracnose acomete culturas como caricáceas (mamão), citros (limão e laranja), solanáceas (pimenta, tomate e batata) além de cucurbitáceas que causa danos significativos também antes da colheita (XU et al., 2017; YAEGASHI et al., 2020, (VALADARES et al., 2020).

Conquanto, é classificada como sendo uma doença quiescente, ou seja, a infecção ocorre ainda nos campos de produção, mas os primeiros sintomas surgem após certo tempo de maturação. Em condições úmidas, forma-se uma massa de conídios, posteriormente, as lesões permanecem firmes até atingirem o fruto por completo, que pode secar e mumificar (UENO e COSTA, 2018), levando à podridão de antracnose.

O controle da doença, depende do uso de fungicidas sintéticos, porém, a utilização desses produtos gera preocupação devido aos efeitos indutores de resistência em fungos patogênicos e o impacto ambiental que pode ser gerado (OLIVEIRA et al., 2017; DISKIN et al., 2019). Devido a essas limitações dos fungicidas convencionais, existe a necessidade de desenvolver fungicidas seguros e eficientes contra *C. Gloeosporioides*. Atualmente, vários estudos têm sido realizados para explorar métodos para melhorar o armazenamento pós-colheita de frutas e hortaliças por meio do controle da antracnose usando EVs (HUA et al., 2019). Outras especificações da biologia desse fungo, podem ser observadas no Quadro 4.

Quadro 4: Etiologia, sobrevivência e disseminação do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

Doença	Antracnose, Podridão de antracnose.
Etiologia	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .
Sobrevivência	Restos culturais, Hospedeiros alternativos.
Disseminação	Plantas infecção, frutos e recipientes de contaminados.
Condições favoráveis	Temperatura de 21 °C a 27 °C, Excesso de irrigação, Frutos muito maduros, Ferimentos nos frutos, Tipo de embalagem.

(UENO E COSTA, 2018) - ADAPTADO.

2.7. *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill.

O fungo *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill., é um microorganismo filamentosamente distribuído pelo mundo. Pertencente a ordem Mucorales, família Mucoraceae (SIBBR, 2023). Esse fungo é encontrado no solo, frutas e vegetais, não raro também é encontrado em superfícies de pão, no qual obtém alimento e nutrientes e causa danos à superfície sobre a qual vive. O *R. stolonifer* é responsável pela podridão mole em pós-colheita, causando prejuízos a várias culturas como morango, batata, mamão, cenoura, melão e pepino. Leva a perdas severas ao longo do armazenamento, transporte e comercialização de frutas e hortaliças (REZENDE et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2019).

Frutos afetados ficam com ligeira descolorações e depois ganham uma tonalidade castanho-clara, rapidamente amolecem e entram em colapso (podridão aquosa). Em condições de umidade, o fruto é coberto com uma densa camada de micélio branco, a partir da qual são produzidos esporângios arredondados, grandes e escuros. (UENO e COSTA, 2018). Os esporos de *R. stolonifer* geralmente existem na atmosfera e podem se espalhar rapidamente de frutos infectados para frutos sadios quando a temperatura é superior a 5°C, muitas vezes resultando em inúmeros frutos podres.

Geralmente a podridão mole causada pelo *R. stolonifer* é controlada com produtos químicos sintéticos, que são empregados de forma excessiva e inadequada (OLIVEIRA et al., 2019). Nesse sentido, a descoberta de compostos ativos proveniente de EVs, se fazem uma alternativa viável para o combate dessa doença. Outras especificações da biologia desse fungo, podem ser observadas no Quadro 5.

Quadro 5: Etiologia, sobrevivência e disseminação do fungo *Rhizopus stolonifer*

Doença	Podridão Mole, Podridão dos frutos.
Etiologia	<i>Rhizopus stolonifer</i> .
Sobrevivência	Esporos (zigósporos).
Disseminação	Ar, Embalagens contaminadas e por intermédio insetos.
Condições favoráveis	Temperatura variável, Plantios adensados, Ferimentos nos frutos, Alta umidade relativa, Frutos muito maduros, Tipo de embalagem, Armazenamento em locais de altas temperaturas.

(UENO e COSTA, 2018) - ADAPTADO.

2.8. *Glycine max*

A soja (*Glycine max*), é uma planta da classe Magnoliopsida (Dicotiledônea), ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Glycine* L. (NUNES, 2023). Nativa da Ásia Oriental, norte e centro da China.

A planta tem como principais características botânicas: O caule ramoso com tamanho que varia entre 80 a 150 cm, a espécie possui quatro tipos de folha: cotiledonares, folhas simples ou primárias, folhas compostas ou trifolioladas e prófilos simples. As flores tem de 3 até 8mm de diâmetro, são autógamas e podem apresentar colorações variadas como branca, púrpura diluída ou roxa. O fruto da é um legume, popularmente chamado de vagem, a forma pode ser ovalada, achatada, reta, pouco curvadas, até quase cilíndrica, seguindo a forma das sementes, que a vagem contém. As sementes de soja são ovais, lisas, globosas ou elípticas. Podem apresentar colorações amarela, preta ou verde. Suas raízes são do tipo pivotante, grande número de raízes secundárias, o comprimento das raízes pode chegar a até 1,80 m (NUNES, 2023). A planta possui a capacidade de fazer relações simbióticas com bactérias do gênero *Rhizobium* em suas raízes, permitindo fixar nitrogênio no solo a partir do nitrogênio atmosférico (RODRIGUEZ RODRIGUEZ et al., 2023).

Sua alta adaptabilidade edafoclimática, tornou espécie cosmopolita, sendo cultivada em diversas partes do mundo, fatores que podem ser atribuídos a seleção antropica e ao melhoramento genético de cultivares. As diversas variedades de soja podem apresentar ciclos variando entre 90 e 140 dias, de acordo a latitude onde é feito o cultivo dessa oleaginosa (SILVA et al., 2023; NUNES, 2022).

A semente da soja, tem grande importância alimentícia, sendo conhecida como uma excelente fonte econômica de nutrientes e proteínas dietéticas para milhões de pessoas em todo o mundo (ALNUAIMI et al., 2023). O grão é comercializado como commodity, sendo negociada em larga escala no mercado internacional (GUITARRARA et al., 2023). Segundo Moreira et al., (2023), a soja é uma das culturas de maior importância econômica no mundo, sendo o Brasil é o maior produtor mundial desse grão.

Para Zhang et al., (2021), a demanda do grão tende a aumentar com o aumento da população e, por isso, é essencial que sejam criadas estratégias para ampliar sua produtividade, considerando a sustentabilidade, os custos e o impacto ambiental. Principalmente, porque em cultivo em sistema de monocultura a torna-a susceptível a diversas pragas e doenças (BASSETO, 202), deixando a cultura altamente dependente de insumos agrícolas como adubos, herbicidas, inseticidas, e fungicidas para o combate de

doenças.

Uma ampla gama de doenças da cultura são causadas por fungos (SEIXAS, 2022), como *Phakopsora pachyrhizi* agente causal da ferrugem-asiática e o *Sclerotinia sclerotiorum* popularmente chamado de mofo-branco, que leva ao tombamento e apodrecimento das plantas. A grande maioria desses patógenos causam doenças monocíclicas, no qual, seu inóculo aumenta ao longo dos ciclos de cultivos sucessivos com plantas suscetíveis e as reduções em produtividade torna-se graduais, passando muitas vezes despercebidas nos anos iniciais de contaminação (MEYER, 2022).

O mofo-branco em especial, é uma das doenças mais antigas da soja (DREBES et al., 2022), acometem desde plantas jovens, até plantas adultas. Seu aparecimento e intensidade entre as safras varia, sua ocorrência e níveis de dano aumentaram significativamente no Brasil, desde áreas mais altas do Cerrado até em áreas mais tradicionais de cultivo de soja nos países como sul e sudeste (DREBES et al., 2022). A doença pode reduzir a produtividade dos campos de soja em até 70% estima-se que 23% das áreas de produção brasileira, estejam infestadas pelo patógeno, compondo, aproximadamente, 6,8 milhões de hectares que necessitam da adoção de medidas integradas de controle da doença (MEYER; COSTAMILAN; HENNING, 2014; DREBES et al., 2022). Logo, a busca por produtos alternativos para o controle de doenças da soja são de suma importância.

3. REFERÊNCIAS

AGROLINK - Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). AGROLINK, 2022. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/problemas/antracnose_1510.html>. Acesso em 20 de julho 2022.

ALNUAIMI, Amna et al. A comparative analysis of anti-lipidemic potential of soybean (*Glycine max*) protein hydrolysates obtained from different ripening stages: Identification, and molecular interaction mechanisms of novel bioactive peptides. **Food Chemistry**, v. 402, p. 134192, 2023.

AMORIM, Víctor Alves; BORGES, L. P. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia, Ipameri**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 725, de 1º de Julho de 2022. Regulamento técnico sobre aditivos e aromatizantes. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_725_2022_.pdf/fa9a9a0a-9e30-4c2b-8386-04b5533aa934. Acesso: 19 de fevereiro de 2023.

ARROYO, J. et al. Estudio anatómico e histoquímico de los órganos vegetativos de *Piper aduncum* L.(Piperaceae). **Polibotánica**, n. 54, p. 185-202, 2022.

BALDOQUI, D.C.; KATO, M.J.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M.C.M.; FURLAN, M. A chromene and prenylated benzoic acid from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, v.51, n.7, p.899-902, 1999.

BASSETO, VHB et al. Catálogo virtual de doenças e pragas de soja. 2022.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do Óleo de *Piper aduncum* no Controle em Pós-colheita de *Colletotrichum musae* em Banana. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.5, p.555-557, 2004.

BOLTON, Melvin D.; THOMMA, Bart PHJ; NELSON, Berlin D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular plant pathology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

BROCK, Nelson L.; DICKSCHAT, Jeroen S. Biosynthesis of terpenoids. **Nat. Prod**, v. 17, p. 2693-2732, 2013.

CÁCERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, .E.; JAUREGUI, E.; PERALTA, E.; CARRILLO, G. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **Journal of ethnopharmacology**, v.48, p.85-8, 1995.

CARDOSO, Jean Carlos; CARMELLO, Camila Rodrigues. Botanical pesticides as

alternatives for more sustainable crops and healthy foods. In: **Pesticides in the Natural Environment**. Elsevier, 2022. p. 285-315.

DE OLIVEIRA, Luiz Edson Mota. Temas em Fisiologia Vegetal. Disponível em: <<http://www.ledson.ufla.br/metabolismo-secundario/compostos-fenolicos/>>. Acesso em 18 de Janeiro de 2023.

DÍAZ-TIELAS, C. et al. Atividades Biológicas e Novas Aplicações das Chalconas. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, p. 607-616, 2016.

DISKIN, Sonia et al. Fludioxonil—A potential alternative for postharvest disease control in mango fruit. **Crop Protection**, v. 124, p. 104855, 2019.

DREBES, Lucas et al. Associação de produtos biológicos e químicos no controle de doenças foliares do trigo e mofo-branco em soja. 2022.

FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. Moléstias e seu controle. **A soja no Brasil**, 1981.

FOREZI, Luana SM et al. Aqui Tem Química: parte IV. Terpenos na Perfumaria. 2021.

GEA. Nutracêuticos. Extratos vegetais. Disponível em: <<https://www.gea.com/pt/pharma-healthcare/nutraceuticals/plant-extracts.jsp>>. Acesso em 17 de Janeiro de 2023.

GEEN POWER. Terpenos: o que são e qual a sua importância. Disponível em: <<https://greenpower.net.br/blog/terpenos-o-que-sao/#:~:text=Terpenos%3A%20Classifica%C3%A7%C3%A3o%20exemplos%20mais%20comuns,%20numa%20estrutura%20denominada%20isopreno>>. Acesso em 18 de Janeiro de 2023.

GILIOLI, MARIANA. Estudo comparativo e identificação dos principais componentes do óleo essencial de *Piper aduncum* L.(Piperaceae) por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas e por Índice de Retenção. 2021.

GÖRGEN, Claudia Adriana et al. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1583-1590, 2009.

GLOBAL INVASIVE SPECIES DATABASE (GISD) 2022. Species profile *Piper aduncum*. Available from: <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=332> Acesso 21 Julho 2022.

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/FB12738>>. Acesso em: 11 de Janeiro de 2023.

GUITARRARA, Paloma. "Commodities"; Brasil Escola. Disponível em: <<https://brasilecola.uol.com.br/geografia/commodities.htm>> Acesso em: 11 de janeiro de

2023.

GUTIÉRREZ, Y., MONTES, R., SCULL, R., SÁNCHEZ, A., COS, P., MONZOTE, L., & SETZER, W. N. Chemodiversity associated with cytotoxicity and antimicrobial activity of *P. aduncum* var. *ossanum*. **Chemistry & biodiversity**, 13(12), 1715-1719, 2016.

HERRERA MARULANDA, Sebastián. Evaluación de protocolos de desinfección y multiplicación in vitro de *Piper aduncum* L. 2022.

HUA, Chenyan et al. Curcumin induces oxidative stress in *Botrytis cinerea*, resulting in a reduction in gray mold decay in kiwifruit. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 28, p. 7968-7976, 2019.

JOHNNY, Lucy; YUSUF, Umi Kalsom; NULIT, R. Antifungal activity of selected plant leaves crude extracts against a pepper anthracnose fungus, *Colletotrichum capsici* (Sydow) butler and bisby (Ascomycota: Phyllachorales). **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 20, p. 4157-4165, 2011.

KHANZADA, Beenish et al. Profiling of Antifungal Activities and In Silico Studies of Natural Polyphenols from Some Plants. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7164, 2021.

KONG, Jie et al. Antifungal effects of thymol and salicylic acid on cell membrane and mitochondria of *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of tomatoes. **Food chemistry**, v. 285, p. 380-388, 2019.

KRANS, Brian.; KUBALA, Jilian. Comparing milks: Almond, Dairy, Soy, Rice, and Coconut. Healthline. Nutrition. 5 mar. 2020. Disponível em: <<https://www.healthline.com/health/milk-almond-cow-soy-rice#soy-milk>>. Acesso em: 20 de janeiro de 2023.

KUMAWAT, Richpal et al. Eco-Friendly Approaches for Management of Sclerotinia Rot in Fennel Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Journal of Agricultural Science & Engineering Innovation (JASEI)**, v. 2, n. 1, p. 19-23, 2021.

Legnaioli. S. Terpenos: o que são, funções e benefícios. Disponível em: <<https://www.ecycle.com.br/terpenos/>>. Acesso em 18 de Janeiro de 2023.

LENTZ, D.L.; CLARK, A.M.; HUFFORD, C.D.; MEURER- GRIMES, B.; PASSREITER, C.M.; CORDERO, J.; IBRAHIMI, O.; OKUNADE, A.L. Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.63, p.253-63, 1998.

LIMA, A. P. S. et al. Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. **Crop Protection**, 136, 105-230, 2020.

LIMA, S. J. et al. atividade alelopática de extratos do fruto de *Piper aduncum* L. na germinação e crescimento inicial de cebola. **III Seminário de Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Cáceres–MT**, v. 2, n. 1, 2015.

LUCENA, Daiane C. et al. Biological activity of piper aduncum extracts on anticarsia gemmatalis (hübner) (Lepidoptera: erebidae) and Spodoptera frugiperda (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 1869-1879, 2017.

MACENA, Andreia MF et al. Antagonism of Trichoderma-based biofungicides against Brazilian and North American isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* and growth promotion of soybean. **BioControl**, v. 65, n. 2, p. 235-246, 2020.

MACHADO, B. Q. V. **Diversidade genética em soja com diferentes níveis de resistência ao *Sclerotinia sclerotiorum*, correlações, análise de trilha e população de plantas**. 2017. 103 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia – MG. 2017.

MAIA, J.G.S.; ZOHGBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v.13,p.269-72, 1998.

MARAFIGO, Denner Roberto Furtado de et al. Extração e uso de óleos essenciais de plantas medicinais na inibição do *Sclerotinia sclerotiorum*. 2022.

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

MENEZES, Gabrielli. Leite vegetal ganha espaço em supermercados e cafeterias da cidade. Veja São Paulo. Comida e bebida. 21 fev. 2020. Disponível em: <<https://vejasp.abril.com.br/comida-bebida/leite-vegetal-variedade-negocio/>> Acesso em: 20 de fevereiro de 2023.

MENDONÇA, Beatriz da Motta Ramos; ALVES, Priscila Elias; DOS SANTOS, Elisabete Pereira. Cosméticos Verdes: revisão bibliográfica acerca da tendência sustentável no desenvolvimento de cosméticos. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 2, p. e4212239888-e4212239888, 2023.

MEYER, M.C.; et al. Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2014/2015: resultados sumarizados dos 24 ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 4 p. (**Embrapa Soja. Circular Técnica**, 114), 2015.

MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M.; HENNING, A. A. Doenças da soja. Sociedade

Brasileira de Fitopatologia, 2014. 32 p.

MEYER, Maurício Conrado et al. Bioinsumos na cultura da soja. 2022.

MONZOTE, Lianet et al. Essential oil from *Piper aduncum*: Chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 49, 2017.

MORANDIM, A.A.; BERGAMO, D.C.B.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; OUNG, M.C.M.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M. Potencial antifúngico e antitumoral de metabólitos de *Piper aduncum*. 25^a. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2002.

MORAIS, Valdenir Pereira et al. Breve Revisão sobre *Piper aduncum* L., seus Metabólitos Bioativos e seu Potencial para Desenvolvimento de Bioprodutos. **Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia**, v. 66, 2023.

MOREIRA, Victor Messias; NUÑEZ, Daniel Noe Coaguila. Estimativa de produtividade da cultura da soja na safra 2021/22: Índices de vegetação e Machine Learning. **Brazilian Journal of Science**, v. 2, n. 1, p. 7-15, 2023.

MYCOBANK. 2022. Disponível em: <<https://www.mycobank.org/page/Basic%20names%20search>>. Acesso em: 13 de janeiro de 2023.

NAIR, M.G.; BURKE, B.A. Antimicrobial Piper metabolite and related compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.1093-1096, 1990.

NOZELLA, Augusto Hubaide et al. Estudo químico das folhas de *Piper fuliginum* e *P. macedoi* por espectrometria de massas combinadas às redes moleculares e avaliação in silico da inibição da Mpro de SARS-CoV-2. 2022.

NUNES, J.L.S. Características da soja. Agrolink. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/caracteristicas_361509.html#:~:text=O%20legume%20da%20soja%20%C3%A9,est%C3%A1gio%20de%20desenvolvimento%20da%20planta>. Acesso em: 11 de janeiro de 2023.

OKUNADE, A.L.; HUFFORD, C.D.; CLARK, A.M.; LENTZ, D. Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*. **Phytotherapy Research**, v.11, p.142-144, 1997.

OLIVEIRA, F. et al. Leaf morphology and venation of *Psidium* species from the Brazilian Savanna. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 407-413, 2017.

OLIVEIRA, J. et al. Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. **International journal of food microbiology**, v. 292, p. 150-158, 2019.

- OLIVEIRA, J., et al. Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. **International Journal Food Microbiology**. 292, 150–158, 2019.
- ORJALA, J.; ERDELMEIER, C.A.J.; WRIGHT, A.D.; RALI, T.; STICHER, O. Chromenes and a prenylated benzoic acid derivative from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, v.34, n.3, p.813-818, 1993.
- ORJALA, Jimmy et al. Two chromenes and a prenylated benzoic acid derivative from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 3, p. 813-818, 1993.
- PARMAR, Virinder S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.
- PARREIRA, D. S. et al. Essential oils cause detrimental effects on biological parameters of *Trichogramma galloi* immatures. **Journal of Pest Science**, 91(2), 887–895, 2018.
- PIRES, Francielly Abrenhosa et al. DETECÇÃO DE MOFO-BRANCO COM IMAGENS AÉREAS. 2022.
- POHLIT, Adrian Martin; PINTO, Ana Cristina da Silva; MAUSE, Robert. *Piper aduncum* L.: planta pluripotente e fonte de substâncias fitoquímicas importantes. **Revista Fitos**, v. 2, n. 01, p. 7-18, 2006.
- POTZERNHEIM, Miriam Cristina Leone; BIZZO, Humberto Ribeiro; VIEIRA, Roberto Fontes. Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 246-251, 2006.
- REIGADA, Juliana B. et al. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq.(Piperaceae)—antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 18, n. 9, p. 1054-1058, 2007.
- REZENDE, Jessika Lima et al. Antifungal potential of essential oils from two varieties of *Citrus sinensis* (lima orange and bahia navel orange) in postharvest control of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 405-409, 2020.
- RODRIGUEZ RODRIGUEZ, N. E. et al. Bioprospection of naturalized soybean-nodulating *Bradyrhizobium* strains in Uruguayan soils: a genetic and symbiotic approach. **Environmental Sustainability**, p. 1-11, 2023.
- SALEHI, Bahare et al. *Piper* species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, p. 1364, 2019.

SANTOS, L. S. et al. Phenolic compounds and antifungal activity of ethyl acetate extract and methanolic extract from *Capsicum chinense* Jacq. ripe fruit. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2022.

SANTOS, Thais Silva et al. Influence of drying on the chemical composition and bioactivity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e46810817397-e46810817397, 2021.

SEIXAS, CDS et al. Bioinsumos para o manejo de doenças foliares na cultura da soja. 2022.

SOUZA, Abel Grangeiro de; SILVA, Débora Teles da; SANTOS, Miguel. Avaliação nutricional e sensorial dos extratos vegetais. 2022.

SiBBr - Sistema Brasileiro de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira. **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020**. *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill disponível em : <<https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/381611#classification>>. Acesso em 11 de janeiro de 2023.

SILVA, Adriana Vieira et al. Efeitos do bioestimulante Agri Gold®(*Ascophyllum nodosum*) no crescimento e desenvolvimento da soja. **Brazilian Journal of Science**, v. 2, n. 1, p. 72-81, 2023.

SOARES, Karoline Vitória da Cruz et al. Estudo da composição química e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos das folhas de *Piper arboreum* e *Piper aduncum*. 2020.

SOUSA, Wendel C. et al. Chemical composition and antifungal potential of essential oils from different aerial parts of *Protium ovatum* Engl. **Australian Journal of Crop Science**, v. 15, n. 4, p. 570-576, 2021.

SOUZA, Maria Clara R. et al. A Influência dos Compostos Orgânicos Voláteis nas Mudanças Climáticas: Uma breve revisão. 2023.

TASIOR, Daniele; RUTHES, Elderson. Metodologia de identificação molecular de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 5, n. 2, p. 1891-1901, 2022.

TELMA, Andressa de Lurdes et al. Ação de óleos essenciais de plantas: inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. 2022.

UENO, Bernardo; COSTA, H. Doenças causadas por fungos e bactérias. 2018.

VALADARES, Anna Carolina F. et al. Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves: chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia*

- sclerotiorum. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 2691-2699, 2018.
- VALADARES, Anna Carolina Fernandes et al. Incorporation of essential oils from *Piper aduncum* into films made from arrowroot starch: effects on their physicochemical properties and antifungal activity. **Química Nova**, v. 43, p. 729-737, 2020.
- VÁSQUEZ, Marilú Roxana Soto. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. **In Crescendo**, v. 6, n. 1, p. 33-43, 2015.
- VILAMIL, Edriely Souza et al. 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, p. 27655-27667, 2021.
- WEI, Y et al. The laccase gene (LAC1) is essential for *Colletotrichum gloeosporioides* development and virulence on mango leaves and fruits. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 2017.
- WILLBUR, Jaime et al. An overview of the *Sclerotinia sclerotiorum* pathosystem in soybean: impact, fungal biology, and current management strategies. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 3-11, 2019.
- XU, Xiangbin et al. Antifungal activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP) against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in postharvest mango fruit and its possible mechanisms of action. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 1-6, 2017.
- YAEGASHI, Hajime et al. Point mutation in CYP51A1 of *Venturia inaequalis* is associated with low sensitivity to sterol demethylation inhibitors. **Journal of general plant pathology**, v. 86, n. 4, p. 245-249, 2020.
- ZACCARDELLI, Massimo et al. Sage species case study on a spontaneous Mediterranean plant to control phytopathogenic fungi and bacteria. **Forests**, v. 11, n. 6, p. 704, 2020.
- ZHANG, Keke; WU, Qiufeng; CHEN, Yiping. Detecting soybean leaf disease from synthetic image using multi-feature fusion faster R-CNN. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 183, p. 106064, 2021.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Objetivou-se avaliar a composição química dos extratos hexânicos das folhas e inflorescência de *Piper aduncun L.*, determinar atividade biológica contra os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill., in vitro e testes in vivo utilizando emulsões com as concentrações mais ativas dos extratos de *Piperaduncun* na soja para controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Preparo de extratos hexânicos das folhas e inflorescência de *Piper aduncun L.*

Identificação dos compostos químicos presentes nos extratos hexânicos das folhas e inflorescência de *Piper aduncun* por meio de cromatografia gasosa associada a espectrômetro de massas.

Realização de testes *in vitro* de diferentes concentrações dos extratos sobre os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill.

Identificação das concentrações das mais ativas dos extratos, nos testes in vitro, contra o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, e realização de testes in vivo com emulsões mais ativas sobre plantas de soja contaminadas com o fungo em análise.

5. CAPÍTULO I: UMA ATUALIZAÇÃO SOBRE *PIPER ADUNCUM* L., SEUS METABÓLITOS BIOATIVOS E SEU POTENCIAL PARA DESENVOLVER BIOPRODUTOS

Artigo publicado na revista: **Brazilian Archives of Biology and Technology**

RESUMO

Esta revisão de literatura compilou as principais atividades biológicas e princípios ativos já isolados de *Piper aduncum* (Piperaceae), cujo nome comum é papel cravejado. Em português brasileiro, chamada de *pimenta-longa*, *aperta-ruão*, *pimenta de macaco*, *matico*, *erva de jaboti*, *jaborandi do mato*, *pimenta-de-fruto-ganchoso* e *tapa buraco*. Extratos, óleos essenciais (OEs) e compostos isolados dessa espécie têm apresentado notáveis atividades fúngica e inseticida, além de antibacteriana, antileishmania, antioxidante, citotóxica/antitumoral, larvicida, antiplaquetária, moluscoide e antiviral. *P. aduncum* é uma espécie endêmica do Brasil que tem chamado a atenção de pesquisadores devido aos altos teores de OEs que são extraídos de suas folhas, inflorescências e galhos. Este estudo teve como objetivo analisar dados de *P. aduncum*, seus OEs, extratos e compostos isolados encontrados em 45 trabalhos de pesquisa. Seu principal constituinte químico é definitivamente o dilapiol, um arilpropanóide. Os resultados foram cuidadosamente compilados por esta revisão que reforça o potencial químico e biológico desta espécie botânica.

Palavras-chave: Piperaceae; Óleos essenciais; Extratos vegetais; Plantas medicinais; Bioprodutos; Dilapiole.

ABSTRACT

This literature review compiled the main biological activities and active principles already isolated from *Piper aduncum* (Piperaceae), whose common name is studded paper. In Brazilian Portuguese, it is *pimenta-longa*, *aperta-ruão*, *pimenta de macaco*, *matico*, *erva de jaboti*, *jaborandi do mato*, *pimenta-de-fruto-ganchoso* and *tapa buraco*. Extracts, essential oils (OEs) and compounds isolated from this species have shown notable fungicidal and insecticidal activities, in addition to antibacterial, antileishmanial, antioxidant, cytotoxic/antitumor, larvicidal, antiplatelet, molluscoid and antiviral activities. *P. aduncum* is an endemic species from Brazil that has attracted the attention of researchers due to the high levels of EOs that are extracted from its leaves, inflorescences and branches. This study aimed to analyze data on *P. aduncum*, its EOs, extracts and isolated compounds found in 45 research papers. Its main chemical constituent is definitely dillapiol, an arylpropanoid. The results were carefully compiled by this review that reinforces the chemical and biological potential of this botanical species.

Keywords: Piperaceae; Essencial oils; plant extracts; Medicinal plants; Bioproducts; Dilapiole.

5.1. INTRODUÇÃO

A *pimenta de macaco* (*Piper aduncum* – Figura 2) é uma espécie nativa da Amazônia, pertencente à família botânica Piperaceae, caracteriza-se por ser uma planta que possui grande potencial econômico em razão de os seus óleos essenciais possuírem metabólitos secundários bioativos como o dillapiol, linalool, nerolidol, entre outros (VALADARES et al., 2018). Seus EOs exibem diferentes atividades biológicas como: fungicida (VALADARES et al., 2018), inseticida e larvicida (OLIVEIRA et al., 2013; VOLPE et al., 2016), além de moluscicida (RAPADO et al., 2011), parasiticida (MONZOTE et al., 2017) e antibiótica (BRAZÃO et al., 2014). EOs apresentam potencial sinérgico quando combinados com inseticidas convencionais, fazendo o inseto perder a capacidade de criar resistência ao inseticida e, com isso, eleva o desempenho do produto e reduz sua quantidade utilizada (RAPOSO et al., 2019).

A família Piperaceae compreende cerca de 3600 espécies, que estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais nos hemisférios norte e sul. A família inclui plantas herbáceas, arbustos e (com menos frequência) árvores e está distribuída em oito gêneros. O gênero *Piper* é o mais amplamente representado, com cerca de 2.000 espécies (MONZOTE et al., 2017). Espécies de *Piper L.* foram previamente investigadas quimicamente, resultando no isolamento de várias substâncias com propriedades biológicas como alcalóides; amidas; propenilfenóis; lignanas; neolignanos; terpenos; esteróides; kawapironas; piperolídeos; chalconas; dihidrocalconas; flavonas; flavanonas (PARMAR et al., 1997).

É interessante mencionar que o cultivo de *P. aduncum* é sustentável, podendo ser explorada de forma não destrutiva, haja vista que EOs e extratos são obtidos a partir de suas partes aéreas. Esta espécie possui alta capacidade de rebrota, sendo possível realizar diversos cortes ao longo dos anos, caracterizando um sistema de produção ambientalmente correto, tendo a vantagem, com relação a outras culturas, de dispensar a necessidade de novos plantios a cada ano (BERGO et al., 2010).

Os efeitos farmacológicos dos extratos de *P. aduncum* (etanol e metanol) e seus OEs foram demonstrados, incluindo atividades antileishmania, antibacteriana, citotóxica e antifúngica (SALEHI et al., 2019). Além disso, compostos isolados de folhas demonstraram ser muito ativos contra promastigotas e amastigotas intracelulares, causando efeitos danosos no DNA, e possuem atividades antileishmania, antimicrobiana, moluscicida, antitumoral e antifúngica (SALEHI et al., 2019). Os fungos endofíticos isolados de *P. aduncum* também

produzem metabólitos extracelulares (presentes no filtrado da cultura) que afetam o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* (LIMA et al., 2011).

No Brasil, quando os extratos hexano, acetato de etila e etanolque foram preparados a partir das folhas foram testados contra *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* estes revelaram atividades promissoras (LUCENA et al., 2017). Pesquisadores brasileiros também já descreveram a atividade de extratos de *P. aduncum* contra bactérias que causam a cárie dentária (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguinis*) com obtenção de excelentes resultados (CHAIANA et al., 2016).

Para realizar uma breve revisão, reunimos todos os estudos sobre diferentes atividades biológicas e composição química, principalmente com o objetivo de encontrar uma maneira de descrever resultados que possam ser úteis para uma estratégia alternativa ou complementar no tratamento de doenças, considerando que muitas doenças ainda são um grande desafio em muitos países das regiões tropicais e subtropicais orientais e ocidentais. Evidencia-se desta forma que *P. aduncum* é uma espécie vegetal que ainda tem muito a oferecer em termos de suas propriedades medicinais e fica claro a ainda latente necessidade de estudos mais aprofundados que visem desvendar e aplicar os benefícios desta planta para pessoas do mundo todo.



Figura 2: *Piper aduncum* L. (Piperaceae)

5.2. O gênero Piper

Piperaceae é uma família pantropical que possui cinco gêneros e cerca de 3.600 espécies. Todos os gêneros estão representados na região neotropical, exceto o gênero monotípico *Zippelia*, que é encontrado na Ásia tropical. No Brasil, Piperaceae é

representada por cerca de 450 táxons distribuídos em três gêneros; a maioria está nas Florestas Atlântica e Amazônica, onde aproximadamente 280 e 230 táxons, respectivamente, podem ser encontrados (MELO; GUIMARÃES; ALVES, 2014). Seus representantes podem ser ervas epífitas, terrestres ou rupícolas, hemiepífitas, trepadeiras, arbustos eretos ou escandentes ou pequenas árvores. As folhas são simples, alternas, opostas ou verticiladas, com margens inteiras e odor típico. Nas florescências são espigas ou racemos, solitários ou não, axilares, terminais ou opositores. As flores são abundantes, minúsculas, bissexuais ou unissexuais, clamídias e brácteas com brácteas peltadas. Cada flor é formada por 2-6 estames livres com anteras rimosas; o gineceu possui 1-4 estiletos matados, sésseis ou com pistilo, ovário súpero, sésil ou pedicelado, unilocular e com óvulo basal. Os frutos são drupas (MELO; GUIMARÃES; ALVES, 2014). Vale ressaltar que plantas pertencentes ao gênero *Piper* também podem ser encontradas no Cerrado brasileiro (POTZERNHEIM; BIZZO; VIEIRA, 2006).

Cerca de 180 espécies foram registradas no estado do Rio de Janeiro (RJ), Brasil, onde 16 *Piper* podem ser encontrados na vegetação de restinga. Devido ao grande número de espécies de *Piper* em áreas de restinga, pode-se afirmar que eles podem ter novas estratégias de adaptação fisiológica e morfológica para sobreviver neste ambiente, um tópico interessante para um estudo químico (DE LIMA MOREIRA; PEREIRA, 2021). Outras espécies de *Piper* foram encontradas em florestas de terras baixas e montanhas; duas delas são estritamente distribuídas no Escudo das Guianas: *P. bolivaranum* (novo registro no Brasil) e *P. wachenheimii* (MELO; ALVES, 2019)

Várias espécies deste gênero têm sido utilizadas na medicina popular em países da América do Sul, Ásia, Pacífico Sul e África para tratar distúrbios do trato respiratório e gastrointestinal e outras doenças (TORRES-PELAYO et al., 2016). Na literatura, há relatos de propriedades ansiolíticas, analgésicas, anti-inflamatórias, vasodilatadoras, citotóxicas, imunomoduladoras, antimicrobianas e antifúngicas, além de promissora atividade antitumoral. Eles também têm uma importância notável em fitoquímica e etnobotânica (TORRES-PELAYO et al., 2016).

5.3. A família Piperaceae

A família Piperaceae com 10 gêneros e 1.400 - 2.000 espécies no mundo, estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, sendo a maioria de seus representantes arbustos, ervas e pequenas árvores. A família tem ganhado destaque como fonte de substâncias atribuída ao seu potencial farmacológico, e por apresentar ampla ocorrência e

abundância no Brasil, várias espécies têm sido descritas por suas propriedades etnomedicinais (BARDELLI; KIRIZAWA; SOUSA, 2008). Pesquisadores mexicanos também têm chamado a atenção para etnobotânica e medicinal importante para a família Piperaceae (MARTÍNEZ-BAUTISTA et al., 2019).

Piperaceae tem sido frequentemente estudada devido às suas importantes características, que possibilitam seu uso na alimentação, na indústria farmacêutica, cosmética e perfumaria. Várias espécies têm sido utilizadas como especiarias (frutas), decoração e drogas como chás, infusões e banhos aromáticos. Caules, frutos, folhas e raízes são as partes mais utilizadas das plantas (SALEHI et al., 2019). Os fitoquímicos e OEs de Piperaceae mostraram maior atividade antioxidante do que os antioxidantes sintéticos e exibiram atividades antibacterianas e antifúngicas contra patógenos humanos (SALEHI et al., 2019).

Na medicina popular, o *P. aduncum* tem sido utilizado no tratamento de diversas doenças, como asma, bronquite, tosse, dor abdominal, diarreia e reumatismo (SANTOS et al., 2021). Vários outros estudos in vitro confirmaram suas atividades antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, anti-helmíntica e antileucêmica (SANTOS et al., 2021). Diante de tantos benefícios, a família Piperaceae continua sendo uma questão promissora na pesquisa científica.

5.4. Estudos etnobotânicos e usos medicinais de *P. aduncum*

De acordo com os dados etnobotânicos, a *P. aduncum* é utilizada no tratamento de diversas doenças. Os dados reunidos por vários autores em várias obras revelaram que essa planta é utilizada em diversas formulações tradicionais pelos povos de muitos países como adstringente, estimulante digestivo, diurético, antimalárico, sedativo, laxante, bebida refrescante e remédio para hemorróidas, gonorréia, leucorréia (corrimento vaginal), hemorragias menstruais, diarreia, disenterias e dor de dente (POHLIT et al., 2006). Outros pesquisadores relataram o uso da espécie contra dor de estômago e também como repelente de insetos. Outros autores relataram seu uso tradicional como antisséptico para cortes na pele e descrevem seu uso como hemostático (estanca-sangramento). Mais relevante é o extrato hidroalcoólico da folha dessa espécie, que foi reconhecido oficialmente pelo Governo Brasileiro na primeira Farmacopéia Brasileira (Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, 1926). No entanto, esse extrato fluido foi suprimido do segundo volume da Farmacopéia Brasileira (2000) (POHLIT et al., 2006). Também é interessante mencionar que Desmodium®, um chá composto produzido pelo Laboratório Flora Medicinal J.

Monteiro da Silva (Rio de Janeiro-RJ) como produto fitoterápico (indicações: infecção urinária, cistite, uretrite, prostatite, edema), utiliza *P. aduncum* (planta inteira) na sua formulação (atividade antiinflamatória e diurética de *P. aduncum* é citada) e é comercializado por mais de 70 anos segundo dados divulgados pelo fabricante (indicações: infecção urinária, cistite, uretrite, prostatite, edema), utiliza *P. aduncum* (planta inteira) na sua formulação (POHLIT et al., 2006).

5.5. Atividades biológicas de extratos de *P. aduncum* e seus constituintes químicos

Várias classes de compostos têm sido isoladas da espécie *P. aduncum* tais como: derivados prenilados do ácido benzóico, cromenos ou benzopiranos, flavonóides, alcalóides e amidas, monoterpenos e sesquiterpenos e fenilpropanóides (Figura 3 – substâncias **1 a 51**). Diversos trabalhos científicos, principalmente das áreas de química e etnofarmacologia já foram publicados descrevendo pesquisas efetuadas com extratos de *P. aduncum* e substâncias isoladas - ver Quadro 6; de acordo com Pohlit et al., (2006). Nesses trabalhos, foram comprovadas diferentes atividades biológicas para extratos, frações e substâncias ativas isoladas das folhas, frutos e galhos de *P. aduncum*. Dentre as atividades biológicas descritas na literatura para *P. aduncum* pode-se citar: antibacteriana (Gram positivo e Gram negativo, inclusive contra *Neisseria gonorrhoeae*, agente causador da gonorréia), antifúngica (contra *Crinipellis pernicioso*, causador da doença do cacau, a “*vassoura de bruxa*”; além dos fungos patogênicos do trigo, cebola, repolho, banana e outros) (POHLIT et al., 2006).

Outras atividades descritas incluem a antiprotozoária (contra *Leishmania amazonensis*, agente causador da leishmaniose), larvicida (contra a larva de *Aedes* sp., carapanã ou pernilongo), inseticida (contra *Ceratomyia tingomarianus*, *Tribolium castaneum* e *Choristoneura rosaceana*), moluscicida (contra a *Biomphalaria glabrata*, vetor da esquistossomose); bem como a inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. F. sp. *Piperis*, um patógeno que destrói a *Piper nigrum* (POHLIT et al., 2006). Um resumo está apresentado na Quadro 6. A atividade antiproliferativa das substâncias **4 e 16-19**, já foi comprovada *in vitro*. Vale ressaltar que o espectro amplo de atividades antimicrobianas *in vitro* contra as espécies *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*, entre outros, é evidência muito forte para a potencialidade dos extratos, frações e princípios ativos **7, 8, 15, 21, 23 e 27** de *P. aduncum*, aplicados ao tratamento de diversas doenças de pele. Estas atividades *in vitro* são muito relevantes para a validação de remédios utilizados em dermatologia (POHLIT et al., 2006). De acordo com pesquisadores brasileiros da área de química de produtos naturais, as folhas

de *P. aduncum* coletadas na capital do estado do Amazonas, Manaus, Brasil, apresentam altos teores de dillapiol (31,5 – 97,3 %) (princípio ativo **1**, Quadro 6), substância cuja atividade antifúngica, antibacteriana, larvicida, inseticida e moluscicida já foram comprovadas em diversos trabalhos científicos como é apresentado no Quadro 6. Alguns trabalhos demonstraram que o dillapiol (**1**) apresenta sinergismo com pesticidas piretróides (piretrinas) e carbamatos *in vitro*, aumentando sua ação inseticida, sendo estes usados contra moscas de frutos (*Drosophila melanogaster*), larvas de *Aedes aegypti* e besouros da farinha – *Tribolium castaneum*) (POHLIT et al., 2006). O dillapiol, quando formulado com o óleo essencial de *Tanacetum vulgare*, possui efeito fagoestimulante em larvas de *Choristoneura rosaceana* (Lepidóptera), sugerindo que essa substância possa ser misturada com inseticida o natural *Bacillus thuringiensis*, usada contra larvas (POHLIT et al., 2006). Em outros estudos verificou-se que o dillapiol apresenta sinergismo com outras substâncias, aumentando a atividade biológica desses compostos. O dillapiol em combinação com as substâncias gedunina (da classe dos limonóides), agente antimalárico isolado das folhas de *Cedrela odorata* (Meliaceae), e 7-methoxigedunina (semi-sintético) diminui a parasitemia de ratos infectados com *Plasmodium berghei* em testes *in vivo*. Por outro lado, o dillapiol sozinho não tem efeito antimalárico significativo *in vitro*. Além disso, o dillapiol foi usado para prevenir o metabolismo de compostos ativos pelo citocromo P450 e age como potencial inibidor de enzimas no metabolismo de drogas. Esse efeito sinérgico foi mostrado também para derivados semi-sintéticos do dillapiol *in vitro*. Os derivados **43-51** (Figura 8) foram os que apresentaram maior fator de sinergismo contra a espécie *Tribolium castaneum* e larvas de *Aedes atropalpus*. Ainda em relação ao dillapiol, este pode usado como matéria prima para a preparação de derivados semi-sintéticos com atividade frente a larvas adultas de *Aedes aegypti*, vetor da dengue hemorrágica, sendo considerado um forte candidato para o desenvolvimento de bioprodutos.

Descobertas recentes reforçaram que os extratos de *P. aduncum* exibiram atividades antileishmania, antibacteriana, citotóxica e antifúngica (HERRERA-CALDERON et al., 2019). Além disso, compostos isolados de folhas têm se mostrado muito ativos contra promastigotas e amastigotas intracelulares, causando efeitos danosos ao DNA, e possuem atividade antileishmania, antimicrobiana, moluscicida, antitumoral e antifúngica (HERRERA-CALDERON et al., 2019). O extrato etanólico das folhas de *P. aduncum* estudado no município de Dourados, MS, Brasil, revelou atividades antidepressiva e ansiolítica (OESTERREICH et al. 2015). Pesquisadores das Filipinas também demonstraram o potencial antibacteriano do extrato etanólico das folhas de *P. aduncum* ao

incorporá-lo a sabonete líquido para mãos (ORDOYO et al., 2019). O extrato aquoso por sua vez efeito toxicológico sobre *Raoiella indica* em condições de laboratório (PINHEIRO et al., 2020). Os extratos hexânico, diclorometano e etanólico de *P. aduncum* causaram a morte de 100% das larvas de *A. aegypti* (RIDZUAN et al., 2019). Santos et al., (2013) demonstraram que os extratos hexano e etanólico de *P. aduncum* são ativos contra dermatophytes *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale* (SANTOS et al., 2013). Por fim, o extrato metanólico das folhas revelou satisfatória atividade antiinflamatória além da presença de quatro novos flavonoides (THAO et al., 2016).

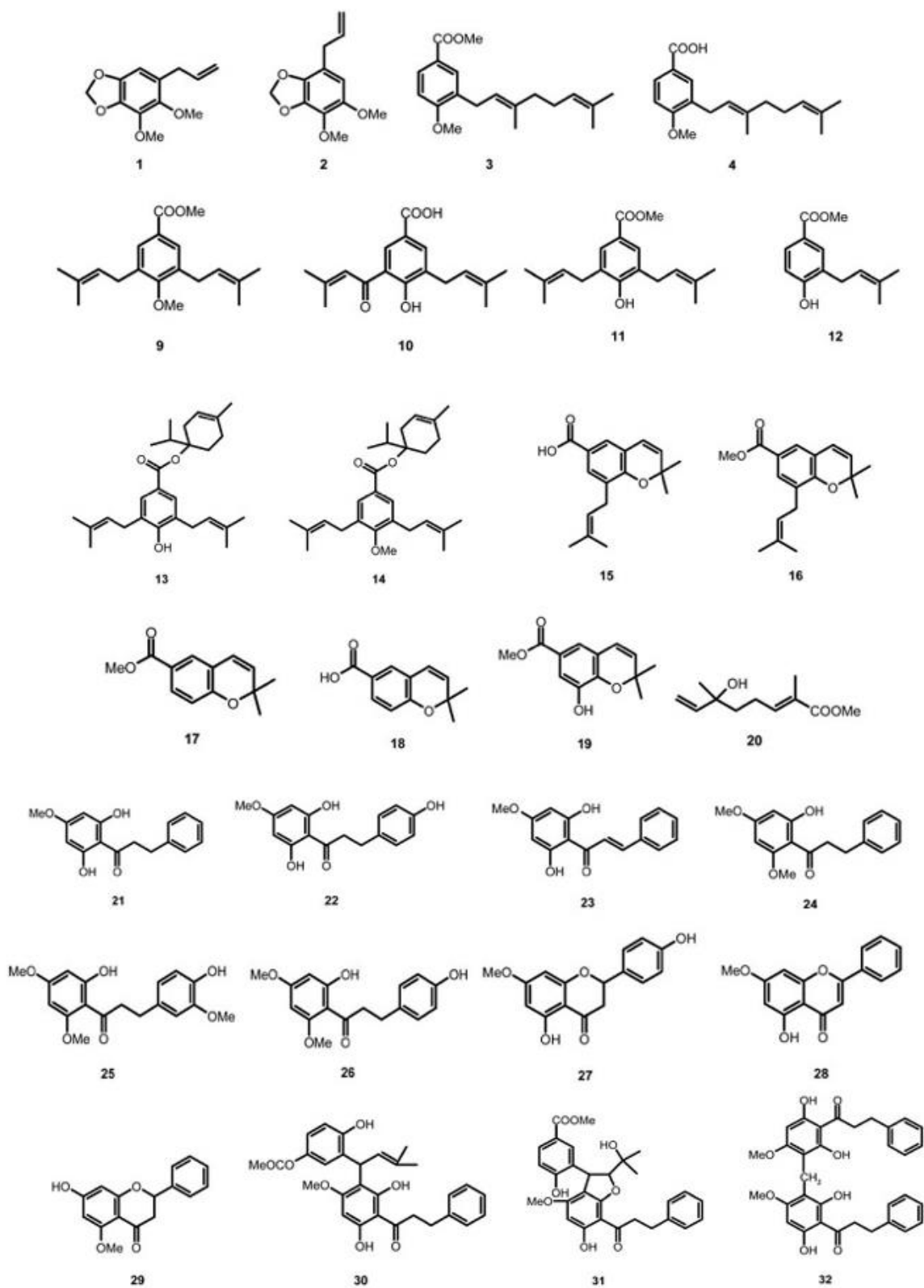


Figura 3: Constituintes químicos isolados de *P. aduncum*:

1: dilapiol (4,5-metile- 1 nodióxi-2,3-dimetóxi-alil-benzeno); 2: pseudo-dila- 2 piol (2,3-

metilenodióxi-4,5- dimetóxi-alil-benzeno); 3: 3-(3',7'-dimetil-2',6'-octa-dienil)-4-metóxi-benzoato de metila; 4: ácido 3-(3',7'-dimetil-2',6'-octa-dienil)-4-metóxi-benzóico; 5: 3-(6'-hidróxi-3',7'-dimetil-2',7'-octa-dienil)-4-metóxi-benzoato de metila; 6: 3-(2'-hidróxi-3'-metil-3'-butenil)-4-hidróxi-benzoato de metila; 7: ácido 4-metóxi-3,5-bis(3'-metil-2'-butenil)-benzóico; 8: ácido nervogênico (ácido 4-hidróxi-3,5-bis(3-metil-2-butenil) benzóico); 9: 3,5-bis(3-metil-2-butenil)-4-metóxi-benzoato de metila; 10: ácido 4-hidróxi-3-(3-metil-2-butenil)-5-(3-metil-2-butenil)-benzóico; 11: 4-hidróxi-3,5-bis(3'-metil-2'-butenil)-11-benzoato de metila; 12: 4-hidróxi-3-(3-metil-2-butenil)-benzoato de metila; 13: 1-(1-metiletil)-4-metil-3-ciclohexenil 3,5-bis(3-metil-2-butenil)-4-hidróxi-benzoato; 14: 1-(1-metiletil)-4-metil-3-ciclohexenil 3,5-bis(3-metil-2-butenil)-4-metóxi-benzoato; 15: ácido 2,2-dimetil-8-(3'-metil-2'-butenil)-2H-cromeno-6-carboxílico; 16: 2,2-dimetil-8-(3'-metil-2'-butenil)-2H-cromeno-6-carboxilato de metila; 17: 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila; 18: ácido 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxílico; 19: 8-hidróxi-2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila; 20: (6S)-2-trans-6- hidróxi-2,6-dimetil-2,7-octadienoato; 21: 2',6'-dihidróxi-4'-metóxi-diidrochalcona; 22: 2',4,6'-trihidróxi-4'-metóxi-diidrochalcona; 23: 2', 6'-dihidróxi-4'-metóxi-chalcona; 24: 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-diidrochalcona; 25: 2',4-dihidroxi-4',6',3-trimetoxi-diidro-chalcona; 26: 2',4-dihidroxi-4',6'-dimetoxi-diidrochalcona; 27: sakuranetina; 28: 5-hidróxi-7-metóxi-flavona; 29: 7-hidroxi-5-metoxi-dihidro-flavona; 30: piperaduncina A (3-(1-[2,4-dihidroxi-6-metóxi-3-(3-fenilpropanoil)-fenil]-3-metil-2- butenil)-4-hidroxi-benzoato de metila); 31: piperaduncina B (4-hidroxi-3-[2,3-dihidro-2-(1-hidroxi-1-metil-etil)-6-hidroxi-4-metóxi-7-(3-fenil-propanoil)-benzo[b]furan-3-il] benzoato de metila); 32: piperaduncina C (bis-[a, b-dihidro-2',6'-dihidroxi-4'-metóxi-chalcona-5'-il] metano).

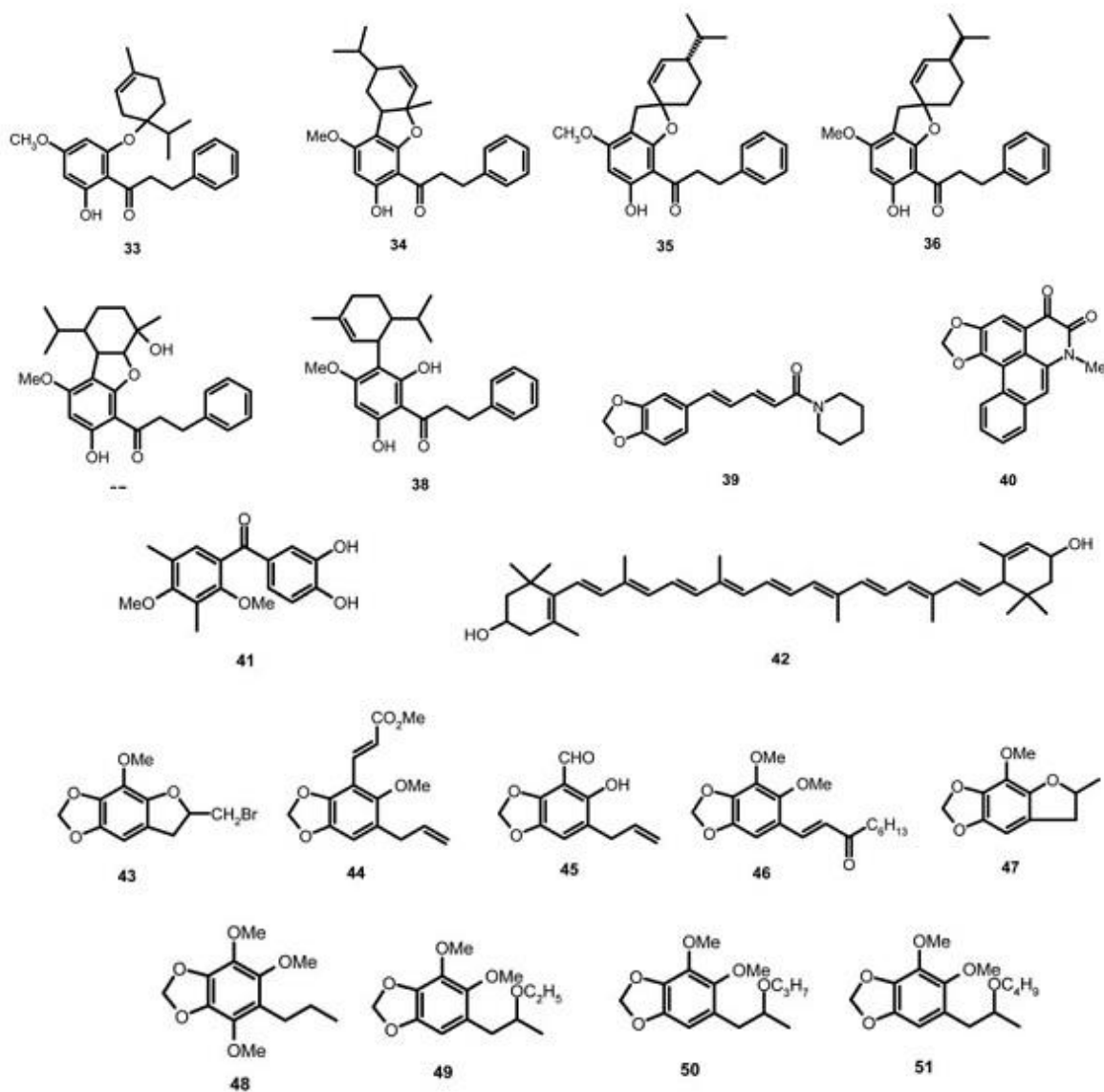


Figura 3: (Continuação). Constituintes químicos isolados de *P. aduncum*:

33: adunctina A (1" S)-1-{2'-hidróxi-4'-metóxi-6'-[4"-metil-1"-(1'"-metiletil)ciclohex-3"-em-1"-ilóxi]fenil}-3-fenilpropan-1-ona); **34:** adunctina B ((5a 34 R*,8R*,9aR*)-3-fenil-1-[5'a,8',9',9'a-tetraidro-3'-hidróxi-1'-metóxi-8'-(1"-metil etil)-5'a-metil-dibenzo[b,d]furan-4'-il]propan-1-ona); **35:** (2R*,4"S*)-1-{6'-hidróxi-4'-metóxi-4"-(1'"-metiletil)spiro[benzo[b]furan-2'-(3'H),1-ciclohex-2"-en]-7'il}-3-fenil-propan-1-ona); **36:** adunctina D ((2' R*,4"R*)-1-{6'-hidróxi-4'-metóxi-4"-(1'"-metiletil)espiro[benzo[b]furan-2'(3'H),1"-ciclohex-2"-en]-7'il}-3-fenil-propan-1-ona); **37:** adunctina E ((5'a 37 R*,6'S*,9'R*,9'aS*)-1-[5'a,6',7',8',9',9'a-hexaidro-3',6'-diidroxi-1'-metóxi-6'-metil-9'-(1"-metiletil)dibenzo[b,d]furan-4'-il]-3-fenilpropan-1-ona); **38:** (-)-metil-lindaretina; **39:** piperina; **40:** cefaradiona; **41:** 3',4'-diidroxi-3,5-dimetil-4,6-dimetoxi-benzofenona; **42:** luteína.

Quadro 6: Atividades biológicas já descritas para *P. aduncum*

Tipo de atividade	Organismo Avaliado	Derivado avaliado
Antibacteriana	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	Extrato alcóolico
	<i>Bacillus cereus</i>	Extrato etanólico
	<i>Bacillus subtilis</i>	Extrato alcoólico, extrato diclorometano, extrato éter de petróleo, princípios ativos 1, 3, 5-15,19, 21-23, 27, 30-32
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Extrato etanólico
	<i>Escherichia coli</i>	Extrato alcoólico, extrato de éter de petróleo, extrato de diclorometano, princípio ativo 19
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Extrato alcoólico
	<i>Micrococcus luteus</i>	Extrato de éter de petróleo, extrato de diclorometano, princípios ativos 5-8, 10, 12, 13, 15, 19, 21, 22, 30-32,34-36, 38
	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Extrato alcoólico, princípios ativos 7, 8,15, 21, 23
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Extrato hidroalcoólico
	<i>Prevotella intermedia</i>	Extrato alcóolico
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Princípios ativos 7, 8, 15, 21, 23
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Extrato alcoólico, princípio ativo 7, 8, 15, 21, 23, 27
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Extrato etanólico
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Extrato etanólico
<i>Streptococcus sanguis</i>	Extrato alcóolico	
<i>Xanthomonas compestris</i>	Princípio ativo 2	

	<i>Xanthomonas carotae</i>	Princípio ativo 2
Antifúngica	<i>Alternaria brassicicola</i>	Princípio ativo 2
	<i>Alternaria chrysanthemi</i>	Princípio ativo 2
	<i>Aspergillus flavus</i>	Extrato alcoólico
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Extrato alcoólico
	<i>Candida albicans</i>	Extrato alcoólico, princípios ativos 7, 8, 15, 21, 23
	<i>Cladosporium herbarum</i>	Princípio ativo 2
	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Princípio ativo 16, 17, 19, 21 e 37
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Princípio ativo 16, 17, 19, 21 e 37
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Extrato alcoólico, princípios ativos 7, 8, 15, 21, 23
	<i>Erysiphe graminis</i>	Princípio ativo 2
	<i>Helminthosporium carbonum</i>	Princípio ativo 2
	<i>Penicillium oxalicum</i>	Extrato de éter de petróleo, princípios ativos 15, 19
	<i>Pyrenochaeta terrestris</i>	Princípio ativo 2
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Extrato alcoólico, princípios ativos 4, 16-19
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Extrato alcoólico
Antioxidante	DPPH	Extrato hidroalcoólico
Antitumoral	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Princípio ativo 4
Antiviral	Poliovírus	Extrato metanólico
Célula KB/carcinoma	<i>Homo sapiens</i> (células humanas)	Extrato de diclorometano, princípios ativos 27, 30, 31, 38
Citotóxica	Murino	Princípio ativo 21, 22

Inseticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Princípio ativo 1
	<i>Ceratomyxa tingomarianus</i>	Princípio ativo 1
	<i>Choristoneura rosaceana</i>	Princípio ativo 1
Inibição da atividade epoxidase	-	Princípio ativo 1
Inibição de citocromo P450 3A4	-	Princípio ativo 1
Larvicida	<i>Aedes atropalpus</i>	Princípio ativo 1
Leishmanicida	<i>Leishmania amazonensis</i>	Princípio ativo 23
	<i>Leishmania braziliensis</i>	Princípio ativo 21, 22
	<i>Leishmania tropica</i>	Princípio ativo 21, 22
	<i>Leishmania infantum</i>	Princípio ativo 21, 22
Moluscicida	<i>Biomphalaria glabrata</i>	Extrato de éter de petróleo, princípios ativos 1, 7-10, 15, 19, 22

5.6. Atividades biológicas de OEs de *P. aduncum* e seus constituintes químicos

Considerando a obtenção de óleos, sua extração é comumente realizada a partir de diferentes partes de uma planta utilizando o método de hidrodestilação, com aparato tipo Clevenger. Neste sistema que aquece o material vegetal em contato com a água destilada em uma manta de aquecimento, ocorre o aumento da temperatura gradativamente, gerando um vapor que contém as substâncias voláteis presentes na planta. Este vapor gerado pelo aumento da temperatura no balão passa, em seguida, por um resfriamento no condensador da vidraria, formando ao final do processo duas fases líquidas que podem ser separadas resultando no óleo essencial (DA SILVA et al., 2018).

O óleo essencial da espécie *P. aduncum*, por exemplo, possui monoterpenos (piperitona) e sesquiterpenos (nerolidol, β -cariofileno) e fenilpropanoide (dillapiol) como constituintes majoritários (RIDZUAN et al., 2019). Estes óleos essenciais afetam a

permeabilidade e funcionamento de membranas dos microorganismos patogênicos, contudo, eles também podem inibir a formação da parede celular, a divisão celular ou os processos de transcrição e tradução (DE OLIVEIRA; RODRIGUES, 2020). Na medicina, os OEs das folhas têm sido utilizados no combate direto e indireto a diversas doenças humanas (DA SILVA et al., 2019). Além disso, OEs têm sido aplicados na agricultura devido a suas atividades inseticida, larvicida, antileishmania, moluscocida, antibacteriana e antifúngica (DA SILVA et al., 2019).

Neste contexto, os óleos essenciais de *P. aduncum* são produtos naturais de amplamente estudados devido a suas altas atividades biológicas contra os mais diferentes alvos biológicos. Muitas das propriedades biológicas de *P. aduncum* EO foram estudadas, por exemplo, sua atividade antibacteriana e antifúngica, que mostrou bons resultados contra os agentes problemáticos de infecções nosocomiais, como *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *S. lentus* (DUROFIL et al., 2021). Da mesma forma, há resultados promissores na prevenção de infecção em pacientes imunocompetentes ou imunocomprometidos por sua atividade contra *Cryptococcus neoformans*. Há também atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antiplaquetárias, entre outras (DUROFIL et al., 2021).

A composição química dos OE nos diferentes estudos mostra principalmente dois grandes grupos: fenilpropanóides e monoterpenos – entre outros. Pode-se citar a presença dos seguintes constituintes no EO de *P. aduncum*: dillapiole, myristicin, carpacin, api-ole, safrole, sarisan and 1,8-cineole (NOR; SYUKRI, 2020). As diferentes classes de metabólitos secundários bioativos conferem as espécies da família Piperaceae excelentes resultados de atividades realizadas *in vitro* e *in vivo*. Um exemplo são as pesquisas que visam estudar seus usos medicinais, fitoquímica e propriedades farmacológicas, da *P. aduncum* (NOR; SYUKRI, 2020).

Quando se fala-se em OEs de *P. aduncum*, o dilapiole foi quase sempre o principal componente caracterizando o óleo, seguido pela miristicina. No entanto, os artigos destacam abundância variável principalmente devido às diferentes condições de crescimento e origens geográficas, que inevitavelmente afetam o perfil qualitativo e quantitativo do fitocomplexo. O dilapiol foi o componente mais citado e o que apresentou as propriedades mais promissoras, mas o importante é que o dilapiole mostrou melhores atividades como componente de todo o OE do que como um composto isolado (PARISE-FILHO et al 2011).

Os OEs de *Piper aduncum* parecem ter propriedades promissoras em termos de atividade inseticida, pois foram testados em uma ampla gama de diferentes insetos e

forneceram resultados positivos. Essas descobertas suportam a possibilidade de descobrir substitutos adequados para inseticidas químicos (DOS SANOTOS et al., 2017). Em suma, atividades promissoras antileishmania, antituberculose e antifúngica (*Aspergillus niger* e *Cladosporium sp.*) também são conhecidas por seus OEs (BERNUCI et al., 2016; WIBAWA et al., 2019). Além disso, os principais constituintes químicos identificados nos OEs de *P. aduncum* são mostrados na Figura 4.

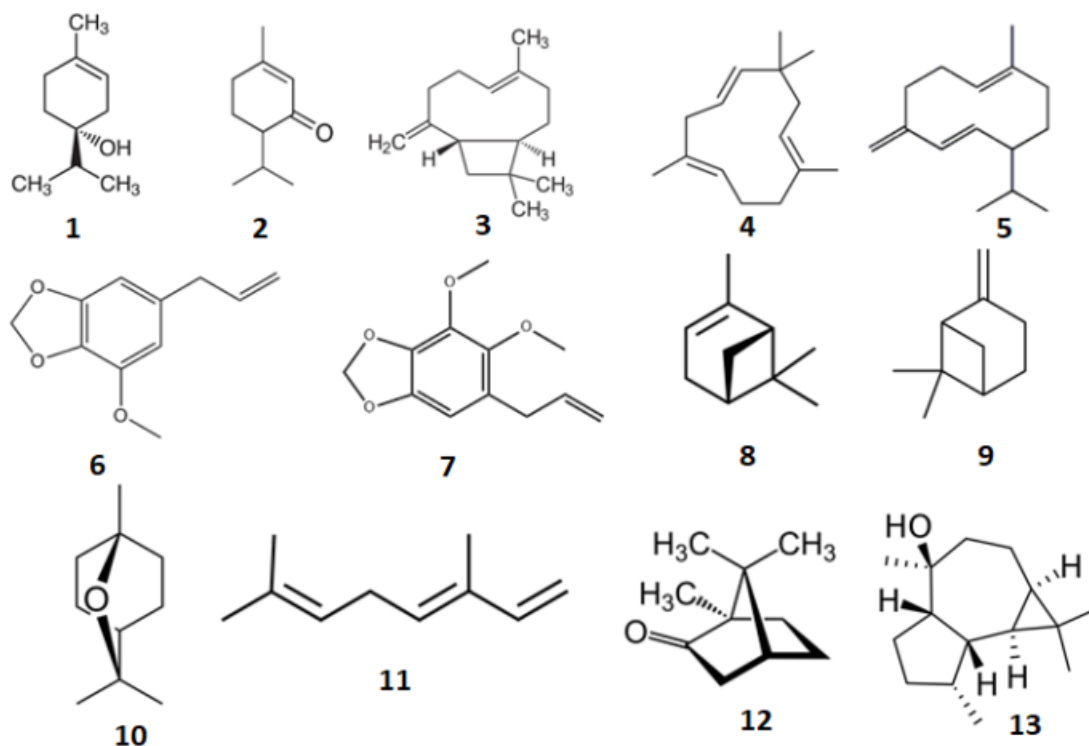


Figura 4. Principais constituintes químicos encontrados nos OEs de *P. aduncum* L.

[1, 2, 5]: terpineno-4-ol (1); piperitona (2); β -cariofileno (3); α -humuleno (4); germacreno D (5); miristicina (6); dilapiole (7); apineno (8); β -pineno (9); 1,8-cineol (10); transocimeno (11); cânfora (12) e viridiflorol (13)

6. CONCLUSÃO

Esta breve atualização temática permitiu concluir que a espécie *P. aduncum* quando estudada por diferentes pesquisadores em várias partes do mundo revelou fortes potenciais químico e biológico. Os extratos vegetais e óleos essenciais desta planta são alvos de incansáveis estudos *in vitro* e *in vivo* devido a riqueza de metabólitos secundários bioativos, como o próprio dillapiole. A diversidade química de substâncias produzidas por esta espécie de Piperaceae é o que justifica sua ampla aplicabilidade biológica destacando-se fortemente suas atividades fungicidas e inseticidas.

Piper aduncum é e continua sendo uma planta promissora, reforçando desta maneira a necessidade de estudos mais aprofundados que revelem os mecanismos de ação que resultam em excelentes atividades biológicas frente aos diversos alvos já descritos na literatura.

7. REFERÊNCIAS

- BARDELLI, Karen Cristina; KIRIZAWA, Mizué; SOUSA, Amélia Vera Guimarães de. O gênero Piper L.(Piperaceae) da Mata Atlântica da Microbacia do Sítio Cabuçu-Proguaru, Guarulhos, SP, Brasil. **Hoehnea**, v. 35, p. 553-561, 2008.
- BERGO, Celso Luis et al. Luz e temperatura na germinação de sementes de pimenta longa (Piper hispidinervum) e pimenta-de-macaco (Piper aduncum). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 170-176, 2010.
- BERNUCI, Karine Zanoli et al. Evaluation of chemical composition and antileishmanial and antituberculosis activities of essential oils of Piper species. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 1698, 2016.
- BRAZAO, Maria Angelica B. et al. Antibacterial activity of the Piper aduncum oil and dillapiole, its main constituent, against multidrug-resistant strains. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, n. 6, p. 517-526, 2014.
- CHAIANA, Fros Magalhes et al. Antimicrobial activity of Piper aduncum leaf extracts against the dental plaque bacteria Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 23, p. 331-337, 2016.
- DA SILVA, Minelly Azevedo et al. Chemical constituents and bioactivities of essential oils from the genus Piper (Piperaceae): a review. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 6, n. 2, p. 776-817, 2019.
- DA SILVA, Vanessa Paula et al. Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Industrial Crops and Products**, v. 123, p. 638-645, 2018.
- DE LIMA MOREIRA, Davyson; PEREIRA, Rudá Antas. Chemodiversity of Essential Oils in Piper L.(Piperaceae) Species from the Restinga of Marambaia Island, Rio de Janeiro-RJ, Brazil. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 5, p. 1203-1215, 2021.
- DE OLIVEIRA, João Arthur dos Santos; RODRIGUES, Deivisson Wolf. 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.
- DOS SANTOS, Thais Lohaine Braga et al. Phytochemical of Piper essential oil and acute toxicity against Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 4, p. 484-489, 2017.

- DUROFIL, Andrea et al. Piper aduncum essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, 2021.
- HERRERA-CALDERON, Oscar et al. Antioxidant and cytoprotective effect of piper aduncum L. against sodium fluoride (NaF)-induced toxicity in albino mice. **Toxics**, v. 7, n. 2, p. 28, 2019.
- LIMA, Alita Moura de et al. Effects of culture filtrates of endophytic fungi obtained from Piper aduncum L. on the growth of Mycobacterium tuberculosis. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 8-8, 2011.
- LUCENA, Daiane C. et al. Biological activity of piper aduncum extracts on anticarsia gemmatalis (hübner)(Lepidoptera: erebidae) and Spodoptera frugiperda (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 1869-1879, 2017.
- MARTÍNEZ-BAUTISTA, Brian Giovanni et al. Traditional uses of the family Piperaceae in Oaxaca, Mexico. **Tropical Conservation Science**, v. 12, p. 1940082919879315, 2019.
- MELO, Aline; ALVES, Marccus. Novos registros de espécies de Piper L.(Piperaceae) em estados da Amazônia brasileira. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 9, n. 1, p. 26-30, 2019.
- MELO, Aline; GUIMARÃES, Elsie Franklin; ALVES, Marccus. Piperaceae do Parque Nacional do Viruá, Caracaraí, Roraima, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, p. 455-470, 2014.
- MONZOTE, Lianet et al. Essential oil from Piper aduncum: Chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 49, 2017.
- NOR, FASYA AJDA MD; SYUKRI, YANDI. Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Properties of Piper aduncum L. **Sains Malaysiana**, v. 49, n. 8, p. 1829-1851, 2020.
- OESTERREICH, Silvia Aparecida et al. Antidepressant and anxiolytic effects of ethanol extracts from four Piper species. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 1, p. 34-42, 2015.
- OLIVEIRA, Gisele L. et al. Chemical study and larvicidal activity against Aedes aegypti of essential oil of Piper aduncum L.(Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 1227-1234, 2013.
- ORDOYO, Alea Ester T. et al. Antibacterial potential of liquid hand soap with Piper aduncum leaf extract. **Int. J. of Life Sciences**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2019.
- PARISE-FILHO, Roberto et al. The anti-inflammatory activity of dillapiole and some semisynthetic analogues. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, n. 11, p. 1173-1179, 2011.

- PARMAR, Virinder S. et al. Phytochemistry of the genus Piper. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.
- PINHEIRO, Esmael Cunha; DE VASCONCELOS, Geraldo José Nascimento. Efeito letal de extratos de piperáceas ao ácaro-vermelho-das-palmeiras, *Raoiella indica*: Acari, Tenuipalpidae. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 3, p. 229-238, 2020.
- POHLIT, Adrian Martin et al. Piper aduncum L.: planta pluripotente e fonte de substâncias fitoquímicas importantes. 2006.
- POTZERNHEIM, Miriam Cristina Leone; BIZZO, Humberto Ribeiro; VIEIRA, Roberto Fontes. Análise dos óleos essenciais de três espécies de Piper coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 246-251, 2006.
- RAPADO, L. N. et al. Molluscicidal and ovicidal activities of plant extracts of the Piperaceae on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Journal of Helminthology**, v. 85, n. 1, p. 66-72, 2011.
- RAPOSO, Andrea et al. Cultivo in vitro de Piper aduncum espécie com potencial econômico da Amazônia Sul-Occidental. **Evidência**, v. 19, n. 2, p. 167-184, 2019.
- RIDZUAN, P. M. et al. The efficacy of Piper aduncum extract as natural larvicides against *Aedes aegypti* larvae. **International Journal of Medical Toxicology & Legal Medicine**, v. 22, n. 1and2, p. 154-159, 2019.
- SALEHI, Bahare et al. Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, p. 1364, 2019.
- SALEHI, Bahare et al. Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, p. 1364, 2019.
- SANTOS, Maximillan Leite et al. Antifungal activity of extracts from Piper aduncum leaves prepared by different solvents and extraction techniques against dermatophytes *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 1275-1278, 2013.
- SANTOS, Thais Silva et al. Influence of drying on the chemical composition and bioactivity of Piper aduncum (Piperaceae) essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e46810817397-e46810817397, 2021.
- THAO, Nguyen Phuong et al. Anti-inflammatory flavonoid C-glycosides from Piper aduncum leaves. **Planta Medica**, v. 82, n. 17, p. 1475-1481, 2016.

TORRES-PELAYO, V. R. et al. A phytochemical and ethnopharmacological review of the genus Piper: as a potent bio-insecticide. **Res. Rev. Res. J. Biol**, v. 2, p. 104-114, 2016.

VALADARES, Anna Carolina F. et al. Essential oils from Piper aduncum inflorescences and leaves: chemical composition and antifungal activity against Sclerotinia sclerotiorum. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 2691-2699, 2018.

VOLPE, Haroldo XL et al. Efficacy of essential oil of Piper aduncum against nymphs and adults of Diaphorina citri. **Pest Management Science**, v. 72, n. 6, p. 1242-1249, 2016.

WIBAWA, I. P. A. H. et al. A study of essential oil from an invasive Piper aduncum L. **Jurnal Biologi Udayana**, v. 23, n. 2, p. 50-58, 2019.

8. CAPÍTULO II: EXTRATOS DE *PIPER ADUNCUM* L. NO CONTROLE ALTERNATIVO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE FITOPATÓGENOS DE INTERESSE AGRONÔMICO

Artigo submetido à revista: **Brazilian Archives of Biology and Technology**

RESUMO

Extratos vegetais de *Piper aduncum* L., (Piperaceae) apresentam várias atividades biológicas, entretanto, poucos relatos são encontrados na literatura sobre suas aplicações no campo da agroquímica. O mofo branco, a antracnose e a podridão mole são doenças de plantas causada pelos fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus stolonifer*, respectivamente. São doenças comuns na produção e pós-colheita de grãos, frutas e hortaliças. Com enfoque agroquímico, esse trabalho objetivou identificar os constituintes voláteis dos extratos hexânicos das folhas (EH-FO) e inflorescências (EH-IN) de *P. aduncum* por GC-MS e GC-FID. Avaliou-se também seus potenciais antifúngicos *in vitro* e *in vivo*. As atividades antifúngicas *in vitro* foram avaliados por dois métodos: método de difusão em disco (DDM) e teste de folha destacada. O teste *in vivo* foi conduzido em casa de vegetação utilizando plantas de soja com quinze dias de idade. Os constituintes majoritários identificados no EH-FO foram: germacreno B (33.1%), valenceno (14.5%) e β -cadineno (9.1%). No EH-IN identificou-se majoritariamente os constituintes: oxido de cariofileno (20.5%), espatulenol (15.2%) e germacreno B (9.7%). Todos os extratos avaliados revelaram maior eficiência na inibição do fungo *Rhizopus stolonifer*. Com isso, os extratos hexânicos de *P. aduncum* são promissores para produção de um antifúngico natural visando a redução do uso de agroquímicos sintéticos.

Palavras-chave: Extratos vegetais bioativos; Agroquímica orgânica; Controle alternativo; Bioprodutos.

ABSTRACT

Plant extracts of *Piper aduncum* L., (Piperaceae) have several biological activities, however, few reports are found in the literature about their applications in the field of agrochemistry. White mold, anthracnose and soft rot are plant diseases caused by the phytopathogens *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer*, respectively. They are common diseases in the production and post-harvest of grains, fruits and vegetables. With an agrochemical focus, this work aimed to identify the volatile constituents of the hexane extracts of leaves (EH-FO) and inflorescences (EH-IN) of *P. aduncum* by GC-MS and GC-FID. Its antifungal potentials *in vitro* and *in vivo* were also evaluated. The *in vitro* antifungal activities were evaluated by two methods: disk diffusion method (DDM) and detached sheet test. The *in vivo* test was conducted in a greenhouse using 15-day-old soybean plants. The major constituents identified in EH-FO were: germacrene B (33.1%), valencene (14.5%) and β -cadinene (9.1%). In the EH-IN, the main constituents were identified: caryophyllene oxide (20.5%), spathulenol (15.2%) and germacrene B (9.7%). All evaluated extracts showed greater efficiency in inhibiting the fungus *Rhizopus stolonifer*. Thus, the hexanic extracts of *P. aduncum* are promising for the production of a natural antifungal aimed at reducing the use of synthetic agrochemicals.

Keywords: Bioactive plant extracts; Organic agrochemistry; Alternative control; Bioproducts.

8.1. INTRODUÇÃO

Extratos vegetais são produtos naturais extraídos de plantas e que possuem um amplo espectro de atividades biológicas. Podem inclusive serem usados no combate de doenças agrícolas por serem menos tóxicos, biodegradáveis, mais seguros ao meio ambiente e com capacidade de proteger culturas do ataque de patógenos (BRITO; NASCIMENTO, 2015). Logo, são alternativas sustentáveis para a substituição parcial ou total de diversos agroquímicos sintéticos considerados tóxicos (BRITO; NASCIMENTO, 2015). Nesse contexto, a espécie *Piper aduncum* L., se destaca como uma planta promissora para uso no campo da agroquímica, uma vez que possui notáveis aspectos químico e biológico diretamente relacionados aos seus óleos essenciais e extratos botânicos (MORAIS et al., 2023).

A *Piper aduncum* L., popularmente chamada de pimenta-de-macaco, é uma planta da família Piperaceae, nativa de zonas tropicais, sendo encontrada em biomas como Amazônia, Cerrado e Pampa (MORAIS et al., 2023). Extratos vegetais e óleos essenciais dessa planta já demonstraram anteriormente atividades antileishmania, antibacteriana, citotóxica e antifúngica (MORAIS et al., 2023).

Nessa perspectiva biológica, acredita-se no forte potencial de *P. aduncum* no controle de fungos agrícolas utilizando seus extratos contra fungos como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus stolonifer*. Estes fungos por sua vez são agentes causais de doenças severas em plantas, frutas e hortaliças, como o mofo branco na soja, doença provocada pelo *S. Sclerotiorum* (TOIGO, FERNANDES, MIRANDA, 2022). A antracnose é provocada pelo *C. Gloeosporioides* e a podridão mole em pós-colheita causada pelo *R. Stolonifer*. Esses fungos provocam sérios prejuízos a várias culturas e levam a perdas na produção, armazenamento, transporte e comercialização (TOIGO, FERNANDES, MIRANDA 2022; VALADARES et al., 2020).

Considerando que o controle de doenças de plantas ainda depende muito do uso de fungicidas sintéticos tóxicos, objetivou-se com esse estudo identificar os constituintes químicos voláteis presentes nos extratos hexânicos das folhas e inflorescências de *P. aduncum* por GC-MS e GC-FID (i). Avaliar suas atividades antifúngicas in vitro contra os fungos *S. sclerotiorum*, *C. gloeosporioides* e *R. stolonifer* (ii). E por fim, testar a atividade antifúngica in vivo de ambos extratos hexânicos na cultura da soja visando o controle do mofo branco (*S. sclerotiorum*) (iii).

9. MATERIAL E MÉTODOS

9.1. Material vegetal

Folhas e inflorescências de *P. aduncum* L., foram coletadas no dia 10 de fevereiro de 2022 às 9h, no município de Rio Verde, Goiás, em uma área de proteção ambiental com coordenadas -17.799447, -50.912033, e levadas para o Laboratório de Química e Produtos Naturais do IF Goiano Campus - Rio Verde. A planta foi identificada e possui uma amostra no Herbário Jataiense Professor Germano Guarim Neto com a excicata número HJ 7872. O acesso ao material botânico foi aprovado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o código AEACDCA.

9.2. Preparação dos extratos hexânicos

A preparação dos extratos hexânicos foi feita utilizando 300 gramas de folhas secas e 300 gramas de inflorescência secas de *P. aduncum* que foram selecionadas, lavadas e secas em estufa de circulação forçada por 72 horas, em seguida foram moídas em moinho Wiley para diminuição da granulometria. Após esses processos, foram colocadas em balões de fundo chato e adicionados 1000 mL de hexano PA (C₆H₁₄). O contato entre o solvente e a matéria-prima foi mantido durante quatro dias à temperatura ambiente (26°C), protegido da luz e com agitação diária. A mistura resultante da extração foi separada por filtração utilizando papel filtro, seguida por evaporação do solvente em evaporador rotativo sob pressão reduzida (RIBEIRO et al., 2020). Após este processo, obteve-se os extratos hexânicos de consistência xaroposa (14 g para as folhas e 6 g para as inflorescências).

9.3. Identificação dos constituintes voláteis dos extratos hexânicos

Extratos hexânicos foram dissolvidos em éter etílico e analisados por cromatografia gasosa-detecção de ionização de chama (GC-FID) e cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) com o uso de Shimadzu QP5000 Plus e GCMS2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) sistemas. A temperatura da coluna em GC-FID foi programada para subir de 60 a 240°C a 3°C/min e foi mantida a 240°C por 5 min; o gás de arraste era H₂ a uma taxa de fluxo de 1,0 mL/min. O equipamento foi configurado para operar no modo injeção; o volume de injeção foi de 0,1 µL (razão de divisão de 1:10); e as temperaturas do injetor e do detector foram de 240 e 280°C, respectivamente. As

concentrações relativas dos componentes foram obtidas normalizando as áreas dos picos (%). As áreas relativas consistiram na média de análises triplicadas de GC-FID. As condições de GC-MS e a identificação foram relatadas anteriormente (CABRAL et al., 2022). A identificação dos componentes voláteis dos extratos hexânicos (Tabela 1) foi baseada em seus índices de retenção em uma coluna capilar Rtx-5MS (30 m X 0,25 mm; 0,250 µm) nas mesmas condições operacionais usadas para GC em relação a uma série homóloga de n- alcanos (C8-C20). As estruturas foram comparadas por computador com Wiley 7, NIST 08 e FFNSC 1.2 e seus padrões de fragmentação foram comparados com dados da literatura (ADAMS 2007).

9.4. Cepas fúngicas

Os fungos fitopatogênicos *S. sclerotiorum* e *R. stolonifer* foram adquiridos no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal Goiano-Campus Rio Verde. O fungo *C. gloeosporioides* foi isolado no Laboratório de Fitopatologia do IF Goiano-Campus Rio Verde, a partir de mamão contaminado.

9.5. Atividade antifúngica de EH-FO e EH-IN in vitro pelo método da difusão do disco

Foi preparada uma solução padrão utilizando-se 4 g de extrato vegetal e 10 mL de acetato de etila, obtendo-se a concentração 1 (C1 - 0,4 g/mL ou 400 ppm). 8 mL da solução padrão foram adicionados em um tubo de ensaio (C1) para obter a concentração 2 (C2 - 0,2 g/mL ou 200 ppm). 4 mL de acetato de etila e 4 mL da concentração 1 (C1) foram colocados em outro tubo de ensaio com agitação para diluição completa e obtenção da concentração 3 (C3 - 0,1 g/mL ou 100 ppm). A concentração 4 (C4 - 50 ppm) foi resultante da adição de 4 mL de acetato de etila e 4 mL da concentração 3, que posteriormente foi misturado em um novo tubo de ensaio. A concentração 5 (C5 - 0,025 g/mL ou 25 ppm) foi feita a partir da diluição de 4 mL de acetato de etila e 4 mL da concentração 4. Como controle do experimento, foi utilizado o acetato de etila (B - 0 ppm), além da testemunha sem aplicação de nenhum material (T). Os ensaios biológicos foram realizados na câmara de fluxo do Laboratório de Fitopatologia do IF Goiano - Campus Rio Verde. As placas de Petri foram previamente esterilizadas em autoclave e preparadas com meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar). Nas placas, foram adicionados 0,50 µL das soluções diluídas, distribuídos com auxílio de uma alça de Drigalski na superfície de toda a placa. Posteriormente, foram depositados discos de 5 mm de diâmetro de meio BDA contendo

micélio de cada fungo no centro da placa. As placas foram armazenadas em BOD a 21°C até o crescimento dos fungos seguindo a metodologia descrita por Rezende et al., (2020). As medidas de crescimento foram finalmente medidas após o completo crescimento dos fungos nas placas controle (após 7 dias). O percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) foi calculado usando a seguinte fórmula (REZENDE et al., (2020):

$$PIC (\%) = \frac{(\text{crescimento do controle} - \text{crescimento do tratamento})}{\text{crescimento do controle}} \times 100$$

9.6. Atividade antifúngica de EH-FO e EH-IN *in vitro* no testa da folha destacada

O teste da folha destacada foi realizado de acordo com a metodologia de Gabardo et al., (2020) com algumas adaptações. Folhas das plantas de soja foram destacadas e colocadas em placa de Petri com papel de filtro e água para manter a umidade. Após isso as folhas foram inoculadas com discos de 5 mm de diâmetro da cultura do fungo *S. sclerotiorum* crescido em meio BDA por 4 dias, e foram incubadas em câmara de germinação a 22 ± 3 °C por 24 horas com fotoperíodo de 12 horas em uma incubadora de BOD. Passado o período de incubação, as folhas de soja foram aspergidas com seus respectivos tratamentos experimentais. Foi preparadas as soluções dos extratos hexânicos com: água destilada, acetato de etila e twiin 80 para a redução da toxicidade sobre as folhas da soja. As soluções com as concentrações mais ativas foram EH-FO (C1 - 0,4 g/mL e C2 - 0,2 g/mL) e EH-IN (C1 - 0,4 g/mL e C2 - 0,2 g/mL) respectivamente. Além do uso dos tratamentos: controle (B – 0 g/mL) e testemunha, sem a aplicação de tratamento (T). Logo após a aspersão, dos tratamentos, as placas de Petri foram novamente incubadas à temperatura de 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas na BOD, sendo que a primeira avaliação foi realizada após 12h de incubação e continuou até o crescimento total da testemunha. A formação da lesão foi mensurada com auxílio de um paquímetro digital.

9.7. Delineamento e Estatística dos Testes *in vitro*

Usou-se no experimento o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial, que consistiu em: dois tipos de extratos de *P. aduncum* (folhas e inflorescências); três espécies de fungos (*S. sclerotiorum*, *C. gloeosporioides* e *R. stolonifer*); Sete tratamentos, que consistiram em diferentes concentrações dos extratos hexânicos. As concentrações foram obtidas a partir da diluição do extrato vegetal (EV) em acetato de etila PA., sob esquema de diluição seriada com as concentrações: 0,4; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025 g/mL, o solvente acetato de etila (branco) e a testemunha com 5 repetições por

tratamento, perfazendo 210 unidades experimentais ($2 \times 3 \times 7 \times 5 = 210$). Os dados de percentual de inibição do crescimento micélio, foram submetidos a teste de normalidade no qual pôde-se verificar a distribuição normal dos parâmetros avaliados. Para a estatística descritiva, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com uso Teste de Tuckey ($p < 0,05$) além do software R Core Team 8.0. Os resultados foram expressos na forma de tabelas.

9.8. Teste antifúngico *in vivo* em plantas de soja

Plantas de *Glycine max* ciclo superprecoce Cultivar Foco foram cultivadas em sacos plásticos de 2 kg contendo como substrato areia com NPK (4-30-16), e foram mantidas em casa de vegetação a temperatura ambiente com fotoperíodo de 12 horas pelo período de 15 dias com irrigação manual. Foi utilizada a metodologia de Garcia et al., (2015), as plantas de soja com 15 dias de idade foram levadas para o Laboratório de Química e Produtos Naturais do Instituto Federal Goiano para a inoculação do fungo em nas folhas de soja. A inoculação se deu com a inserção de discos com 7 mm de diâmetro da cultura do fungo crescido em meio BDA por 4 dias na porção adaxial de folhas. Após a inoculação as plantas foram mantidas em $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ com 90% de umidade e fotoperíodo de 12 horas, por 24 horas para o crescimento inicial do fungo. Passada as 24h as plantas de soja foram tratadas com as solução dos extratos mais ativos, que foram preparadas com mesma metodologia do teste da folha destacada. As concentrações mais ativas foram: EH-FO (C1 - 0,4 g/mL e C2 - 0,2 g/mL) e EH-IN (C1 - 0,4 g/mL e C2 - 0,2 g/mL), além dos seguintes tratamentos: controle (B - 0 g/mL) e da testemunha (T). Logo após a aplicação dos tratamentos por aspersão com uso de borrifador manual, as folhas foram mantidas a $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ com 90% de umidade e fotoperíodo de 12 horas. As áreas das lesões foram mensuradas com um paquímetro digital após 24h da aplicação dos tratamentos até o crescimento total do fungo nas folhas das plantas do controle negativo.

9.9. Análise estatística dos testes *in vivo*

Os experimentos dos testes da folha destacada e da soja *in vivo* foram montados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial. Constituído de seis tratamentos: controle, testemunha e as 4 concentrações mais ativas de EH-FO e EH-IN, com cinco repetições por tratamento, perfazendo 60 unidades experimentais tanto para o teste da folha destacada quanto para o teste antifúngico *in vivo* em soja ($2 \times 6 \times 5 = 60$). Os dados dos percentuais de inibição do crescimento micelial (PIC), foram submetidas ao

mesmo teste de normalidade (Shapiro-Wilk) (CARVALHO NETO et al., 2023).

10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os constituintes voláteis de EH-FO e EH-IN foram identificados por GC-FID e GC-MS. O total de constituintes identificados em EH-FO e EH-IN foram de 96.9% e 91.8%, respectivamente. Os compostos majoritários de EH-FO foram: germacreno B (33.1.2%), valenceno (14.5%) e β -cadineno (9.1%) (Tabela 1). Outros três constituintes majoritários foram identificados em EH-IN sendo eles: oxido de cariofileno (20.5%), espatulenol (15.2%) e germacreno B (9.7%) (Tabela 1).

Tabela 1: Constituintes voláteis identificados (EH-FO) e de *Piper aduncum* (EH-IN) (Piperaceae).

Composto	RT (min)	RI _{exp}	RI _{lit}	% RA	
				EH-FO	EH-IN
α -cubebeno	33.57	1350	1351	0.9	8.2
β -elemeno	34.59	1373	1375	1.9	2.3
Isoledeno	34.76	1376	1377	0.5	—
β -cubebeno	35.33	1389	1390	6.5	—
β -cariofileno	36.43	1416	1418	—	3.7
γ -elemeno	36.78	1425	1423	5.0	—
Aromadendreno	37.10	1438	1439	2.1	1.0
α -selineno	37.71	1449	1451	—	2.6
α -humuleno	37.94	1455	1455	8.1	—
Aloaromadendreno	38.12	1459	1460	—	6.0
β -Cadineno	38.58	1471	1472	9.1	5.2
γ -muuroleno	38.76	1475	1476	1.3	1.0
β -selineno	38.88	1483	1485	6.8	—
Valenceno	39.38	1491	1491	14.5	6.4
Biciclogermacreno	39.56	1493	1493	2.9	3.5
α -Cadineno	41.15	1537	1538	1.0	—
Germacreno B	41.95	1559	1560	33.1	9.7
Espatulenol	42.48	1574	1575	—	15.2
Oxido de Isoaromadendreno	42.71	1578	1579	—	2.0
Oxide de cariofileno	42.89	1583	1581	0.8	20.5
Viridiflorol	43.16	1589	1590	0.6	—
Epoxido de Humuleno	43.93	1610	1609	—	0.9
Isospatulenol	44.23	1630	1631	1.8	—
α -muurolol	45.19	1645	1645	—	1.1
Oxido de Aromadendreno	45.91	1667	1668	—	1.8
Oxido Aloaromadendreno	47.03	1696	1697	—	0.7
<i>Sesquiterpenos Hidrocarbonetos</i>				93.7	49.6
<i>Sesquiterpenos Oxigenados</i>				3.2	42.2

Total**96.9 91.8**

RT: Tempo de retenção; **RI_{exp}**: Índice de retenção determinado em relação aos n-alcenos (C8– C20) na coluna Rtx-5MS; **RI_{lit}**: Índice de retenção da literatura (Adams, 2007); **%RA**: Abundância relativa. Números em negrito, representam os constituintes majoritários dos extratos hexânicos.

Os resultados deste estudo divergem dos obtidos por Lucena et al., (2017) que demonstrou em sua análise por GC-MS que o extrato hexânico das folhas de *P. aduncum* era composto majoritariamente por apiole (90.7%). Chama-se a atenção para o fato de que este fenilpropanoide, o apiole, não foi identificado em EH-FO nem no EH-IN de *P. aduncum* ocorrente no Cerrado goiano. Em estudo realizado por Santos e colaboradores (2013) é relatado que os constituintes majoritários do extrato hexânico de *P. aduncum* foram: cariopileno, α -calacoreno, γ -elemeno, cis- γ -elemeno, germacreno D, linalol, oxido de linalol, nerolidol, β -elemeno, δ -cadineno, α -cariofileno e falcarinol. A presença ou não de alguns constituintes químicos em diferentes extratos de *P. aduncum* pode ser explicada pela ação de fatores como solo, sazonalidade, tempo de colheita, preparo do material e a parte da planta utilizada (OLIVEIRA SOUZA et al., 2020).

As diferentes concentrações de EH-FO, contra os fungos *S. sclerotiorum*, *C. gloeosporioides* e *R. stolonifer*, apresentaram baixo coeficiente de variação nos testes estatísticos. Os tratamentos com as maiores concentrações - 0,4 e 0,2 g/mL - tratamentos C1 e C2 respectivamente, não diferiram estatisticamente entre si, e apresentaram os maiores valores médios de inibição contra os três fungos avaliados. O fungo *R. stolonifer* apresentou maior inibição com valores médios acima de 80% nas maiores doses (C1 e C2). O *S. sclerotiorum* apresentou menores valores de inibição em todos os tratamentos, não alcançando os 50% de inibição micelial. Para o fungo *C. gloeosporioides* o resultado mais expressivo foi na concentração C1 atingindo 80.73% de inibição. Ademais, o controle (B) e testemunha (T) foram iguais estatisticamente não havendo inibição fúngica (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antifúngica *in vitro* de EH-FO pelo método da difusão do disco.

Fungos	% de inibição						
	C1	C2	C3	C4	C5	B	T
SSC	48.02 b	43.53 c	17.88 c	8.18 a	0.0 b	0.0 a	0.0 a
RST	94.42 a	93.78 a	73.87 a	74.03 a	61.64 a	0.0 a	0.0 a
CGL	80.73 c	67.78 b	63.78 b	17.28 b	0.0 b	0.0 a	0.0 a

*Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0,005$). SSC: *S. sclerotiorum*. RST: *R. stolonifer*. CGL: *C. gloeosporioides*

Nos testes com EH-IN, as concentrações 0,4 e 0,2 g/mL, tratamentos (C1) e (C2), não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram maiores valores médios de inibição fúngica. EH-IN conseguiu inibir em 100% o crescimento de *S. Sclerotiorum* (Tabela 3). Contra o fungo *C. gloeosporioides* o melhor resultado de inibição foi obtido em C1 com 80.73%, valor igual ao demonstrado por EH-FO. É notável que EH-IN demonstrou-se mais eficiente contra *R. stolonifer*, por apresentar inibição acima de 60% até em menor concentração 0,05 g/mL (C4), Tabela 3. É digno de nota mencionar que Ademais, nos tratamentos: controle (B) e a testemunha (T), os fungos tiveram desenvolvimento pleno, reforçando que o acetato de etila não interferiu nos resultados dos testes *in vitro*.

Tabela 3. Atividade antifúngica *in vitro* de EH-IN pelo método da difusão do disco.

Fungos	% de inibição						B	T
	C1	C2	C3	C4	C5			
SSC	100 a	100 a	53.65 a	46.62 b	36.62 a		0.0 a	0.0 a
RST	89.60 b	83.73 b	73.04 a	69.40 a	0.0 b		0.0 a	0.0 a
CGL	80.73 c	67.56 c	63.78 b	17.28 c	0.0 b		0.0 a	0.0 a

*Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0,005$). SSC: *S. sclerotiorum*. RST: *R. stolonifer*. CGL: *C. gloeosporioides*

Os resultados obtidos neste estudo com EH-FO e EH-IN são condizentes e complementam o estudo realizado por Valadares e seus colaboradores (2020), no qual os óleos essenciais das folhas e inflorescências de *P. aduncum* foram altamente ativos contra *S. sclerotiorum*. Os extratos hexânicos e óleos essenciais são hidrofóbicos e este fator facilita sua permeabilidade pela membrana celular levando à morte celular pela perda de íons e materiais celulares, conseqüentemente inviabilizando o desenvolvimento fúngico (TOIGO, FERNANDES, MIRANDA, 2022). Outro aspecto que pode explicar a melhor atividade antifúngica de EH-IN é a sua maior concentração do constituinte químico óxido de cariofileno (20.5%), um poderoso antifúngico *in vitro* contra fitopatógenos (SIVANANDHAN et al., 2018). EH-IN apresenta o sesquiterpeno espatulenol (15.2%) enquanto no EH-FO não foi identificado. A presença do espatulenol também pode reforçar a melhor atividade do EH-IN quando comparado ao EH-FO, uma vez que este constituinte químico possui promissor potencial antimicrobiano (CAZELLA et al., 2019). Em adição,

ressalta-se também a existência das interações sinérgicas entre todos os constituintes químicos de EH-FO e EH-IN que juntos puderam favorecer a inibição micelial dos fungos testados (SILVA et al. 2019).

Nos bioensaios realizados no teste da folha destacada de plantas de soja (*Glycine max*) com EH-FO e EH-IN, os tratamentos com as maiores doses dos extratos (C1 e C2) inibiram significativamente a formação de necrose em folhas com 5 dias após inoculação dos discos contendo o fungo escolhido, o *S. sclerotiorum* (Figura 1). O EH-FO apresentou alta viscosidade, menor efetividade e versatilidade na aplicação em relação ao EH-IN. Os tratamentos sem extratos utilizando apenas o controle (B) e testemunha (T) apresentaram alto grau de dano ao tecido foliar por conta da contaminação acelerada pelo fungo, sendo possível visualizar com facilidade os micélios fúngicos. Os resultados estatísticos dos testes da folha destacada podem ser conferidos na Quadro 7.

Quadro 7. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de EH-FO e EH-IN contra *S. sclerotiorum* pelo teste da folha destacada

% de inibição	
<i>S. sclerotiorum</i>	
EH-FO [C1]	43.86 c
EH-FO [C2]	51.01 b
EH-IN [C1]	99.07 a
EH-IN [C2]	98.96 a
B	0.0 d
T	0.0 d

*Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0,005$). SSC: *S. sclerotiorum*. RST: *R. stolonifer*. CGL: *C. Gloeosporioides*. [C1] e [C2]: maiores concentrações usadas nos testes.



Figura 5. Folhas de soja no teste da folha destacada com aplicação dos extratos mais ativos 5 dias após inculadas com o fungo do mofo branco. 1: folha sem tratamento. 2: folha pulverizada com EH-IN na concentração C2. 3: folha pulverizada com EH-IN na concentração C1.

Observou-se o baixo percentual de inibição do crescimento micelial em 43% (C1) e 51% (C2) de EH-FO, enquanto nas concentrações C1 e C2 de EH-IN obteve-se resultados expressivos, superiores a 98% revelando seu alto controle do fungo *S. sclerotiorum*. Este dado revela o potencial fungicida promissor de EH-IN. Pode-se observar que os ensaios em folhas destacadas são bastante promissores no sentido de determinar a eficiência de extratos no controle de doenças, uma vez que as condições oferecidas para o patógeno colonizar a planta como temperatura e umidade elevadas são ótimas favorecendo a expressão máxima da doença nos tecidos da planta. Isso pode ser constatado nos trabalhos realizados por Fonseca et al., (2020) que demonstrou que as doenças causadas pelos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* foram satisfatoriamente controladas em folhas destacadas, uma vez que os extratos avaliados foram tão ativos quanto o fungicida comercial utilizado.

Para os testes *in vivo* na soja foi observada pouca diferença em números percentuais de inibição fúngica em relação ao teste da folha destacada. A aplicação de EH-IN em plantas de soja demonstrou efetiva inibição do crescimento do *S. sclerotiorum* (superior a 97%; Tabela 8), além disso não foi observada a formação de áreas necrosadas ou doentes (Figura 6). Observa-se na Figura 6 que a planta controle foi totalmente consumida pelo mofo branco enquanto a planta tratada com EH-IN na concentração C1 preservou suas estruturas majoritariamente saudáveis. HE-FO exibiu fraca atividade inibitória com valores de 40.42% (C1) e 42.33% (C2), Quadro 8. O controle (B) mostrou que o solvente usado para diluição dos extratos não interferiu no crescimento do fungo.

Quadro 8. Atividade inibitória *in vivo* de EH-FO e EH-IN contra *S. sclerotiorum* em plantas de soja

% de inibição	
<i>S. sclerotiorum</i>	
EH-FO [C1]	40.42 b
EH-FO [C2]	42.33 b
EH-IN [C1]	98.84 a
EH-IN [C2]	97.54 a
B	0.0 c
T	0.0 c

*Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0,005$). SSC: *S. sclerotiorum*. RST: *R. stolonifer*. CGL: *C. gloeosporioides*. [C1] e [C2]: maiores concentrações usadas nos testes



Figura 6. Plantas de soja acometidas com inóculo do fungo *S. sclerotiorum* nos tramentos: testemunha (a esquerda) e concentração C1 (a direita) de EH-IN.

Os testes *in vitro* e *in vivo* comprovaram a ação fungicida promissora de EH-IN contra o fungo causador da doença mofo branco na soja. Sugere-se que a viscosidade e a consistência xaroposa de EH-FO possa ter interferido negativamente nos resultados dos testes realizados. Em adição, a variação da inibição fúngica em função da concentração dos extratos hexânicos demonstrou uma relação de dependência entre as concentrações dos produtos naturais e a inibição de fungos agrícolas. Em se tratando de extratos vegetais, a literatura descreve que quanto maior a concentração de metabólitos secundários bioativos e a sinergia entre esses compostos a propriedade fungitóxica de extratos pode ser consideravelmente potencializada (VILAMIL et al., 2021).

Por outro lado, é importante ressaltar que, testes *in vivo* em plantas estão sujeitos a respostas biológicas, da própria planta contra os fitopatógenos. As plantas possuem mecanismos de defesa quando acometidas por patógenos e começam a responder imediatamente através da produção de substâncias específicas como forma de defesa e resistência, levando ao abortamento de estruturas lesionadas ou contaminadas (STANGARLIN et al., 2011). Contudo, estudos com extratos vegetais que visam o controle de fungos que acometem plantas são importantes no campo da agroquímica, pois permitem vias alternativas, sustentáveis e menos tóxicas para o uso por produtores da agricultura familiar ou produtores de cultivo orgânico (VILAMIL et al., 2021).

11. CONCLUSÃO

Os compostos majoritários em EH-FO foram: germacreno B, valenceno e β -cadineno. Outros três constituintes majoritários foram identificados em EH-IN sendo eles: oxido de cariofileno, espatulenol e germacreno B. Nas condições em que foram realizados os experimentos biológicos, pode-se concluir que o EH-IN apresenta melhor ação inibitória no crescimento micelial do fungos avaliados, enquanto EH-FO revelou baixa atividade nos testes *in vitro* e *in vivo*. EH-IN mostrou-se altamente ativos em todos os testes feitos. Em suma, este estudo contribui para pesquisas futuras com a espécie *P. aduncum* e para o desenvolvimento de defensivos agrícolas naturais envolvendo compostos bioativos obtidos de plantas.

12. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMA, a FAPEG ao CNPq e ao IF Goiano da pela concessão de bolsas e recursos para a realização desta pesquisa.

13. REFERÊNCIAS

- ADAMS RP 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass.
- BRITO, N. M.; NASCIMENTO, L. C. Potencial fungitóxico de extratos vegetais sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) Meyer in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 230-238, 2015.
- CABRAL, Fabisleine Vieira et al. Extrato de hexano de *Tradescantia pallida* (Rose) DR Hunt (Commelinaceae): seus constituintes voláteis e atividades antifúngicas e citotóxicas in vitro. *Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia* , v. 65, 2022.
- CARVALHO NETO, Severino et al. Controle de *Colletotrichum* spp. em maracujazeiro amarelo com elicitores de resistência. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 11, n. 1, 2023.
- CAZELLA, Luciane Neris et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) aerial parts at flowering period. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 27, 2019.
- FONSECA, A. S. et al. Extratos vegetais do gênero capsicum com potencial atividade antifúngica contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. 2020.
- GABARDO, Gislaine et al. Método da folha destacada para avaliação da indução de resistência de produtos alternativos a *Phakopsora pachyrhizi*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* em soja. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 43847-43862, 2020.
- GARCIA, Riccely Ávila et al. Métodos de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* para triagem de cultivares de soja resistentes ao Mofo-branco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 726-729, 2015.
- LUCENA, Daiane C. et al. Atividade biológica de extratos de *Piper aduncum* sobre *antarsia gemmatalis* (hübner) (Lepidoptera: erebidae) e *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências** , v. 89, p. 1869-1879, 2017.
- MORAIS, Valdenir Pereira et al. Brief Review on *Piper aduncum* L., its Bioactive Metabolites and its Potential to Develop Bioproducts. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, 2023.
- OLIVEIRA SOUZA, Amanda et al. Phytochemical screening of extracts from *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil.(Rutaceae) leaves and their in vitro antioxidant and anti-*Listeria monocytogenes* activities. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 42, p. 1-10, 2020.

- REZENDE, Jessika Lima et al. Antifungal potential of essential oils from two varieties of *Citrus sinensis* (lima orange and bahia navel orange) in postharvest control of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 405-409, 2020.
- RIBEIRO, Mariana Martinelli Junqueira et al. Anatomical, histochemical and biological studies of *Clusia grandiflora* Splitg.(Clusiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 2020.
- SANTOS, Maximillan Leite et al. Atividade antifúngica de extratos de folhas de *Piper aduncum* preparados por diferentes solventes e técnicas de extração contra os dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton interdigitale*. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 44, p. 1275-1278, 2013.
- SILVA, Flávia Fernanda Alves da et al. Chemical constituents of essential oil from *Murraya paniculata* leaves and its application to in vitro biological control of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 413-417, 2019.
- SIVANANDHAN, S. et al. Activity of some medicinal plants against phytopathogenic fungi. **International Journal of Scientific Research in Biological Sciences**, v. 5, p. 5, 2018.
- STANGARLIN, José R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. *Scientia Agraria Paranaensis*, v. 10, n. 1, p. 18-18, 2011.
- TOIGO, Sandriny Evillin Machado; FERNANDES, Cassia Cristina; MIRANDA, Mayker Lazaro Dantas. Promising antifungal activity of two varieties of *Capsicum chinense* against *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizopus stolonifer* and *Colletotrichum gloeosporoides*. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.
- TOIGO, Sandriny Evillin Machado; FERNANDES, Cássia Cristina; MIRANDA, Mayker Lázaro Dantas. Atividade antifúngica promissora de duas variedades de *Capsicum chinense* contra *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizopus stolonifer* e *Colletotrichum gloeosporoides*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 42, 2022. See More.
- VALADARES, Anna Carolina Fernandes et al. Incorporation of essential oils from *Piper aduncum* into films made from arrowroot starch: effects on their physicochemical properties and antifungal activity. **Quimica Nova**, v. 43, p. 729-737, 2020.
- VILAMIL, Edriely Souza et al. 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, p. 27655-27667, 2021.

14. CONCLUSÃO GERAL

Os compostos majoritários presentes identificados nos extratos hexânicos das folhas são: Germacreno B (33.1%), valenceno (14.5%), β -cadineno (9.1%). No extrato hexânico das inflorescências (EH-IN) Oxido de cariofileno (20.5%), espatulenol (15.2%), germacreno B (9.7%).

O extrato hexânico das flores de *P. Aduncum* apresentou atividade antifúngica contra o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* nas maiores concentrações, inibindo 100% das colônias do fungo supracitado.

Tanto o extrato das folhas como a das inflorescências da apresentaram significativa redução crescimento micelial do fungo *Rhizopus stolonifer*, obtendo menor crescimento médio em todos os tratamentos, possibilitando a redução na dispersão de esporos.

Os extratos hexânicos das inflorescências de *P. Aduncum* tem potencial para utilização no manejo integrado de doenças na soja, reduzindo a severidade da doença mofo branco.

15. ANEXOS

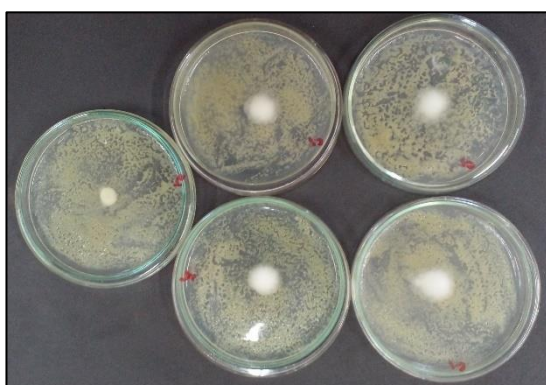
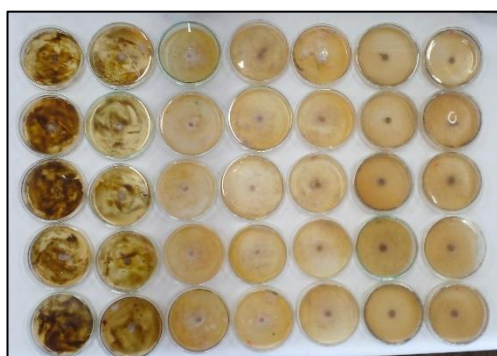
Imagens das fases dos experimentos desenvolvidas pelo autor.

Imagens: Produção dos extratos vegetais hexânicos





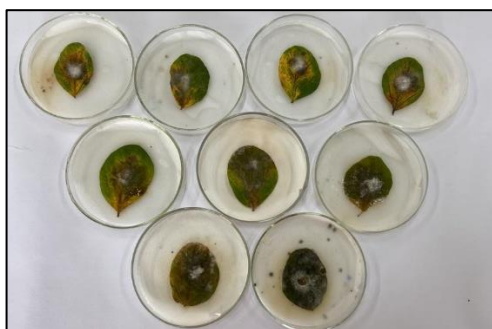
Imagens: Realizações dos testes *in vitro* com fitopatogenos



Imagens: Cultivo da soja para os testes *in vivo* e folha destacada



Imagens: Teste da folha destacada



Imagens: Realização dos testes *in vivo* na soja

