



**FERNANDA VENTORIM PACHECO**

**DESEMPENHO ECOFISIOLÓGICO E ANÁLISE  
DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS  
JOVENS DE *Piper aduncum* SOB EFEITO DA  
RADIAÇÃO**

**LAVRAS - MG**

**2014**

**FERNANDA VENTORIM PACHECO**

**DESEMPENHO ECOFISIOLÓGICO E ANÁLISE DE COMPOSTOS  
SECUNDÁRIOS DE PLANTAS JOVENS DE *Piper aduncum* SOB  
EFEITO DA RADIAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Amauri Alves de Alvarenga

**LAVRAS - MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Pacheco, Fernanda Ventorim.

Desempenho ecofisiológico e análise de compostos secundários de plantas de *Piper aduncum* sob efeito da radiação/ Fernanda Ventorim Pacheco. – Lavras: UFLA, 2014.

152 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Bibliografia.

1. Pimenta-macaco. 2. Luminosidade. 3. Anatomia ecológica. 4. Fotossíntese. 5. Óleo essencial. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD – 583.925

**FERNANDA VENTORIM PACHECO**

**DESEMPENHO ECOFISIOLÓGICO E ANÁLISE DE COMPOSTOS  
SECUNDÁRIOS DE PLANTAS JOVENS DE *Piper aduncum* SOB  
EFEITO DA RADIAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 04 de fevereiro de 2014.

Dra. Ana Cardoso Clemente Filha Ferreira de Paula	IFMG/Bambuí
Dra. Ana Hortência Fonsêca Castro	UFSJR
Dr. Eduardo Alves	UFLA
Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto	UFLA

Dr. Amauri Alves de Alvarenga  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2014**

*Ao meu pai (in memoriam) por todos os ensinamentos relacionados à força e valores humanos.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela minha vida e por sempre abri uma nova chance em momentos que tudo parecia não ter mais jeito.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia/Fisiologia Vegetal, pela oportunidade concedida para a realização do Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pela concessão da bolsa de estudos e financiamento de projetos.

Ao professor Amauri não somente pela orientação, mas pelo grande conhecimento transmitido relacionado não somente ao lado profissional, mas também humano e pelo laço de amizade construído.

Aos Professores do setor de Fisiologia Vegetal em especial ao professor Luiz Edson Mota de Oliveira e José Donizete Alves pela transmissão de conhecimento relacionados a Fisiologia Vegetal. Tenho muito orgulho de ter tido vocês como professores.

Aos professores do Departamento de Agricultura, Fitopatologia e Botânica da UFLA, em especial professor Evaristo de Castro, Fabricio Pereira, Eduardo Alves e Suzan Kelly Vilela, pela ajuda na execução do trabalho, pelos aconselhamentos do melhor caminho seguir em relação as análises e a disposição de me atender com minhas duvidas. Em especial ao professor José Eduardo Pereira Brasil Pinto por ter permitido a execução deste projeto em sua área experimental e pela amizade construída. Muito obrigada!

Não poderia esquecer meus antigos professores da UENF e da UFRRJ (rural), em especial ao professor Claudio Retamal (UENF) que veio a nos deixar no ano passado mais a quem eu devo minha formação profissional científica. Foi ele o responsável pelo meu apreço a pesquisa e que sempre acreditou em mim. Obrigado...

Bem a minha família, em especial ao meu pai que infelizmente veio falecer antes que eu tivesse terminado essa caminhada. Mas, que pelos seus ensinamentos e torcida do andar de cima não deixou eu desistir. Grande exemplo de caráter e ética. Ao meu mais que amigo e companheiro, Ivan Caldeira, não somente pela compreensão e puxões de orelha nos momentos de fraqueza, mais pela grande ajuda na execução deste trabalho. Sem você eu não teria suportado tantas provações. Obrigado...

Aos técnicos e funcionários da UFLA em especial, Luiz (Horto), Dico (Horto), Paulinho (Horto), Lena (fisiologia), Joel (viveiro), Odorêncio (viveiro), Tanham (fisiologia) não somente pela disposição de sempre em me atender, mas pelos momentos de descontração e pelas palavras de aconselhamento. Sentirei muita saudade...

Aos pós-doutorandos, Meline Oliveira Santos e Pedro Martins Ribeiro Junior pela ajuda nas análises e nas discussões. Obrigada por tudo...

Aos grandes amigos e colegas de laboratório, em especial a Rafaella Avelar e Leandro Franceschini pela ajuda nos trabalhos exaustivos de campo. A Mariana Artur e Jean Marcel pela amizade construída e pelas conversas altamente produtivas. Agradeço a vocês por tudo.

Aos amigos pós-graduando da Fisiologia, em especial ao Quarteto Fantástico (eu, Marília Mércia, Marília Carvalho e Marcelo Pedrosa) que foram o suporte para as pressões e estresses das disciplinas. Sem a gente a fisiologia não será mais a mesma. Saudades para sempre.

Aos amigos pós-graduandos da Botânica, Plantas Mediciniais, Fitotecnia e Fitopatologia pelas conversas descontraídas, pelas conversas profissionais e por tudo. Em especial a Marinês Pires que é uma grande pessoa tanto em termos sentimentais como profissionais. Você merece tudo de melhor no mundo, tenho certeza do seu sucesso.

Por fim, aos amigos distantes (Mayra Alves, Valdirene, Alessandro de Paula, Vagner Moreno, Wagner Oliveira, Josimara Barcelos e Juliana Nascimento). Tudo aqui foi lindo mais faltaram vocês. SAUDADES...

## RESUMO

As plantas medicinais são importantes fontes de metabólitos secundários, sendo crescente o interesse em se otimizar e conhecer os sistemas de cultivo e suas respostas a diferentes condições ambientais. A espécie conhecida como pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) possui grande potencial para exploração econômica em função da comprovada utilidade do seu óleo essencial na agricultura e saúde humana. Contudo, a produção de compostos secundários varia em função de uma série de fatores. A luz, tanto em termos de qualidade como em termos de quantidade, é um fator que se destaca por alterar diretamente ou indiretamente a síntese destes compostos. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, desempenho ecofisiológico, anatomia foliar, produção de compostos secundários e os constituintes presentes no óleo essencial de *Piper aduncum* sob diferentes condições de radiação. Mudanças de *Piper aduncum* foram cultivadas por 4 meses sob diferentes condições de radiação, conseguidos com sombrite (50%, 70% e 100%) e com malhas fotoconversoras, na cor vermelha (MV) e na cor azul (MA). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo utilizadas vinte plantas para avaliação do crescimento e cinco para análises bioquímicas e anatômicas. O crescimento em altura, diâmetro do colo, área foliar, número de folha e maior investimento em parte aérea foi observado quando as plantas foram cultivadas sob malha vermelha e azul. Todavia, também apresentou características de crescimento adaptativas a condições de altas irradiâncias. A maior quantidade de compostos secundários (fenólicos totais, lignina e flavonoides) foram obtidos nas plantas cultivadas sob malha azul. Contudo, seu processo fotossintético e a produção de pigmentos são mais eficientes em intensidades e espectros de luz mais amplos apresentando características fotossintéticas mais favoráveis quando cultivada sob 100% e 70% de irradiância. Em relação a anatomia foliar foi observada alterações nas diferentes condições de irradiância, apresentando características anatômicas foliares favoráveis a seu desenvolvimento em condições de altas irradiâncias e sob espectros enriquecidos por comprimento de luz azul. A composição do óleo essencial diferiu entre as folhas e raízes da espécie, sendo somente na folha observado o efeito das diferentes condições de radiação. Nas folhas foi verificado a predominância de compostos de natureza sesquiterpenica, tendo como constituinte majoritário o E-neurolidol (14,28-16,65) e como componentes secundários o linalol (9,33-13,44%);  $\alpha$ -humuleno (8,45-10,62%); cis-cadin-4-en-7-ol (7,48-12,24%) e o cariofileno (5,14-6,70%). Todos os constituintes foliares majoritários tiveram seus teores aumentados quando as plantas foram cultivadas sob 100% de irradiância e na malha azul.

Nas raízes foi identificado um predomínio de compostos de natureza fenilpropanoica, tendo como composto majoritário o apiol (18,36-29,51%) e como componentes secundários o dilapiol (13,0-18,36%),  $\beta$ -selineno (14,11-16,47%) e o butanoato-2-metil-geranila (8,92-13,6%). A maioria, dos compostos encontrados na raiz teve seu teor aumentado em condições ricas em comprimento de onda azul, com exceção do dilapiol que teve sua produção aumentada em 100% de irradiância. A partir dos dados obtidos pode-se observar que a espécie *Piper aduncum* apresenta grande plasticidade em relação as condições de irradiância, mas possui maior crescimento e produção de compostos secundários quando cultivada em altas irradiâncias e em ambientes que recebem maior quantidade de radiação na região espectral azul.

Palavras-chave: Pimenta-macaco. Óleo essencial. Fotossíntese. Anatomia ecológica. Dilapiol.

## ABSTRACT

The medicinal plants are important secondary metabolites sources, and the concern in to optimize and to know the farming systems and the response to different environmental conditions is growing. The species known as long-pepper (*Piper aduncum* L.) has great potential for economic exploration because of the proven use of its essential oil in the agriculture and in the human health, however, the secondary metabolites production may vary depending on several factors. Light, both in terms of quality and quantity, is a factor which stands out because it alters directly or indirectly these compounds synthesis. Thus, the aim of this work was to assess the growth, ecophysiological performance, leaf anatomy, secondary metabolites production, and *Piper aduncum* essential oil components under different irradiance conditions. *Piper aduncum* seedlings were cultivated for 4 months under different irradiance levels, under sombrite (50%, 70% and 100%) and under red (RN) and blue (BN) shading nets. The experimental design used was completely randomized, and it was used twenty plants for growth evaluation, and five for anatomical and biochemical analysis. The growth in height, neck diameter, leaf area, leaf number, and greater investment in shoot was observed when plants were cultivated under red and blue nets. Though, the plants also exhibited adaptive growth traits under high irradiance conditions. The greatest amount of secondary compounds (total phenolic compounds, lignin, and flavonoids) were obtained in plants cultivated under blue net. However, the photosynthetic process and the pigment production were more efficient in intensity and light spectrum broader, showing photosynthetic traits more favorable when the plants were cultivated under 100% and 70% of irradiance. Regarding to leaf anatomy, it was observed alterations in the different irradiance conditions, showing leaf anatomy characteristics favorable to the development in high irradiance conditions, and under spectra enriched with blue light. The essential oil composition differed between leaves and roots in this species, being observed only in the leaves the irradiance conditions effects. In the leaves were verified the predominance of sesquiterpenic nature compounds, with (E)-nerolidol (14,28-16,65) as the majority component, and linalol (9,33-13,44%);  $\alpha$ -humuleno (8,45-10,62%); cis-cadin-4-en-7-ol (7,48-12,24%), and cariofileno (5,14-6,70%) as secondary components. All the leaves majority components had their level increased when plants were cultivated under 100% of irradiance, and under blue net. In the roots it was identified phenylpropanoic nature compounds predominance, with apiol (18,36-29,51%) as the majority component, and dillapiol (13,0-18,36%),  $\beta$ -selinene (14,11-16,47%), and butanoate -2- methyl- geranyl (8,92-13,6%) as secondary components. The majority of the root compounds exhibited increase

in level in conditions with blue wave-length, excepting dillapiol whose production increased in 100% of irradiance. From the obtained data, it is possible to observe that *Piper aduncum* has great plasticity in relation to irradiance conditions, but exhibits greater growth and secondary compounds production when they were cultivated under high irradiance and in environments which receives greater irradiance quantities in the blue spectral region.

Keywords: Monkey-pepper. Essencial oil. Photosynthesis. Ecological anatomy. Dillapiol.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1 Fotografia da *Piper aduncum* cultivada (A) e em ambiente natural (B).....20
- Figura 2 Estrutura química do dilapiol .....22

### CAPÍTULO 2

- Figura 1 Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza).....54
- Figura 2 Altura (A), Diâmetro do colo (B), Número de folhas (C) e Área Foliar (D) de *Piper aduncum* cultivadas em diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100%, malha vermelha (MV) e malha azul (MA)) ao longo de 120 DAT (dias após o transplante). Lavras-MG .....59
- Figura 3 Massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100% de irradiância e malha vermelha (MV) e malha azul (MA)). Médias seguidas pela mesma letra, entre colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% .....61
- Figura 4 Produção de compostos fenólicos solúveis totais (A), lignina (B), flavonoides totais (C) e atividade da fenilalanina amônio liase (D) em folhas de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100% de irradiância, malha vermelha- MV, malha azul- MA). Médias seguidas pela mesma letra, entre colunas, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% .....64

### CAPÍTULO 3

- Figura 1 Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores

	cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza).....	78
Figura 2	(a)Atividade fotossintética-A; (b)Condutância estomática ao vapor de água-g <sub>s</sub> ; (c)Taxa de transpiração- E; (d)Concentração intracelular de CO <sub>2</sub> -C <sub>i</sub> ; (e) Déficit de pressão de vapor- DPV e (f) Temperatura foliar de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação – 50% de irradiância, 70% de irradiância, 100% de irradiância, MV (malha vermelha) e MA (malha azul) ....	83
Figura 3	(a) Razão entre as concentrações de CO <sub>2</sub> intra/extracelular – C <sub>i</sub> /C <sub>a</sub> ; (b) Eficiência de carboxilação – A/C <sub>i</sub> e a (c) Eficiência instantânea do uso da água – A/E de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação– 50% de irradiância, 70% de irradiância, 100% de irradiância, MV (malha vermelha) e MA (malha azul).....	85
Figura 4	Teores de clorofila <i>a</i> (a), <i>b</i> (b), <i>a/b</i> (c), total (d) e carotenoides (e) de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação – 50% de irradiância, 70% de irradiância, 100% de irradiância, MV (malha vermelha) e MA (malha azul). *Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade.....	87

#### CAPÍTULO 4

Figura 1	Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza).....	100
Figura 2	Fotomicrografias da secção transversal de folhas de <i>Piper aduncum</i> cultivadas sob diferentes condições de radiação. <b>A</b> - 50% de irradiância; <b>B</b> -70% de irradiância; <b>C</b> -100% de irradiância; <b>D</b> -malha azul (MA); <b>E</b> -malha vermelha (MV); EAD- Epiderme da face adaxial; EAB- epiderme da face abaxial; PP- parênquima paliçádico, PE-parênquima esponjoso. Barra-50µm .	105
Figura 3	Fotomicrografias da epiderme, em vista frontal, da face abaxial das folhas de <i>Piper aduncum</i> cultivadas em diferentes condições de radiação. <b>A</b> -50% de irradiância; <b>B</b> -70% de irradiância; <b>C</b> - 100% de irradiância; <b>D</b> -malha azul (MA); <b>F</b> -malha vermelha (MV); ce-célula epidérmica; es- estômatos. Barra-50µm .....	108

Figura 4	Fotomicrografias da epiderme em vista frontal, da face abaxial, evidenciando os tricomas tectores e glandulares, de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação. <b>A</b> -50% de irradiância; <b>B</b> -70% de irradiância; <b>C</b> -100% de irradiância; <b>D</b> -malha azul (MA); <b>F</b> -malha vermelha (MV). Legenda: Célula epidérmica (ce); estômatos (es); tricomas tectores (Tr). Barra-50µm.....	111
Figura 5	Fotomicrografias da epiderme em vista frontal, da face adaxial, evidenciando os tricomas tectores e glandulares, de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes irradiâncias. <b>A</b> -50% de irradiância; <b>B</b> -70% de irradiância; <b>C</b> -100% de irradiância; <b>D</b> -malha azul (MA); <b>F</b> -malha vermelha (MV). Legenda: Célula epidérmica (ce); estômatos (es); tricomas tectores (Tr); tricomas glandulares (Tg). Barra-50µm.....	112
Figura 6	Fotomicrografias da secção transversal da nervura central de folhas de <i>Piper aduncum</i> cultivada em diferentes condições de radiação. <b>A</b> -50% de irradiância; <b>B</b> -70% de irradiância; <b>C</b> -100% de irradiância; <b>D</b> - malha azul (MA); <b>E</b> malha vermelha (MV); -XL-vasos do xilema; FL-vasos do; floema; TR-tricomas. Barra-50µm.....	114

## CAPÍTULO 5

Figura 1	Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza).....	127
----------	---	-----

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1</b> .....	17
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
<b>2.1</b>	<b>Caracterização e importância da espécie</b> .....	19
<b>2.2</b>	<b>Metabólitos secundários nos vegetais</b> .....	22
<b>2.3</b>	<b>Óleos essenciais-definições</b> .....	24
<b>2.4</b>	<b>Efeitos da radiação no crescimento vegetal</b> .....	26
<b>2.5</b>	<b>Efeitos da radiação na anatomia vegetal</b> .....	28
<b>2.6</b>	<b>Efeitos da radiação na produção de compostos secundários</b> .....	31
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS GERAIS</b> .....	35
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
	<b>CAPITULO 2 Crescimento e Produção de Compostos Secundários em Folhas de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação</b> .....	48
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	50
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
<b>3</b>	<b>RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	58
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	67
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	68
	<b>CAPITULO 3 Trocas Gasosas e Produção de Pigmentos Fotossintéticos em <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação</b> .....	73
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	74
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	76
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	81
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	90
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91
	<b>CAPITULO 4 Anatomia foliar de <i>Piper aduncum</i> cultivada sob diferentes condições de radiação</b> .....	95
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	96
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	98
<b>3</b>	<b>RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	103
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	116
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	117
	<b>CAPITULO 5 Produção e composição química do óleo essencial de folhas e raízes de <i>Piper aduncum</i> cultivadas sob diferentes condições de radiação</b> .....	121

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>123</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>125</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>130</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>142</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>143</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>151</b>

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO

A demanda por vegetais que produzem metabólicos secundários tem aumentado nos últimos anos, contribuindo para avanços em pesquisas na área de desenvolvimento de novos produtos a partir de fontes naturais (NEVES, 2001). Neste contexto, as espécies da família Piperaceae tem se destacado por produzir compostos de interesse comercial (SANTOS et al., 2010; PINO et al., 2011). Dentre elas, a espécie *Piper aduncum*, embora ainda não seja cultivada comercialmente, tem se destacado por produzir óleo essencial de alto rendimento e baixa toxicidade, com alta eficácia no combate a pragas e doenças fitopatogênicas e infecções humanas (FAZOLIN et al., 2005; SOUSA et al., 2008).

Contudo, é comumente sabido que diversos fatores ambientais modificam o acúmulo metabólicos secundários, do ponto de vista qualitativo e quantitativo (PETKOVSEK; STAMPAR; VEBERIC, 2009). A luz, tanto em termos de qualidade como em termos de quantidade, é um dos mais importantes fatores ambientais que alteram a síntese destes compostos por afetar a formação morfológica e as funções fisiológicas das plantas (WANG; GUO, 2007). A biossíntese de flavonoides e outros compostos fenólicos, por exemplo, necessitam de luz ou é reforçada por altas intensidades de radiação (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). Estudos anteriores mostraram que a mudança na intensidade e qualidade de radiação promovia aumento na produção destes compostos secundários (GHASEMZADEH et al., 2010; KARIMI et al., 2013).

Desta forma, o cultivo de plantas medicinais, onde as condições de radiação são controladas ou conhecidas parece ser uma alternativa promissora

para o controle dos níveis de fitoquímicos e matérias primas de qualidade. Todavia, as plantas apresentam diferenças interespecíficas em relação a quantidade e qualidade de compostos secundários que produzem, em resposta as condições de radiação (JAAFAR; RAHMAT, 2008). Estudos realizados em *Kalanchoe pinnata* mostraram um aumento na produção de compostos fenólicos quando expostas a suplementação por luz azul (NASCIMENTO et al., 2013). Para *Larix gmelinii* foi observado um aumento da produção de compostos secundários quando expostas a baixas irradiâncias (YAN; LU; YAN, 2013). Em *Zingiber officinale* Roscoe as altas irradiâncias promoveram um aumento na produção de flavonoides e as baixas aumentaram a produção de compostos fenólicos totais (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011).

O cultivo de espécies vegetais em sistemas de produção, seja com finalidade econômica ou conservacionista, requer uma série de cuidados que dependem do conhecimento prévio de suas características fisiológicas e exigências ecológicas nas diversas etapas de seu ciclo vital que ainda são desconhecidas para a maioria das espécies (SANTIAGO et al., 2001). Além disso, a maior parte das pesquisas se concentra nas atividades biológicas de espécies medicinais ou na busca de compostos já comercializados. Enquanto, as pesquisas relacionadas às áreas agronômicas são escassas ou se concentram em poucas espécies, normalmente exóticas.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o crescimento, desempenho ecofisiológico, anatomia foliar e a produção de compostos secundários de *Piper aduncum* sob diferentes condições de radiação, contribuindo para o conhecimento e desenvolvimento de tecnologias que aumente e estimule a cadeia de produção da espécie.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Caracterização e importância da espécie

A família Piperaceae possui uma ampla distribuição, podendo ser encontrada principalmente nas Américas. No Brasil, ela é representada por cinco gêneros e aproximadamente 700 espécies (BARROSO et al., 1991). O gênero *Piper* é o maior com mais de 460 espécies, dos quais cerca de 170 crescem de forma nativa no Brasil ocupando formações florestais que perderam grandes áreas pela industrialização como a Mata Atlântica (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000). Além disso, a maioria das espécies do gênero *Piper* destaca-se pelo seu emprego na medicina popular e por sua vasta importância econômica devido ao acúmulo de compostos secundários de grande utilidade para a indústria farmacêutica e agrícola (SILVA; MACHADO, 1999).

A espécie *Piper aduncum* foi listada, pela primeira vez, na primeira edição da Farmacopéia Oficial do Brasil, publicada em 1926, onde consta a folha como a parte utilizada, na forma de extrato fluido, com nome popular aperta-ruão (BRANDÃO et al., 2008). É uma planta nativa do sudoeste do Brasil que pode ser encontrada em várias formações florestais (LORENZI; MATOS, 2008). Contudo, em algumas áreas, pode apresentar-se como uma planta oportunista que invade áreas desflorestadas após exploração de madeira, de alta rusticidade e elevada resistência às mudanças climáticas, apresentando interesse silvicultural (SOUSA et al., 2008).

Quanto a sua estrutura a espécie apresenta-se como um arbusto ereto, ramificado com caules perfilhados que possuem de 2,5 a 3,5 cm de diâmetro e 2-4m de altura quando adultas (Figura 1) (LORENZI; MATOS, 2008). Anatomicamente suas folhas são hipostomáticas, com epiderme múltipla,

tricomas, em ambas as faces da epiderme, idioblastos e células secretoras (GOGOSZ et al., 2012).

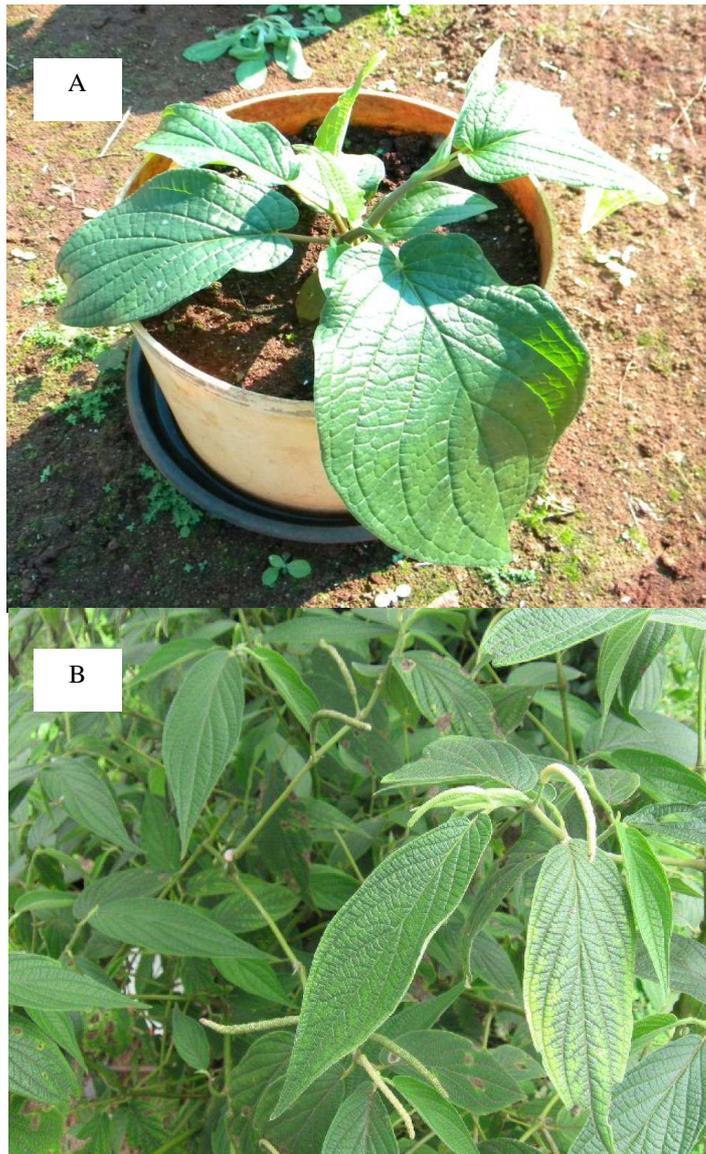


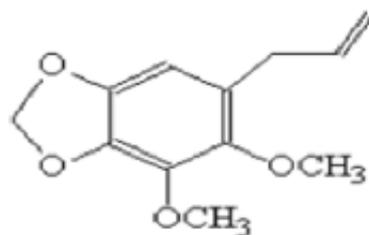
Figura 1 Fotografia da *Piper aduncum* cultivada (A) e em ambiente natural (B)  
Fonte: Arquivo pessoal

A espécie produz óleo essencial de grande importância medicinal e agrícola que apresenta alto rendimento (1,1-3,4%) (FAZOLIN et al., 2006) e baixa toxicidade (SOUSA et al., 2008). Na medicina popular às suas folhas são atribuídas propriedades tônicas, estomáquica, e antiespasmódica e às raízes tem ação eficaz a picada de cobra, estimulante e colagoga, externamente pode ser usada contra problemas dermatológicos (LORENZI; MATOS, 2008). Além disso, tem sido relatado sua eficácia em doenças que acomete a espécie humana como no combate a infecções ginecológicas causadas, por exemplo, por *Candida albicans* e *Trichomonas vaginalis* (FIDALGO et al., 2004; DUARTE et al., 2005) e no combate do protozoário *Leishmania amazonenses* causador da Leishmaniose (FIDALGO et al., 2004). Indiretamente, seu óleo também tem mostrado eficácia no combate a Dengue devido sua ação inseticida contra *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (MISNI; XING; WANG, 2011).

Na agricultura, o óleo da pimenta de macaco tem se mostrado eficiente no combate a pragas e patógenos que geram prejuízos a diversas culturas agrícolas em todo o Brasil. Extratos das folhas de *P. aduncum* apresentaram atividades moluscicida, citotóxica, antibacteriana, acaricida e inseticida para uma série de organismos. Estudos realizados testando a ação do seu óleo essencial, mostraram eficiência contra o combate do fungo *Clinipellis pernicioso*, conhecido como “vassoura de bruxa” que acomete as culturas de cacau e cupuaçu (BASTOS, 1997); *Colletotrichum musae*, causador da antracnose em frutos de banana (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004); *Ceratomyxa tingomarianus*, coleóptero desfolhador do feijoeiro (FAZOLIN et al., 2005); *Sitophilus zeamais*, conhecido como gorgulho que infesta grão de milho, arroz e trigo (ESTRELA et al., 2006) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, carrapato, que causa sérios problemas a pecuária mundial (FERRAZ et al., 2010).

A atividade biológica do óleo de pimenta de macaco tem sido associada a presença de numerosos compostos como as chalconas com ação bactericida

(PARMAR et al., 1997); aduncamida; compostos terpênicos como a piperitona com ação inseticida; e os fenilpropanóides como o dilapiol, miristicina e apiol que podem ser usados como compostos sinérgicos de inseticidas naturais e sintéticos (VIDAL et al., 2008). Dentre os fenilpropanoides encontrados em suas folhas, o dilapiol (Figura 2) é considerado o composto majoritário do *P. aduncum* apresentando com um percentual que varia de 31,4 a 91,1% dependendo da condição de cultivo (ORJALA et al., 1994; PARMAR et al., 1997).



Dilapiol

Figura 2 Estrutura química do dilapiol  
Fonte: Fazolin et al. (2005)

## 2.2 Metabólitos secundários nos vegetais

O metabolismo essencial da célula é realizado pelo metabolismo primário. Este corresponde às vias metabólicas ligadas diretamente às funções básicas e essenciais para a sobrevivência das plantas (como a fotossíntese e as trocas gasosas), produzindo substâncias como aminoácidos, proteínas, carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos (MARASCHIN; VERPORTE, 1999; SERAFINI; BARROS; AZEVEDO, 2001).

Por outro lado, os organismos também produzem metabólitos secundários que estão associados a várias funções biológicas e possuem

importante papel na interação entre a planta e o seu meio ambiente (FRANÇA et al., 2001). Estes compostos são produzidos somente em respostas a essas interações como, por exemplo, a condições estressantes de baixa disponibilidade hídrica, altas intensidades de radiação, exposição à radiação UV e ataques microbianos (VERPOORTE; HEIJDEN; MEMELINK, 2000). Assim, embora não participem diretamente do crescimento e do desenvolvimento vegetal, são responsáveis pela sobrevivência da planta no meio que a cerca (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A produção de determinados metabólitos secundários variam ao longo do desenvolvimento vegetal e em função das condições ambientais que as plantas são submetidas durante seu biociclo. Esses metabólitos dividem-se, basicamente, em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenos são formados a partir do ácido mevalônico, no citoplasma, ou do piruvato e 3-fosfoglicerato, no cloroplasto envolvendo uma série de enzimas e reações (PERES, 2004). Em função do número de unidades isoprenos que formam suas estruturas, os terpenoides podem ser denominados hemi-(uma unidade de isopreno-C5), mono-(duas unidades-C10), sesqui (três unidades-C15), di (quatro unidades- C20), Sester (cinco unidades- C25), tri-(seis unidades- C30), tetraterpenos (oito unidades-C40) e etc (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007).

Os compostos fenólicos, conhecidos como fenilpropanoides, são formados a partir de aminoácidos aromáticos derivados da via do ácido Chiquímico, como também podem ser derivados da via do malonato que se inicia pela acetil-coenzima A. Os diferentes compostos fenólicos podem ser encontrados conjugados a açúcares e ocasionalmente presentes em proteínas, alcalóides e terpenos. Esses conjugados normalmente são fenilpropanoides mais complexos que desempenham variadas funções nas plantas como a lignina que é responsável pela sustentação e impermeabilização das paredes celulares tendo

papel importante no suporte mecânico e resistência a doenças em plantas superiores (BARBER; MITCHELL, 1997). Os alcalóides, principal grupo de compostos nitrogenados, também apresentam como precursores aminoácidos aromáticos derivados da via do ácido chiquímico, podendo ser considerado uma via concorrente a formação dos fenilpropanóides (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Investigações fitoquímicas realizadas em espécies do gênero *Piper* têm revelado a presença de várias classes de metabólitos secundários biologicamente ativos, tais como alcalóides, amidas, pironas e dihidrochalconas, flavonóides, fenilpropanóides, lignanas e neolignanas (NAIR; BURKE, 1990; ORJALA et al., 1994; ZHANG et al., 1996).

Para o entendimento da formação dos diferentes compostos secundários produzidos pelas plantas e a participação desses com a adaptação da planta ao seu meio faz-se necessário conhecer os mecanismos de formação dos terpenos e dos fenilpropanóides. Bem como, as diferentes causas de alterações na produção e composição desses metabólitos.

### **2.3 Óleos essenciais-definições**

Os óleos essenciais são compostos naturais complexos com variável poder aromatizante formados em diferentes partes dos vegetais como metabólitos secundários (BAKKALI et al., 2008). Os óleos essenciais são constituídos principalmente por fenilpropanóides e terpenos, sendo que estes últimos preponderam. A designação de “óleo” é devida a algumas características físico-químicas como a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente e na maioria dos casos imiscível em água. Sua principal característica é a volatilidade, diferenciando-os dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas obtidas normalmente de sementes, como, por exemplo, soja, mamona e girassol (DE LA ROSA et al., 2010).

Estes compostos tem despertado o interesse de pesquisadores que veem neles uma fonte promissora de princípios ativos diretos ou precursores na síntese de outros compostos de maior importância e valor agregado, como por exemplo o safrol, eugenol, citral, citronelal dentre outros (DE LA ROSA et al., 2010). Embora a maior utilização seja nas áreas de alimentos, como condimentos e aromatizantes de alimentos e bebidas, e na cosmetologia, participando da composição de perfumes e produtos de higiene e na indústria farmacêutica como fonte de matéria prima, eles também são empregados “in natura” em preparações galênicas, na medicina alternativa, como a aromaterapia e até mesmo para aromatização de ambientes (SAROYA, 2011).

A biossíntese dos óleos essenciais ocorre normalmente em estruturas chamadas tricomas glandulares que estão distribuídos por toda a planta, mas que na maioria das plantas ocorrem principalmente nas folhas e cálices, sendo transportados para outras partes das plantas podendo variar sua composição em função da parte onde é armazenado (SIMÕES et al., 2000). Assim, podem ser encontrados em todos os órgãos como folhas (manjeriço), ramos (alecrim), raízes (faíã), rizomas (gingibre), flores (camomila), frutos (guaraná), semente (noz-moscada), madeira (pau-rosa) e casca do caule (barbatimão) (BAKKALI et al., 2008).

A constituição dos óleos essenciais pode conter mais de 100 componentes em diferentes concentrações, sendo caracterizado por dois ou três principais componentes em concentrações bastante elevadas (20-70%) em comparação com os demais. Por exemplo, o carvacrol (30%) e o timol (27%) são os componentes principais de *Origanum compactum*, o mentol (59%) e a mentona (19%) são o da *Mentha piperita* (BAKKALI et al., 2008) e os da *Piper aduncum* são o dilapiol (43,3%),  $\beta$ -cariofileno (8,3%), piperitona (6,7%) e o  $\alpha$ -humuleno (5,1%) (RALI et al., 2007). Contudo, as proporções dos compostos

variam em função de uma série de fatores como a idade da planta, o órgão, fatores climáticos, composição do solo e etc (ANGIONE et al., 2006).

Na natureza, estas substâncias desempenham varias funções na planta atuando na sua proteção como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e contra herbívoros, reduzindo a palatabilidade das folhas. Além disso, eles também podem atrair insetos dispersores, polinizadores e repelir outros indesejáveis e atuar na comunicação planta-planta (BAKKALI et al., 2008). As plantas, geralmente, produzem essa mistura de compostos para desempenhar uma dada função, mas o porquê isso acontece ainda não é claro. Todavia, existem especulações que atribuem a essa produção diversa como uma forma de melhorar as funções desempenhadas pelos compostos. Por exemplo, se os compostos forem usados na interação entre as plantas, a síntese de uma mistura de compostos podem, resultar em mensagens com mais especificidade e uma maior conteúdo de informações (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007); na defesa, a grande mistura desses compostos podem ser associada ao grande números de inimigos que as plantas possuem ou ainda a produção desta combinação pode ajudar a conseguir uma proteção simultânea contra numerosos predadores, parasitas e concorrentes ou ainda impedir que os inimigos desenvolvam resistencia (AKHTAR; ISMAN, 2003).

#### **2.4 Efeitos da radiação no crescimento vegetal**

A quantidade e qualidade da radiação é primordial para o crescimento das plantas, não só por fornecer energia para a fotossíntese, mas também por gerar sinais que regulam seu desenvolvimento. Dessa forma, variações no espectro de radiação, aos quais, uma espécie está adaptada, podem condicionar diferentes respostas fisiológicas que acarretam modificações em suas

características bioquímicas, anatômicas e de crescimento (ATROCH et al., 2001).

Alterações no espectro e intensidade de irradiância regulam a fotossíntese e, conseqüentemente o crescimento e adaptação das plantas (ZERVOUDAKIS et al., 2012). Condições de baixas irradiâncias promove a inibição do crescimento e da produtividade por afetar as trocas gasosas (ZAVALA; RAVETTA, 2001), ao passo que altas irradiâncias também tem efeitos prejudiciais sobre o aparelho fotossintético (LICHTENTHALER et al., 2007). Contudo, as plantas desenvolveram mecanismos para adaptar sua estrutura e fisiologia a um ambiente de luz predominante (ZHANG; MA; CHEN, 2003). Plantas cultivadas em ambientes com baixa irradiâncias geralmente apresentam uma maior área foliar em resposta a diminuição da capacidade fotossintética (GIORGI et al., 2013) e quando expostas a altas irradiâncias as plantas tende a apresentar folhas com menor área foliar e mais espessas a fim de se proteger (STEINGER; ROY; STANTON, 2003).

Segundo KINOSHITA et al. (2003) a luz azul estimula a atividade fotossintética por ser responsável pela manutenção de um potencial elétrico nas membranas das células guardas e pela abertura estomática resultando no aumento da concentração do CO<sub>2</sub> dentro do mesofilo. Adicionalmente, estudos realizados com *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata* mostraram uma maior produção de matéria seca quando cultivadas em ambiente que recebam maior quantidade de irradiância na região do azul e vermelho (SOUZA et al., 2010).

A qualidade e quantidade do espectro de radiação também irão promover modificações nos cloroplastos. A luz azul, por exemplo, vai influenciar a distribuição dos cloroplastos e em condições de radiação excessiva, os cloroplastos irão apresentar maior acúmulo de amido, redução na quantidade de tilacóides granais e redução na quantidade de clorofila b em relação a clorofila a (TAKEMIYA et al., 2005).

Alterações nos níveis de carboidratos em resposta as alterações provocadas pela radiação no processo fotossintético, afeta a expressão de vários genes que podem vir a dar origem a ajustamentos na morfologia foliar e em parâmetros bioquímicos que modificam a eficiência de captura da irradiância. Em nível bioquímico, as mudanças no status de carboidratos têm implicações importantes para o crescimento e exportação de recursos na planta (SMITH; STITT, 2007). Segundo BRANT et al., (2009) planta de *Melissa officinalis* cultivadas em altas irradiâncias apresentam altas concentrações de amido nas folhas, sem que este fosse mobilizado para a produção de biomassa.

Contudo, as plantas apresentam respostas diversificadas em relação a alterações de irradiância (DAS, 2004). *Artemisia vulgaris*, por exemplo, apresenta maior produção de matéria seca quando cultivada em ambientes que recebem altas irradiâncias e com maior quantidade de radiação na região do azul (OLIVEIRA et al., 2009); *Catharanthus roseus*, por outro lado produz maior matéria seca em ambientes que recebem espectros irradiâncias na região do vermelho (MELO; ALVARENGA, 2009) e *Mikania glomerata* apresenta maior matéria seca em ambientes com baixas irradiâncias (ESPINDOLA-JUNIOR et al., 2009). Além disso, são incipientes as informações sobre a influência das condições da luz no crescimento de espécies medicinais e a compreensão das respostas das plantas a esse fator pode contribuir para a adequação de condições de cultivo que proporcionem elevada produção de matéria seca destinada à extração de princípios bioativos (LIMA et al., 2011).

## **2.5 Efeitos da radiação na anatomia vegetal**

A qualidade e a quantidade da luz são conhecidos por controlar morfogénese, crescimento e a diferenciação das células, tecidos e órgãos das plantas (MOSHE; DALIA, 2007). Assim as alterações na sua anatomia e

morfologia estão fortemente relacionadas com o seu desempenho fisiológico; portanto, com a plasticidade vegetal que pode ser relacionada com a taxa de crescimento e sobrevivência (ALVARENGA et al., 2003).

As condições de radiação recebida durante o crescimento das plantas irá refletir na anatomia foliar, uma vez que a folha é um órgão muito plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições externas do ambiente (HANBA; KOGAMI; TERASHIMA, 2002). SANTIAGO et al. (2001) avaliaram a anatomia foliar de plantas de *Piper hispidinervum* C. (DC.), desenvolvidas sob casa de vegetação, pleno sol e sub-bosque e comprovaram a plasticidade desse órgão para essa espécie em função dos ambientes luminosos. Vários estudos têm apontado que a alta intensidade de luz é o principal fator que causa a diminuição da área foliar de plantas e conduz a alterações anatômicas primárias como a diminuição do tamanho da célula, as paredes celulares mais espessas e cutículas, e um parênquima paliçádico fortemente desenvolvido à custa de uma diminuição do parênquima esponjoso (ALVAREZ et al., 2012; GÜVENÇ; KENDIR, 2012; IVANCICH et al., 2012). Estas alterações morfológicas influenciam vários processos fisiológicos, associados, principalmente, à fotossíntese e transpiração. Tem sido demonstrada que o espectro azul aumenta a espessura da epiderme e as células do parênquima paliçádico, enquanto que o espectro vermelho diminuiu a espessura dos tecidos da face abaxial e do parênquimas esponjoso (MACEDO et al, 2011). O parênquima paliçádico permite uma melhor penetração de luz para os cloroplastos e aprimora a captura de luz por espalhamento pelo parênquima esponjoso, apresentando uma eficiente estrutura para a atividade fotossintética (GONÇALVES et al., 2008). LIMA JUNIOR et al. (2006), trabalhando com *Cupania vernalis*, observaram que alterações na intensidade de luz promoveram aumento na espessura do parênquima paliçádico e esponjoso e que estas alterações afetavam diretamente a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e a transpiração, promovendo um aumento na fotossíntese líquida. Adicionalmente um aumento

no tecido do parênquima paliçádico promove um maior numero de cloroplastos e de clorofila permitindo uma melhora na absorção de luz (SÁEZ et al., 2012).

Alterações nas estruturas de superfície foliar (cutícula e epiderme superior e inferior), promovida pelas condições de radiação, também estão associadas com o desempenho fotossintético, por levar a modificações na absorção da radiação pela folha (SMITH et al., 1997). A espessura da cutícula e da epiderme superior pode aumentar a reflectancia de folhas expostas a altas irradiâncias protegendo os tecidos fotossintéticos (CHAZDON; KAUFMANN, 1993). Em plantas *Piper hispidinervum* cultivada a pleno sol e em sub-bosque foram observados uma maior espessura da epiderme e cutícula quando estas cresciam a pleno sol (SANTIAGO et al., 2001). Um maior incremento da radiação em uma unica região do espectro pode proporcionar um desequilíbrio de energia entre os fotossistemas levando a um ajuste na estrutura foliar como a diminuição da espessura da epiderme (TENNENSSEN; SINGSAAS; SHARKEY, 1994). Estudos realizados com *Alternanthera brasiliana* Kuntze cultivadas in vitro sob luz monocromática vermelha tiveram uma redução na espessura da epiderme (MACEDO et al., 2011).

Além disso, os tricomas que cobrem a epiderme são fortemente influenciados pela irradiância. Tais estruturas geralmente aumentam em resposta a altas irradiâncias a fim de regular o balanço hídrico das plantas, tanto por influenciar na difusão da agua pela camada limítrofe como regulando os parâmetros ópticos da folha e, portanto, a temperatura da foliar (ROTONDI et al. 2003). Em muitas espécies, quando tricomas ou camadas de cera reduzem a absorção de radiação, duas ou três camadas de parênquima paliçádico se desenvolvem para proporcionar maior eficiência de utilização da luz fotossinteticamente ativa (SATIL; SELVI, 2007). Estudos realizados com *Lippia citriodora* apresentaram uma redução de tricomas glandulares quando expostas a baixas irradiâncias (GOMES et al., 2009).

O controle da abertura-fechamento dos estômatos também podem ser alterados pelas condições de radiação imposta as plantas durante seu crescimento. Baixas irradiâncias tende a mau funcionamento dos estômatos promovendo uma maior perda de água e grandes perdas na atividade fotossintética (APÓSTOLO; BRUTTI; LORENTE, 2005). Plantas de *Cupania vernalis* quando cultivada em altas irradiâncias apresentaram maior condutância estomática e alta atividade fotossintética associada a uma maior densidade estomática demonstrando maior controle da abertura-fechamento dos estômatos (LIMA-JUNIOR et al., 2006). A luz azul, também tem um papel crucial no desenvolvimento dos estômatos por controlar as respostas mediadas por fotorreceptores (FRANKLIN; QUAIL, 2010). Segundo MARTINS et al. (2009) plantas de *Ocimum gratissimum* possuem estômatos mais elipsoides, ou seja, com formato mais favorável para o controle da abertura-fechamento, quando cultivadas em ambientes que recebem maior banda do espectro de luz azul.

Neste contexto, a obtenção de informações que permita conhecer o efeito de diferentes condições de radiação na anatomia foliar de plantas medicinais é de fundamental importância para o entendimento da organização dos tecidos vegetais e a produção de diferentes metabólitos. Assim a avaliação decorrente das condições de cultivo na anatomia foliar é uma base para a compreensão do processo de adaptação da espécie, assim como fator importante para o estabelecimento de um manejo eficiente para a condução de sistemas de produção comercialmente viáveis.

## **2.6 Efeitos da radiação na produção de compostos secundários**

A produção e a composição de óleos essenciais embora sejam determinadas geneticamente também variam em função das condições ambientais. Alterações na quantidade e qualidade da radiação afetam tanto a

quantidade e a variedade dos componentes do óleo essencial, uma vez que modifica direta e indiretamente a produção de biomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas relacionadas a produção dos metabólitos secundários (PEREZ-BALIBREA; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2008).

A biossíntese de compostos secundários como flavonóides e outros compostos fenólicos necessitam de luz ou são reforçados em maiores condições de irradiância. Formação dos flavonoides, por exemplo, é dependente da irradiância recebida no ambiente de desenvolvimento vegetal e sua taxa de biossíntese está relacionada tanto à intensidade de irradiância quanto a qualidade (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). A influencia das condições de irradiância deve-se ao controle da atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), que atua na biossíntese de ácidos fenólicos, e que tem sua atividade aumentada em altas irradiâncias (KUMARI; SINGH; AGRAWAL, 2009). A luz azul promove a indução de genes que regulam a expressão desta enzima que promove a desaminação da fenilalanina, originando o ácido cinâmico (MENG; XING; WANG, 2004). Assim a sua regulação é um fator crítico na produção dos metabólitos secundários proveniente da rota do ácido chiquímico (FALKENBERG et al., 2003).

Contudo ainda não existe um consenso sobre a forma que as condições de radiação afetam a produção dos compostos secundários. A explicação exata deve-se não somente a complexa relação da radiação com a fisiologia vegetal, mas também com as diferentes respostas observadas entre as espécies de planta. Estudos realizados em *Larix gmelinii* mostraram maior produção de compostos fenólicos quando cultivadas sob baixas irradiâncias (YAN; LU; YAN, 2013). Por outro lado em *Labisia pumila* a maior produção foi observado em altas irradiâncias (KARIMI et al., 2013).

A produção dos metabólitos secundários sempre foi associada a síntese de trioses-fosfato produzidas na fotossíntese, ocorrendo uma relação direta com

o processo. Como foi observado para *Ocimum gratissimum* onde a produção de óleo foi beneficiada pelo sombreamento e qualidade espectral na região do azul e vermelho devido estes tratamentos beneficiarem a maior produção de matéria seca pela fotossíntese (CHANG; ALDERSON; WRIGHT, 2008). Em *Melissa officinalis* houve um aumento na produção de óleo essencial quando cultivadas em irradiâncias com maiores comprimentos de onda na região do vermelho, sendo a maior produção está associada a maior produção de matéria seca (BRANT et al., 2009). No entanto, foi constatado o envolvimento do gliceraldeído-3-fosfato e piruvato na síntese dos compostos produzidos pela via do mevalonato criando a relação indireta com o processo fotossintético (SANGWAN et al., 2001). Como observado para *Larix gmelinii* e *Glycyrrhiza uralensis* onde em altas irradiâncias foram observados maiores teores de compostos secundários mesmo com a atividade fotossintética menor (HOU et al., 2010; YAN; LU; YAN, 2013).

Desta forma as altas concentrações de compostos observadas em plantas que crescem em ambientes com altas irradiâncias e nos quais a fotossíntese era diminuída, passaram a ser explicadas pela hipótese do “Balanço crescimento-diferenciação” (GIORGI et al., 2013). Segundo a teoria sob altas irradiâncias as plantas tende a diminuir sua produção de biomassa, devido à queda da fotossíntese e da área foliar, conseqüentemente ocorre um redirecionamento dos esqueletos de carbono para a biossíntese dos compostos secundários, pois a planta tem que alocar recursos para crescer e se defender das alterações do ambiente (DIXON; PAIVA, 1995). A relação competitiva entre a produção de compostos secundários e de crescimento explica também a queda na produção dos metabólitos encontradas em plantas de *Achillea collina* cultivadas sob baixas irradiâncias, pois à alocação preferencial de recursos para o crescimento da folha (GIORGI et al., 2013). Ainda segundo a hipótese de “Balanço crescimento-diferenciação, quando a irradiância, água e nutrientes são suficientes, o

crescimento é a prioridade e a maior parte das fenilalanina é utilizada para a síntese de proteínas. No entanto, sob certas limitações, a síntese de proteína e crescimento são restritas e excesso de carbono é desviado para síntese de fenilpropanóides (GONÇALVES et al. 2008).

Mesmo em situações em que a síntese de óleo essencial não é aumentada, a sua composição pode variar em relação às condições de radiação. Em *Kalanchoe pinnata*, irradiâncias enriquecidas com comprimento de onda na região do azul promove um aumento na quantidade de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante (quercetina e quercitrina) o que pode ser explicado como uma resposta da planta a um estresse promovido por este comprimento de onda (NASCIMENTO et al., 2013). Em *Labisia pumila*, por outro lado, ocorreu um aumento de compostos fenólicos (ácido gálico) em condições de alta irradiância sendo este aumento relacionado à estimulação da fenilalanina amônia-liase (KARIMI et al., 2013). Enquanto que em *Zingiber officinale* foi observado uma elevação nos teores do flavonoide miricetina em baixas irradiância o que deve-se a inibição de sua síntese em altas irradiâncias. Por outro lado, na mesma espécie foi observado um aumento do teor dos compostos fenólicos ácido gálico e ácido ferúlico em altas irradiâncias o que está relacionado a um investimento na estrutura da planta em situações de estresse (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011).

As condições de irradiância também podem influenciar os teores de óleo essencial devido sua influencia na quantidade das estruturas onde estes são produzidos e armazenados. Em estudos realizados com *Ocimum gratissimum*, quando essa espécie era cultivada sob malhas vermelhas mostrava uma diminuição na densidade de tricomas quando comparadas as plantas cultivadas a pleno sol, malha azul e a 50% de sombreamento tendo uma diminuição no teor de óleo (MARTINS, 2006). Em *Lippia citriodora* também foi observado um

aumento dos teores de óleo essencial em altas irradiâncias, sendo associado a maior quantidade de tricomas nestas condições.

Neste contexto, pode ser observado, que diferentes condições de irradiâncias promovem mudanças na morfologia, anatomia e fisiologia das plantas que afetam a síntese de metabolitos secundários (MACEDO et al, 2011, NASCIMENTO et al., 2013). No entanto, as plantas apresentam respostas interespecíficas (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). Assim estudos que buscam analisar o efeito de diferentes condições de radiação no conteúdo fitoquímico das plantas são de extrema importância (KARIMI et al., 2013).

### **3 OBJETIVOS GERAIS**

Avaliar o crescimento, produção de compostos secundários, desempenho ecofisiológico, anatomia foliar, produção e análise do óleo essencial de *Piper aduncum* sob diferentes condições de radiação.

## REFERÊNCIAS

AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Binary mixtures of feeding deterrents mitigate the decrease in feeding deterrent response to antifeedants following prolonged exposure in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemoecology**, n.4, v.13, p.177-182, 2003.

ALVARENGA, A. A. et al. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**, n.1, v.27, p.53-57, 2003.

ALVAREZ, C. et al. Effects of light and ventilation on physiological parameters during *in vitro* acclimatization of *Gevuina avellana* mol. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, n.1, v.110, p.93-101, 2012.

ANGIONI, A. et al. Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. **Journal Agricultural Food Chemistry**, n.12, v.54, p.4364-4370, 2006.

APOSTOLO, N.; BRUTTI, C. B.; LORENTE, B. E. Leaf anatomy of *Cynara scolymus* L. in successive micropropagation stages. **In Vitro Cellular & Developmental**, n.3, v.41, p. 307-313, 2005.

ATROCH, E. M. A. C. et al. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, n.4, v.25, p.853-862, 2001.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, n.2, v.46, p.446-475, 2008.

BARBER, M. S.; MITCHELL, H. J. Regulation of phenylpropanoid metabolism in relation to lignin biosynthesis in plants. **Internacional Review of Cytology**, v. 172, p.243-293, 1997.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Clinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.441-443, 1997.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.

BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, v.2, 1991, 377p.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.1, v.18, p.127-134, 2008.

BRANT, R. S. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, n.5, v.39, p.1401-1407, 2009.

CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. **Environmental and Experimental Botany**, n.1-3, v.63, p.216-223, 2008.

CHAZDON, R.L.; KAUFMANN, S. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. **Functional Ecology**, n.4, v.7, p.385-394, 1993.

DAS, V. S. R. 2004. **Photosynthesis, Regulation Under Varying Light Regimes**, 1st ed. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire.

DE LA ROSA, L. A. et al. Fruit and vegetable phytochemicals : chemistry, nutritional value and stability. 1ªed. Wiley-Blackwell. Iowa, USA, v.1, p.382, 2010.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. **The Plant Cell**, n.7, v.7, p.1085-1097, 1995.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, n.2, v.97, p.305-311, 2005.

ESPINDOLA-JUNIOR, A. et al. Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Botânica**, n.4, v.32, p.749-758, 2009.

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

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2003. p. 229-245.

FAZOLIN, M. et al. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 485-489, 2005.

FAZOLIN, M. et al. **Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.): Características gerais e resultados de pesquisa**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2006. 53 p.

FERRAZ, A. B. F. et al. Acaricidal activity and chemical composition of the essential oil from three Piper species. **Parasitol Res**, n.1, v.107, p.243-248, 2010.

FIDALGO, L. M. et al. Propriedades antiprotozoárias de aceites essenciais extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana Medicina Tropical**, v. 56, n.3, p. 230-233, 2004.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. **Annals of Botany**, v.85, p. 455-460, 2000.

FRANÇA, S. C. et al. Biosynthesis of secondary metabolites in sugarcane. **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, p. 243-250, 2001.

FRANKLIN, K. A.; QUAIL, P. H. Phytochrome functions in Arabidopsis development. **Journal of Experimental Botany**, n.1, v.61, p.11-24, 2010

GERSHENZONI, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature chemical Biology**, n.7, v.3, p.408-414, 2007.

GHASEMZADEH, A. et al. Synthesis of Phenolics and Flavonoids in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and their Effects on Photosynthesis Rate. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p.4539-4555, 2010.

GHASEMZADEH, A.; GHASEMZADEH, N. Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human. **Journal of Medicinal Plants Research**, n.5, v.31, p. 6697-6703, 2011.

GIORGI, A. et al. Effect of Light Environment on Growth and Phenylpropanoids of Yarrow (*Achillea collina* cv. SPAK) Grown in the Alps. **Photochemistry and Photobiology**, n.4, v.89, p. 1-8, 2013.

GOGOSZ, A. M. et al. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero Piper (Piperaceae). **Rodriguésia**, n.2, v.63, p.405-417, 2012.

GOMES, P. A. et al. Influência do sombreamento na produção de biomassa, óleo essencial e quantidade de tricomas glandulares em cidrão (*Lippia citriodora* Lam.). **Biotemas**, n.4, v.22, p.9-14, 2009.

GONÇALVES, B. et al. Leaf structure and function of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.) cultivars with open and dense canopies. **Scientia Horticulturae**, n.4, v.116, p.381-387, 2008.

GÜVENÇ, A.; KENDIR, G. The leaf anatomy of some *Erica* taxa native to Turkey. **Turkish Journal of Botany**, n.3, v.36, p.253-262, 2012.

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer species* differing in light demand. **Plant Cell and Environment**, n.8, v. 25, p. 1021-1030, 2002.

HOU, J. et al. Effect of low light intensity on growth and accumulation of secondary metabolites in roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **Biochemical Systematics and Ecology**, n.2, v.38, p.160-168, 2010.

IVANCICH, H. S. et al. Foliar anatomical and morphological variation in *Nothofagus pumilio* seedlings under controlled irradiance and soil moisture levels. **Tree Physiology**, n.5, v.32, p.554-564, 2012.

JAAFAR, H.; RAHMAT, A. Accumulation of partitioning of total phenols in two varieties of *Labisia pumila* benth under manipulation of greenhouse irradiance. **Acta Horticulturae**, v.797, p.387–392, 2008.

KARIMI, E. et al. Light intensity effects on production and antioxidant activity of flavonoids and phenolic compounds in leaves, stems and roots of three varieties of *Labisia pumila* Benth. **Australian Journal of Crop Science**, n.7, v.7, p.1016-1023, 2013.

KINOSHITA, T. et al. Blue-Light- and Phosphorylation-Dependent Binding of a 14-3-3 Protein to Phototropins in Stomatal Guard Cells of Broad Bean. **Plant Physiology**, n.4, v.133, p. 1453–1463, 2003.

KUMARI, R.; SINGH, S.; AGRAWAL, S. B. Effects of supplemental ultraviolet-b radiation on growth and physiology of *Acorus calamus* L (Sweet Flag). **Acta Biologica Cracoviensia**, n.2, v.51, p.19–27, 2009

LICHTENTHALER, H. K.; A. C. A. et al. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. **Plant Physiology and Biochemistry**, n.8, v.45, p.577-588, 2007.

LIMA-JUNIOR, E. C. et al. Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, n.1, v.30, p.33-41, 2006.

LIMA, M. C. et al. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, n.1, v.41, p.45-50, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 512 p.

MACEDO, A. F. et al. The effect of light quality on leaf production and development of *in vitro*-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. **Environmental and Experimental Botany**, n.1, v.70, p.43-50, 2011.

MARASCHIN, M.; VERPORTE, R. Engenharia do Metabolismo Secundário. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.2, v.10, p.24-28, 1999.

MARTINS, J. R. Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L. 2006, 176p. **Dissertação** (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - UFLA, Lavras, MG.

MARTINS, J. R. et al. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, n.1, v.39, p.82-87, 2009.

MELO, A. A. M.; ALVARENGA, A. A. Sombreamento de plantas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 'Pacifica White' por malhas coloridas: Desenvolvimento Vegetativo. **Ciência e Agrotecnologia**, n.2, v.33, p. 514-520, 2009.

MENG, X.; XING, T.; WANG, X. The Role of Light in the Regulation of Anthocyanin accumulation in *Gerbera hybrida*. **Plant Growth Regulation**, n.3, v.44, p.243-250, 2004.

MISNI, N.; OTHMAN, H.; SULAIMAN, S. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. **Tropical Biomedicine**, v.28, n.2, p.249-258, 2011.

MOSHE, R., DALIA, E. On the effect of light on shoot regeneration in petunia. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, n.1, v.89, p.49-54, 2007.

NAIR, M. G.; BURKE, B. A. Antimicrobial *Piper* metabolite and related compounds. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.38, p.1093-1906, 1990.

NASCIMENTO, L. B. S. et al. Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. **Photochemistry and Photobiology**, n.2, v.89, p.391–399, 2013.

NEVES, M. C. M. **Plantas medicinais: diagnóstico e gestão**. Ed. IBAMA. Brasília. 2001. 52p.

OLIVEIRA, M. I. et al. Características biométricas, anatômicas e fisiológicas de *Artemisia vulgaris* L. cultivada sob telas coloridas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, n.1, v.11, p. 56-62, 2009.

ORJALA, J. et al. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum*. **Journal of Natural Products**, v.57, n.18, 1994.

PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v.46, n.4, p.597-673, 1997.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, 2004. p.1-10.

PEREZ-BALIBREA, S.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Influence of light on health-promoting phytochemicals of broccoli sprouts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n.5, v.88, p.904–910, 2008.

PETKOVSEK, M. M., STAMPAR, F., VEBERIC, R. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.74, p.60-67, 2009.

PINO, O. et al. Caracterización Química y Actividad Acaricida del Aceite Esencial de *Piper aduncum* subsp. *ossanum* frente a *Varroa destructor*. **Revista de Protección Vegetal**, n.1, v.26, p. 52-61, 2011.

RALI, T. et al. Volatile Chemical Constituents of *Piper aduncum* L and *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae) from Papua New Guinea. **Molecules**, n.3, v.12, p.389-394, 2007.

ROTONDI, A. et al. Leaf xeromorphic adaptations of some plants of a coastal Mediterranean macchia ecosystem. **Journal of Mediterranean Ecology**, n.3, v.4, p.25-35, 2003.

SAÉZ, P. L. et al. Photosynthetic and leaf anatomical characteristics of *Castanea sativa*: a comparison between in vitro and nursery plants. **Biologia plantarum**, n. 1; v.56, p.15-24, 2012.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v.34, p.3–21, 2001.

SANTIAGO, E. J. A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, p.1035-1042, 2001.

SANTOS, M. R. A. et al. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Revista Brasileira de Botânica**, n.2, v.33, p.319-324, 2010.

SAROYA, A. S. Herbalism, Phytochemistry and Ethnopharmacology. Published by Science Publishers, P.O. Box 699, Enfield, NH 03748, USA, v.1, 2011, 411p.

SATIL, F. H.; SELVI, S. An anatomical and ecological study of some *Crocus* L. taxa (Iridaceae) from the west part of Turkey. **Acta Botanica Croatica**, n.1, v.66, p.25-33, 2007.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba. Ed. Agropecuária. 2001, 463 p.

SILVA, E. M.; MACHADO, S. R. Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C.DC. var. *regnellii* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.22, p.117-124, 1999.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2000. 416p

SMITH, W. K. et al. Leaf Form and Photosynthesis: Do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide. **BioScience**, n.11, v. 41, p.785-793, 1997.

SMITH, A. M.; STITT, M. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, Cell and Environment**, n.9, v.30, p.1126-1149, 2007.

SOUSA, P. J. C. et al. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, n.2, v. 18, n. 2, p. 217-221, 2008.

SOUZA, G. S. et al. Características biométricas e fisiológicas de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. **Revista Brasileira de Biociências**, n.4, v.8, p.330-335, 2010.

STEINGER, T.; ROY, B. A.; STANTON, M. L. Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. **Journal of Evolutionary Biology**, n.2, v.16, p.313-323, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre. Ed. Artmed. 2009, 719p.

TAKEMIYA, A. et al. Phototropins Promote Plant Growth in Response to Blue Light in Low Light Environments. **The Plant Cell**, n.4, v.17, p.1120-1127, 2005.

TENNESSEN, D. J.; SINGSAAS, E. L.; SHARKEY, T. D. Light-emitting diodes as a light source for photosynthesis research. **Photosynthesis Research**, n.1, v.39, p.85-92, 1994. 85

VERPOORTE, R.; HEIJDEN, R. V. D.; MEMELINK, J. Engineering the plant Cell Factory for Secondary Metabolite Production. **Trangenic Research**, v. 9, p. 323-343, 2000.

VIDAL, J. et al. Efecto tóxico de *Argemone subfusiformis* Ownb. y *Tagetes patula* Link sobre larvas del IV estadio y pupas de *Aedes aegypti* L. **Revista Peruana de Biología**, v.15, n.2, 2008

WANG, R.; GUO, Z. H. Photosynthetic responses of *Schima superba* grown in different light regimes of subtropical evergreen broadleaf forest. **Forest Research**, v.20, p.688-693, 2007.

YAN, J. X.; LU, Y. F.; YAN, S. C. The effects of Irradiance on the Production of Phenolic Compounds and Condensed Tannins in *Larix gmelinii* Needles. **Biologia Plantarum**, n.10, v.20, p.1-5, 2013.

ZAVALA, J. A.; RAVETTA, D. A. Allocation of photoassimilates to biomass, resin and carbohydrates in *Grindelia chiloensis* as affected by light intensity. **Field Crops Research**, n.2, v.69, p.143-149, 2001.

ZERVOUDAKIS, G. et al. Influence of Light Intensity on Growth and Physiological Characteristics of Common Sage (*Salvia officinalis* L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, n.1, v.55, p.89-95, 2012.

ZHANG, S. X. et al. The isolation and structural elucidation of three new neolignans, piperulins [corrected] A, B, and C, as platelet activating factor receptor antagonists from *Piper puberulum*. **Journal of Natural Products**, n.10, v.58, p.1002-1002, 1996.

ZHANG, S.; MA, K.; CHEN, L. Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments. **Environmental and Experimental Botany**, n.2, v.49, p.121-133, 2003.

## CAPITULO 2

### **Crescimento e Produção de Compostos Secundários em Folhas de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação**

#### **RESUMO**

*Piper aduncum* (L.) conhecida popularmente como pimenta-de-macaco possui grande potencial para exploração econômica em função da comprovada utilidade de seu óleo essencial que apresenta compostos secundários usados na agricultura e saúde humana. Contudo, a produção destes compostos varia em função de uma série de fatores. A luz, tanto em termos de qualidade como em termos de quantidade, é um dos mais importantes fatores ambientais que alteram a síntese destes compostos por afetar a formação morfológica e as funções fisiológicas das plantas. Assim o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito de diferentes condições de radiação sobre a concentração de compostos fenólicos e flavonoides, bem como seu efeito no crescimento de *Piper aduncum*. Mudanças de *Piper aduncum* foram cultivadas por 4 meses sob diferentes condições de radiação, conseguidos com sombrite (50%, 70% e 100%) e com malhas fotoconversoras, na cor vermelha (MV) e na cor azul (MA). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo utilizadas vinte plantas para avaliação do crescimento e cinco para as análises dos compostos secundários. O crescimento foi avaliado, tomando-se por base as seguintes variáveis morfológicas: altura, diâmetro do colo, área foliar total, número de folhas, massa seca da folha, massa seca do caule, massa seca da raiz e massa seca total. Também foi calculada as relações: razão raiz parte aérea, área foliar específica, razão de área foliar, razão de peso foliar e razão de peso radicular. Os metabólitos secundários foram analisados 150 dias após o transplante sendo quantificados os teores de compostos fenólicos solúveis totais, lignina e flavonoides. Além disso, foi verificado também a atividade da fenilalanina amônio liase. O crescimento de *Piper aduncum* foi afetado pelas diferentes condições de irradiância, sendo que as plantas cultivadas sob malha azul foram as que apresentaram maior crescimento e produção de matéria seca. Contudo, a espécie também mostrou respostas de crescimento que possibilitam sua sobrevivência sob 100% de irradiância havendo maior investimento em raiz e espessura de folha. A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode-se inferir também que a síntese dos compostos secundários (fenóis solúveis totais, lignina e flavonoides) foi influenciada pelas diferentes condições de irradiância. A

maior quantidade de compostos secundários foram obtidos nas plantas cultivadas sob malha azul.

Palavras-chave: Pimenta macaco. Flavonoides. Lignina. Compostos fenólicos.

## 1 INTRODUÇÃO

*Piper aduncum* L. (Piperaceae) é um arbusto nativo das Américas (ROCHA et al., 2008) que, embora ainda não seja cultivado comercialmente, possui um alto potencial. Devido a produção de um óleo essencial com elevado rendimento (2,5 a 3,5%), baixa toxicidade (SOUSA et al., 2008) e rico em dilapiol (31,5 a 91,1%), um éter fenílico com elevado padrão de oxigenação (MAIA et al., 1998). Este composto é responsável pelas propriedades antimicrobianas (FAZOLIN et al., 2005; LARA JUNIOR et al., 2012), inseticidas (MISNI et al., 2011) e moluscicida (ORJALA et al., 1994) comprovada da espécie. De acordo com Bernard et al. (1995) as espécies do gênero *Piper* podem produzir diversos tipos de compostos secundários como fenilpropanóides, lignóides e flavonóides que poderiam ser explorados pela indústria química e farmacêutica.

Contudo, é sabido que diversos fatores ambientais modificam a produção e qualidade destes compostos secundários (PETKOVSEK; STAMPAR; VEBERIC, 2009). A luz, tanto em termos de qualidade como em termos de quantidade, é um dos mais importantes fatores ambientais que alteram a síntese destes compostos por afetar a formação morfológica e as funções fisiológicas das plantas. A biossíntese de flavonóides e outros compostos fenólicos, por exemplo, necessitam de luz ou é reforçada pela luz (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). Estudos anteriores mostraram que a mudança na intensidade e qualidade da luz promoviam aumento na produção de flavonóides e compostos fenólicos totais em plantas medicinais (GHASEMZADEH et al., 2010; KARIMI et al., 2013).

Desta forma, o cultivo de plantas medicinais onde microclima luminoso poderia ser manipulado, parece ser uma alternativa promissora para o controle

dos níveis de fitoquímicos e matérias primas de qualidade (JAAFAR; RAHMAT, 2008). Além disso, sob um ambiente de luz controlado e uniforme poderia ser esperado um aumento no crescimento, melhor planejamento da produção e maior controle de contaminação ou ataque de insetos (KARIMI et al., 2013). No entanto, as plantas apresentam diferenças interespecíficas em relação ao ambiente que poderia está afetando a produção dos compostos fenólicos totais e flavonóides (JAAFAR; RAHMAT, 2008). Estudos realizados em *Kalanchoe pinnata* mostraram um aumento na produção de compostos fenólicos quando expostas a suplementação por luz azul (NASCIMENTO et al., 2013). Em *Larix gmelinii* foi observado um aumento da produção de compostos secundários quando expostas a baixas irradiâncias (YAN; LU; YAN, 2013). Em *Zingiber officinale* Roscoe, altas irradiâncias promoveram um aumento na produção de flavonoides, enquanto as baixas aumentaram a produção de compostos fenólicos totais (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011).

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito de diferentes condições de radiação sobre a concentração de compostos fenólicos e flavonoides, bem como seu efeito no crescimento de *Piper aduncum*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de *Piper aduncum* foram produzidas no Departamento de Biologia/ Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras - UFLA, a partir de sementes, as quais foram pré-germinadas em placas de petri, sobre três folhas de papel de filtro e mantidas em câmara de germinação tipo Mangesdorf, a 25°C e sob fotoperíodo de 12hs, durante 30 dias.

Após este período, as plântulas foram transferidas para bandejas de polipropileno expandido de 72 células, contendo 55g de substrato comercial Plantmax por célula e mantidas em viveiro com 50% de sombreamento até atingirem 2,5 cm de altura. As plantas destinadas ao cultivo a pleno sol (100% de radiação) foram previamente aclimatizadas por 7 dias a 70% de irradiância e posteriormente por 7 dias a pleno sol antes de serem transplantadas para o substrato definitivo.

Após aclimatização, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 6 litros, contendo substrato composto por terra de subsolo, areia e esterco bovino, na proporção de 2:1:1, sendo dispostas nos diferentes tratamentos de radiação. As características físico-químicas do solo foram analisadas pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciências do solo da UFLA e foram as seguintes: pH:5,4; P: 4,13 mg.dm<sup>3</sup>; K: 73,32 mg.dm<sup>3</sup>; Ca: 2,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Mg: 0,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Al:0,10 cmolc.dm<sup>-3</sup>, H+Al: 2,90 cmolc.dm<sup>-3</sup>, V:49,00%; matéria orgânica: 2,10 dag.kg<sup>-1</sup>, Argila: 70,00 dag.kg<sup>-1</sup>; Silte: 16,00 dag.kg<sup>-1</sup> e Areia: 14,00 dag.kg<sup>-1</sup>.

O experimento foi conduzido no período de abril a agosto de 2012, na Fazenda Gota de Esperança do Departamento de Agricultura (DAG) na Universidade Federal de Lavras com as seguintes coordenadas: 21°14'07"S e 44°58'22"W, a 879 m de altitude. As médias climatológicas observadas durante

o período do experimento foram fornecidas pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e tiveram temperatura máxima de 30,2°C e mínima de 6,3°C, precipitação de 1,28 mm e umidade relativa de 72,7%. Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas durante 5 meses sob cinco espectros de irradiância produzidos por sombrite (30% e 50%), duas malhas Chromatinet® nas cores vermelha (MV) e azul (MA) que bloqueavam 50% da radiação incidente, além de um tratamento a pleno sol. A irrigação foi realizada diariamente, mantendo o solo na condição de capacidade de campo.

Com o auxílio de um espectroradiômetro portátil USB-650 RED TIDE, acoplado a uma fonte de radiação eletromagnética DT-MINI (200 a 2000 nm) e a uma sonda de reflectância R400-7-VIS-NIR (US Bio Solutions Ocean Optics®), avaliou-se o espectro de reflectância dos diferentes ambientes de radiação com uma resolução espectral de 1 nm. Foi observada para o tratamento a 50% irradiância de 6,54 W/m<sup>2</sup>, no tratamento com 70% 13,08 W/m<sup>2</sup>, no de 100% de 15,42 W/m<sup>2</sup>, na MV de 8,86 W/m<sup>2</sup> e na MA de 9,07 W/m<sup>2</sup>. Além disso, o espectro de radiação apresentou-se mais amplo no ambiente com 100% de irradiância, sendo seguido pelo ambiente proporcionado pela MV, 70%, 50% de irradiância e pelo ambiente com MA (Figura 1). Percebeu-se também que a malha azul proporcionou uma maior quantidade de radiação entre os intervalos de aproximadamente 450-550 nm e a malha vermelha 490-690 nm.

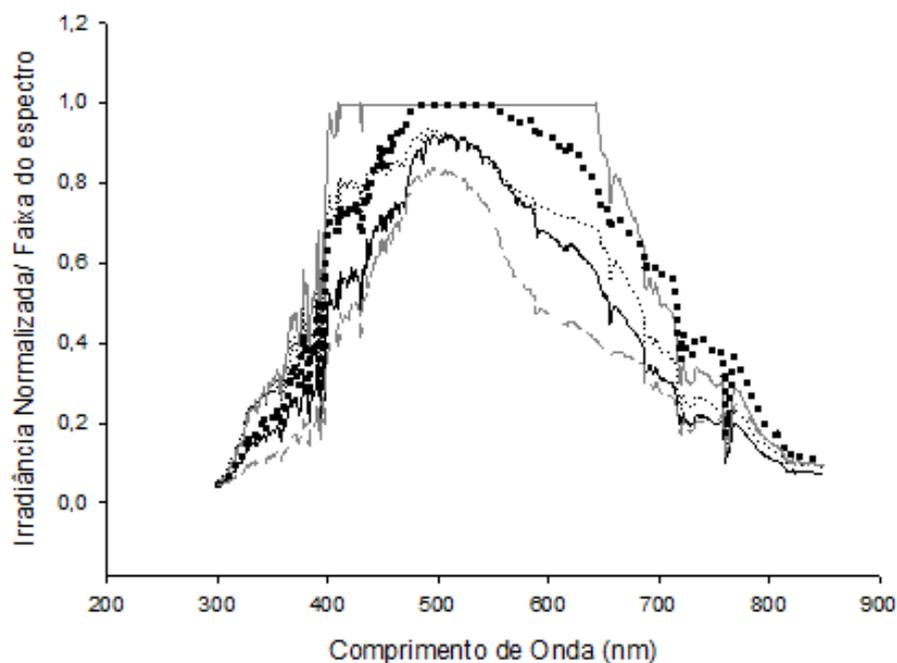


Figura 1 Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza)

O crescimento foi avaliado, em vinte plantas de cada tratamento, tomando-se por base as seguintes variáveis morfológicas: altura, diâmetro do colo, área foliar total, número de folhas, massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST). Também foi calculada as relações: razão raiz parte aérea ( $R/PA = MSR/MSF + MSC$ ), área foliar específica ( $AFE = AF/MSF$ ), razão de área foliar ( $RAF = AF/MST$ ), razão de peso foliar ( $RPF = MSF/MST$ ) e razão de peso radicular ( $RPR = MSR/MST$ ) empregando as equações, de acordo com Benincasa (2003).

A altura, diâmetro do colo, número de folhas e área foliar total foram medidos de 15 em 15 dias. A altura foi medida, com uma régua graduada de

precisão de 1mm, pela distancia da superfície do solo até o ápice. O diâmetro do colo foi medido com paquímetro digital com precisão de 0,01mm na superfície do solo. O número de folhas foi obtido através da contagem direta das folhas. A área foliar foi determinada através da medição de todas as folhas expandidas da planta medindo-se a largura e o comprimento do limbo foliar com régua graduada, sendo que, na ultima medição, a área foliar foi determinada com auxílio de um medidor de área foliar LI 3100- LICOR®, do qual se determinou um fator de correção (0,62) para as medições anteriores.

As variáveis, matéria seca da folha, matéria seca do caule, matéria seca da raiz e matéria seca total foram obtidas no final do período experimental (150 dias). A matéria seca foi obtida colocando-se as plantas separadas em folhas, caule e raízes, em estufa com circulação forçada de ar a 70°C até peso constante.

Os metabólicos secundários foram analisados 150 dias após o transplante sendo quantificados os teores de: compostos fenólicos solúveis totais, lignina e flavonoides. Além disso, foi verificado também a atividade da fenilalanina amônio liase (PAL). Foram coletadas duas folhas, completamente expandida, localizada entre o segundo e terceiro nó de cinco plantas por tratamento sendo as análises dos compostos efetuadas em triplicatas.

O teor de compostos fenólicos totais e lignina foram determinados de acordo com Zieslin e Ben-Zaken (1993) modificado. Para a extração o tecido foliar foi triturado em cadinho com nitrogênio líquido e posteriormente liofilizado por 6h. O material liofilizado foi pesado (30mg) e transferido para tubo de 2 ml acrescentando 1,5 mL de metanol 80% e mantido sob agitação por 15 h a temperatura ambiente e no escuro. O extrato foi centrifugado a 12000g por 15 min, sendo o sobrenadante utilizado para a quantificação dos compostos fenólicos totais e o precipitado para a extração de lignina.

Para a quantificação dos compostos fenólicos solúveis totais, foram misturados 30µL do extrato metanólico do reagente de Folin-Ciocalteu a 0,25N

em placa de Elisa, permanecendo em repouso por 5min. Depois foram adicionados 30  $\mu$ L de carbonato de sódio a 1M e homogeneizado por 10 minutos. Acrescentou-se mais 160  $\mu$ L de água destilada, mantendo em repouso por 1h e centrifugou a 2250g por 5 minutos. Foram coletados 180  $\mu$ L desta mistura e depositado em outra placa de Elisa. Todo o procedimento foi realizado em temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi efetuada a 725 nm. O conteúdo de fenólicos solúveis totais foi calculado com base na curva padrão de catecol e o valor expresso em  $\mu$ g de catecol por grama de matéria seca.

A lignina foi extraída a partir do precipitado ressuspenso em 1,5 mL de metanol 80% e centrifugado a 12000g por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e o precipitado seco a 65°C por quatro horas. O precipitado seco foi ressuspenso em 1,5 mL de solução de ácido tioglicólico e ácido clorídrico a 2M na proporção 1:10 e homogeneizado em banho maria a 100°C por quatro horas. Resfriou-se em gelo por 10 minutos e centrifugou a 12000g por 10 minutos. Novamente o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspendido em 1,5 mL de água destilada e submetido a centrifugação a 12000g por 10 minutos sob 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso em 1,5 mL de hidróxido de sódio a 0,5M mantidos sob agitação por 15 h em temperatura ambiente e submetido a centrifugação a 12000g por 10 minutos sob 4°C. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 2mL e adicionado 200  $\mu$ L de ácido clorídrico concentrado, mantido em gelo por quatro horas e centrifugado a 12000g por 10 minutos sob 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso em 2 mL de hidróxido de sódio a 0,5M e homogeneizado. Foi coletado 200  $\mu$ L do extrato e depositado em placa de Elisa UV e conduzido a leitura a 280nm. O conteúdo de lignina foi calculado com base na curva padrão de lignina e o valor expresso em mg de lignina por grama de matéria seca.

Os flavonoides totais foram quantificados através de espectrofotometria, empregando-se a metodologia adaptada de Santos e Blatt (2006). Cerca de 250 mg da matéria seca triturada das folhas permaneceram em metanol 70% (v/v) por 24hs, após esse período, uma alíquota de 50  $\mu$ L do sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio contendo 1,8 mL de metanol 70%, em seguida, foi adicionado 130 $\mu$ L de uma solução de cloreto de alumínio (5g de cloreto de alumínio em 100 ml de metanol 70%) e 6,7 ml de metanol 70%, sendo então agitado vigorosamente em Vortex e então deixado repousar por 30 minutos. A leitura foi feita na absorvância de 452 nm. A curva padrão foi realizada com doses crescentes de Rutina (Sigma –Aldrich 95%), sendo os teores de flavonoides totais expressos em mg flavonoides totais por grama de matéria seca.

A atividade da PAL foi avaliada segundo Mori et al. (2001) modificado, em que foi usada uma alíquota de 50  $\mu$ L do extrato enzimático adicionado a 150  $\mu$ L de um meio de incubação. O meio de incubação foi composto por 100  $\mu$ L de Tampão Tris-HCL pH 8,8 a 100 mM e 50  $\mu$ L de fenilalanina a 40 mM. A incubação foi realizada em placas de acrílico a 37°C por 2 horas no aparelho espectrofotômetro Elisa (POWER WAVE XS DA BIOTEK) a 280 nm, sendo as leituras realizadas a cada 10 minutos. A atividade da PAL foi expressa em  $\mu$ M  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína, sendo utilizado o coeficiente de extinção molar de  $10^4 \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  (ZUCKER, 1965).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo utilizadas 20 repetições por tratamento para as avaliações de crescimento e 5 repetições para as análises bioquímicas. Os dados obtidos ao longo do tempo (quantitativo) foram analisados por regressão polinomial ( $p < 0,05$ ), enquanto os dados qualitativos submetidos a análise de variância e as medias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), pelo Programa SAEG (SAEG-2007).

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

O crescimento das plantas variou em função dos diferentes tratamentos de irradiância (Figura 2). As plantas cultivadas sob malha vermelha e azul apresentaram o maior crescimento em altura e diâmetro do colo durante todo o período do experimento (Figura 2A, 2B). Resultados semelhantes foram observados para *Ocimum selloi*, *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata* onde as maiores alturas foram observadas nos tratamentos com malhas vermelha e azul (SOUZA et al., 2007; COSTA et al., 2010).

Quanto à área foliar, os maiores valores foram obtidos nas plantas cultivadas sob malha azul e vermelha, enquanto nos demais tratamentos tenderam a uma menor área foliar (Figura 2D). O incremento da área foliar nos tratamentos com malhas coloridas pode ser considerada uma forma da planta aumentar a superfície fotossintética, apresentando maior aproveitamento das baixas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensando as baixas taxas de fotossíntese por unidade da área foliar característica de folhas de sombra (JONES; MCLEOD, 1990). Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2009) trabalhando com a espécie *Artemisia vulgaris* que apresentou maior área foliar sob malha vermelha e azul quando comparada a 50% e 100% de irradiância.

Plantas cultivadas sob malha vermelha e azul, onde as proporções vermelho e azul do espectro são alteradas e ocorre um bloqueio da intensidade de radiação próxima de 50% (Figura 1), apresentaram as maiores médias para a área foliar. Enquanto, a menor área foliar foi observada no tratamento com 50% e 70% de radiação. Tal resultado indica que a qualidade de luz é um fator determinante para a expansão do limbo foliar de pimenta macaco quando comparado a intensidade de radiação.

O número de folhas foi maior nas plantas cultivadas sob malha vermelha, azul, 70% e 100% de radiação. Nos tratamentos com 100% e 70%

pode ser observado que as plantas reduziram sua área foliar, mas aumentaram o número de folhas. Respostas semelhantes foram observadas em *Ocimum gratissimum* onde as altas irradiâncias proporcionaram uma diminuição da área foliar e um aumento do número de folhas (FERNANDES et al., 2013).

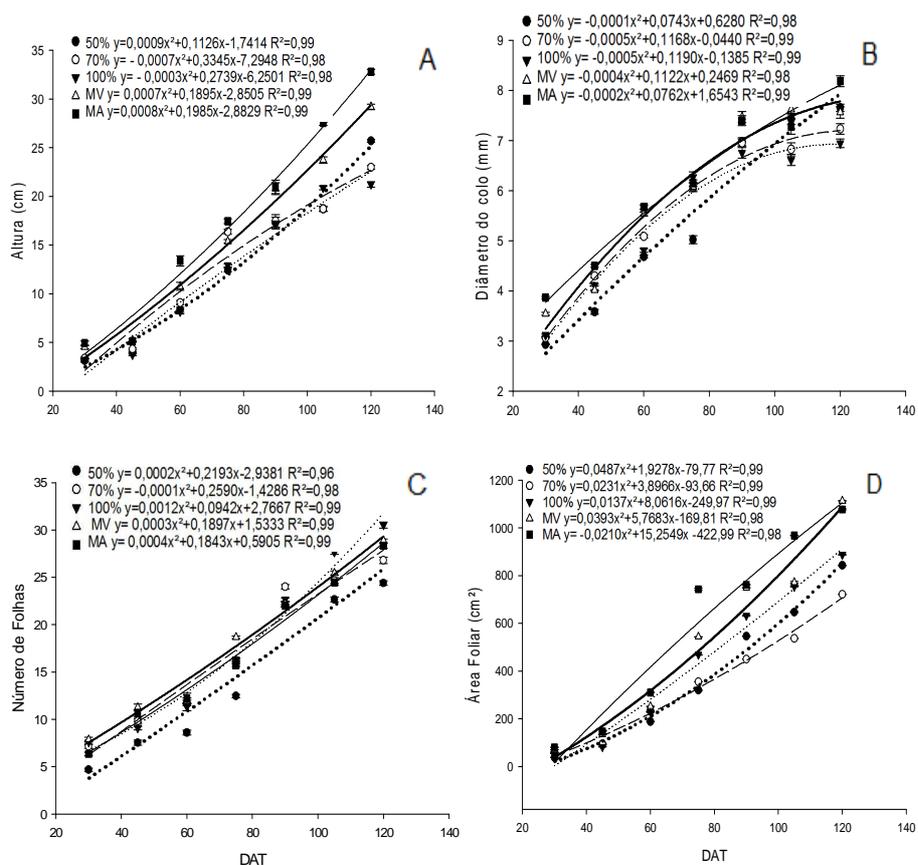


Figura 2 Altura (A), Diâmetro do colo (B), Número de folhas (C) e Área Foliar (D) de *Piper aduncum* cultivadas em diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100%, malha vermelha (MV) e malha azul (MA)) ao longo de 120 DAT (dias após o transplante). Lavras-MG

A produção de MSF e MSC foram maiores nos tratamentos com 50% de irradiância, MV e na MA (Figura 3). Ocorreu uma tendência de maior MSR nas plantas cultivadas sob 100% de irradiância e MV. A produção de matéria seca total foi maior nos tratamentos com 100% de irradiância, MV e MA. Este resultado mostra a importância da intensidade e qualidade radiação para o crescimento vegetal, não somente pelo fornecimento de energia para a fotossíntese, mas por gerar sinais que regulam seu desenvolvimento.

A RPF foi maior no tratamento com 100% e 50% de irradiância e menor na malha vermelha e a RPR foi maior nas plantas cultivadas sob 100% e 70% de radiação e na malha vermelha (Tabela 1). A maior AF e MST encontradas nas plantas cultivadas sob malha azul evidencia que o aumento da AF das folhas permitiu maior interceptação da luz, favorecendo a produção de fotoassimilados (LI; KUBOTA, 2009).

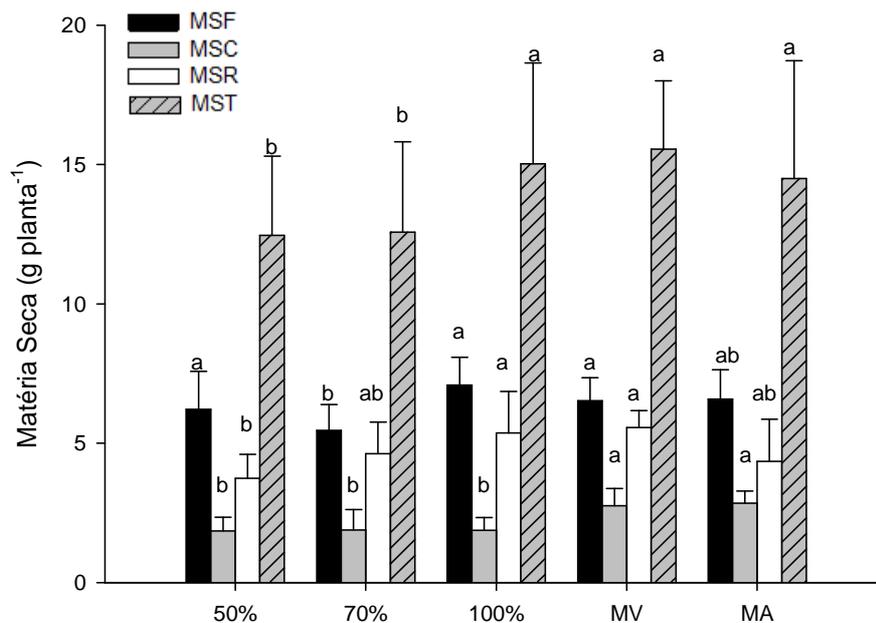


Figura 3 Massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100% de irradiância e malha vermelha (MV) e malha azul (MA)). Médias seguidas pela mesma letra, entre colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%

A razão R/PA foi maior nas plantas que cresceram sob 100%, 70% de irradiância e na malha vermelha e menor nos tratamentos com malha azul e 50% de irradiância (Tabela 1). A maior razão R/PA encontradas nas plantas à 100% de irradiância confirma a maior alocação de matéria seca para a raiz. Normalmente plantas com sistemas radiculares mais desenvolvidos tem maior capacidade para suportar taxas fotossintéticas elevadas sob a alta transpiração que ocorre nesse tipo de ambiente, pois podem absorver maior quantidade de

água e nutrientes (CLAUSSEN, 1996). Além disso, a baixa razão R/PA e a maior altura nas plantas cultivadas sob malha azul confirma o maior investimento em parte aérea nesta condição.

A ocorrência de maior RPF e maior razão R/PA nas plantas a 100% de irradiância, pode estar relacionada a plasticidade de crescimento induzida pelas diferentes condições de radiação, resultando na adaptabilidade da espécie ao regime de maior irradiância. Resultados contrários foram observados em plantas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don ‘Pacífica White’ que não demonstrou adaptabilidade a 100% de irradiância (MELO; ALVARENGA, 2009).

Tabela 1 Razão raiz parte aérea (R/PA), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF), razão de peso foliar (RPF) e razão de peso radicular (RPR) de *Piper aduncum* cultivadas em diferentes condições de

TRAT	R/PA (g)	AFE (cm <sup>2</sup> . g <sup>-1</sup> )	RAF (cm <sup>2</sup> . g <sup>-1</sup> )	RPF (g. g <sup>-1</sup> )	RPR (g. g <sup>-1</sup> )
50%	0,47b	108,70a	32,63a	0,30a	0,18b
70%	0,63a	100,52b	28,04b	0,28b	0,23a
100%	0,60a	90,78b	27,18b	0,30a	0,22a
MV	0,60a	116,43a	30,43a	0,26b	0,23a
MA	0,46b	118,81a	33,08a	0,28ab	0,18b
CV(%)	22,09	16,69	17,39	11,18	18,89

radiação (50%, 70%, 100%, malha vermelha (MV) e malha azul (MA))  
 \*Médias seguidas pela mesma letra, entre colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5%

A AFE foi menor no tratamento com 70% e 100% de radiação e maior tratamento com malha azul (Tabela 1). A diminuição da AFE nos tratamentos com o aumento da irradiância, possivelmente, é resultado de um maior espessamento das folhas nestes tratamentos. Mudanças na estrutura foliar, como na AFE, são descrito como principais mecanismos de aclimação sob diferentes condições ambientais (ARANDA et al., 2004). Além disso, a redução na

espessura das folhas em plantas sombreadas deve-se, à diferença na distribuição e no consumo de fotoassimilados para expansão foliar, especialmente nas plantas cultivadas sob a malha azul, que apresentaram folhas com maior área foliar e uma maior RAF. Esta resposta é uma estratégia adaptativa que pode possibilitar maior captura de luz e permitir maior eficiência fotossintética para maiores ganhos de carbono (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em plantas de *Ocimum selloi* também foi verificado uma redução na espessura do limbo foliar quando cultivadas sob malha azul (COSTA et al., 2010).

As diferentes condições de radiação também apresentaram efeito sobre a produção de compostos fenólicos (Figura 4). O conteúdo total de compostos fenólicos e lignina foram maiores no tratamento com MA e menor no tratamento com 100% de irradiância e na MV (Figura 4A, 4B). Tal resultado indica que esses compostos são influenciados tanto pela qualidade e quantidade de radiação. Estudos realizados com *Protea cynaroides* L., cultivadas *in vitro*, também apresentou maior concentração de compostos fenólicos quando cultivadas sob luz azul (LED) e menor quantidade sob luz vermelha (WU; LIN, 2012). Por outro lado o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivado sob diferentes intensidade de luz natural apresentou resultados contrários, onde altas irradiância promoveu um aumento destes compostos (GHASEMZADEH et al., 2010).

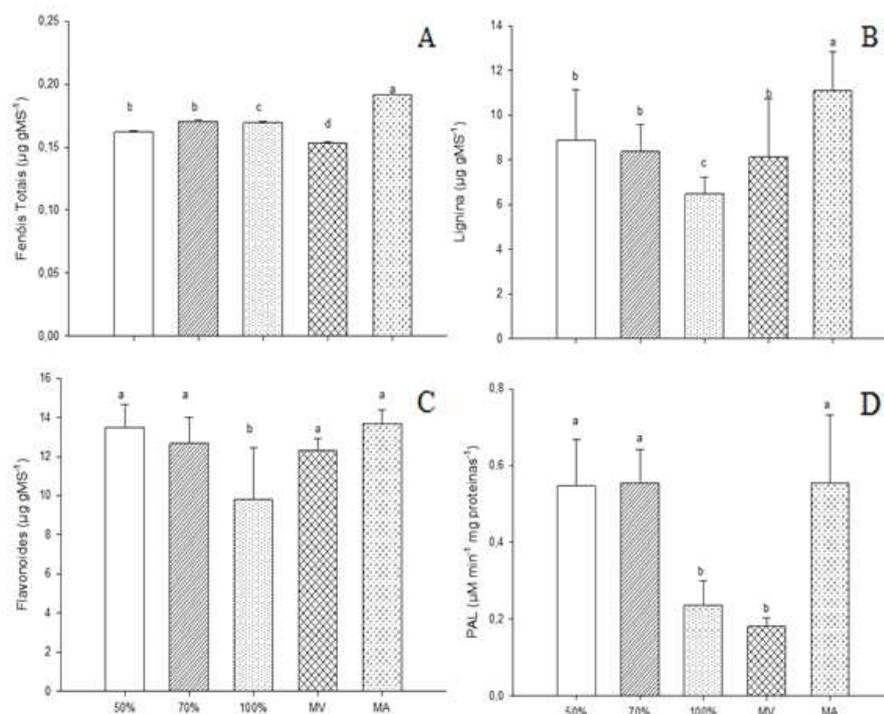


Figura 4 Produção de compostos fenólicos solúveis totais (A), lignina (B), flavonoides totais (C) e atividade da fenilalanina amônio liase (D) em folhas de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100% de irradiância, malha vermelha- MV, malha azul- MA). Médias seguidas pela mesma letra, entre colunas, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5%

O aumento dos teores de lignina nas plantas cultivadas sob MA pode ser reflexo das mudanças anatômicas normalmente induzidas em condições adversas que proporcionam a proteção das células (GHASEMZADEH et al., 2010). Desta forma, a maior produção de compostos fenólicos e lignina pode ser relacionada a maior resistência das plantas (MARTTI et al., 2004). Assim, um elevado teor de compostos fenólicos no tratamento com MA pode ser benéfico na resposta a

doenças ou ataque de herbívoros em *Piper aduncum*. Adicionalmente a síntese destes compostos é mais influenciada pela qualidade da luz.

O conteúdo de flavonoide foi menor no tratamento com 100% de irradiância não ocorrendo diferenças significativas entre os demais tratamentos (Figura 4C). Tal resultado pode indicar a maior influencia das intensidades de irradiâncias na produção deste composto. Ghasemzadeh e Ghasemzadeh (2011) também observaram que folhas de *Zingiber officinale Roscoe* apresentaram maiores teores de flavonoides quando expostas a sombra.

Os flavonoides são conhecidos como substancias que protegem as plantas contra os danos induzidos pela luminosidade em excesso e como antioxidantes (JAAKOLA et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2013). Desta forma o cultivo de *Piper aduncum* a 100% de irradiância não foi benéfico para a estimulação destas defesas ou ainda a espécie deste estudo pode apresentar outros mecanismos para se proteger de altas irradiâncias.

A atividade da PAL foi maior nos tratamentos com 50%, 70% de irradiância e na MA (Figura 4D). A PAL é considerada uma enzima chave para a síntese de compostos fenólicos e flavonoides o que demonstra que os maiores teores observados destes compostos pode estar relacionado a maior atividade desta enzima (GHASEMZADEH & GHASEMZADEH, 2011). Além disso, a luz azul promove a indução de genes que regulam a expressão da PAL (MENG; XING; WANG, 2004). Resultados contrários foram observados em folhas de *Labisia pumila* Benth, cultivadas em estufa, onde a maior atividade da PAL foi observada no tratamento com maior intensidade de irradiância -  $630 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (KARIMI et al., 2013).

A influencia de altas irradiâncias na redução da produção de fotoassimilados do metabolismo primário, pode promover um aumento na concentração de compostos fenólicos forçando a planta a desenvolver estratégias para se defender (WARREN et al., 2003). Assim a menor síntese dos

compostos secundários observado nas plantas cultivadas sob 100% de irradiância está relacionado a indução de um estresse que força o desenvolvimento de outras formas de adaptação a essa condição. Todavia, mais estudos são necessários para determinar se o aumento da produção de compostos secundários é devido à queda de produção de metabólitos primários através da fotossíntese ou ao estresse induzidos pelas altas irradiâncias (GHASEMZADEH & GHASEMZADEH, 2011).

#### 4 CONCLUSÃO

O crescimento de *Piper aduncum* foi afetado pelas diferentes condições de irradiância, sendo que as plantas cultivadas sob malha azul foram as que apresentaram maior crescimento e produção de matéria seca. Contudo, a espécie também mostrou respostas de crescimento que possibilitam sua sobrevivência sob 100% de irradiância havendo maior investimento em raiz e espessura de folha.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode se inferir também que a síntese dos compostos secundários (fenóis solúveis totais, lignina e flavonoides) foi influenciada pelas diferentes condições de irradiância. A maior quantidade de compostos secundários foram obtidos nas plantas cultivadas sob malha azul.

## REFERÊNCIAS

ARANDA, I. et al. Anatomical basis of the change in leaf mass per area and nitrogen investment with relative irradiance within the canopy of eight temperate tree species. **Acta Oecologica**, v.25, p.187-195, 2004.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. FUNEP. Jaboticabal-SP. 2003, 41 p.

BERNARD, C. B. et al. Insecticidal Defenses of Piperaceae from the Neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v.21, n.6, p.801-814, 1995.

CLAUSSEN, J. W. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. **Forest Ecology and Management**, v. 80, p. 245-255, 1996.

COSTA, L. C. B. et al. Effects of Coloured Shade netting on the Vegetative Development and Leaf structure of *Ocimum selloi*. **Bragantia**, v.69, n.2, p.349-359, 2010.

FAZOLIN, M. et al. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 485-489, 2005.

FERNANDES, V. F. et al. Light intensity on growth, leaf micromorphology and essential oil production of *Ocimum gratissimum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.3, v.23, p.419-424, 2013.

GHASEMZADEH, A. et al. Synthesis of Phenolics and Flavonoids in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and their Effects on Photosynthesis Rate. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p.4539-4555, 2010.

GHASEMZADEH, A.; GHASEMZADEH, N. Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human. **Journal of Medicinal Plants Research**, n.5, v.31, p. 6697-6703, 2011.

GONÇALVES, B. et al. Leaf structure and function of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.) cultivars with open and dense canopies. **Scientia Horticulturae**, v.116, p.381–387, 2008.

JAAFAR, H.; RAHMAT, A. Accumulation of partitioning of total phenols in two varieties of *Labisia pumila* benth under manipulation of greenhouse irradiance. **Acta Horticulturae**, v.797, p.387–392, 2008.

JAAKOLA, L. et al. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. **Planta**, v.218, p.721–728, 2004.

JONES, R. H.; MCLEOD, K.W. Responses to a range light environments in Chinese Tallowtree and Carolina Ash seedlings. **Forest Science**, v.36, p.851-62, 1991.

KARIMI, E. et al. Light intensity effects on production and antioxidant activity of flavonoids and phenolic compounds in leaves, stems and roots of three varieties of *Labisia pumila* Benth. **Australian Journal of Crop Science**, n.7, v.7, p.1016-1023, 2013.

LARA-JÚNIOR, C. R. et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, n.6, v.21, p.3800-3805, 2012.

LI, Q.; KUBOTA, C. Effects of Supplemental Light Quality on Growth and Phytochemicals of Baby Leaf Lettuce. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, p.59-64, 2009.

MAIA, J. G. S. et al. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavour Fragrance Journal**, v.13, p.269-272, 1998.

MARTTI, V. et al. The Concentration of Phenolics in brown-rot decay Resistant and Susceptible Scots Pine Heartwood. **Wood Science Technology**, v.38, p.109-118, 2004.

MELO, A. A. M.; ALVARENGA, A. A. Sombreamento de Plantas de *Catharanthus roseus* (L.) g. don 'Pacifica White' por Malhas Coloridas: Desenvolvimento Vegetativo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 514-520, 2009.

MENG, X.; XING, T.; WANG, X. The Role of Light in the Regulation of Anthocyanin accumulation in *Gerbera hybrida*. **Plant Growth Regulation**, v.44, p.243–250, 2004.

MISNI, N. et al. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. **Tropical Biomedicine**, v.28, n.2, p.249-258, 2011.

MORI, T. et al. Effects of conditioned medium on activities of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragaria ananassa*. **Plant Science**, v.160, p.355–360, 2001.

NASCIMENTO, L. B. S. et al. Increased Antioxidant Activity and Changes in Phenolic Profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) Specimens Grown under Supplemental Blue Light. **Photochemistry and Photobiology**, v.89, p.391–399, 2013.

OLIVEIRA, M. I. et al. Características biométricas, anatômicas e fisiológicas de *Artemisia vulgaris* L. cultivada sob telas coloridas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n.1, v.11, p.56-62, 2009.

ORJALA, J. et al. Cytotoxic and Antibacterial Dihydrochalcones from *Piper aduncum*. **Journal of Natural Products**, v.57, n.1, p.18-26, 1994.

PETKOVSEK, M. M., STAMPAR, F., VEBERIC, R. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.74, p.60-67, 2009.

ROCHA, S. F. R. et al. Role of Light and Phytochrome on *Piper aduncum* L. Germination: An Adaptive and Environmental Approach. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v.11, n.3, p.85-96, 2008.

SAEG. 2007. Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas,-Fundação Arthur Bernardes- UFV.

SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, n.2, v.21, 1998.

SOUSA, P. J. C. et al. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.217-221, 2008.

SOUZA, G. S. et al. Estrutura foliar e de cloroplastídeos de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, supl. 1, v. 5, p. 78-80, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre. Ed. Artmed. 2009, 719p.

WARREN, M. J. et al. Ultraviolet-B radiation of *Populus trichocarpata* leaves. **Tree Physiology**, v.23, p.527-535, 2003.

WU, H.; LIN, C. Red light-emitting diode light irradiation improves root and leaf formation in difficult-to-propagate *Protea cynaroides* L. plantlets *in vitro*. **HortScience**, n.10, v.47, p.1490-1494, 2012.

YAN, J. X.; LU, Y. F.; YAN, S. C. The effects of Irradiance on the Production of Phenolic Compounds and Condensed Tannins in *Larix gmelinii* Needles. **Biologia Plantarum**, n.10, v.20, p.1-5, 2013.

ZIESLIN, N.; BEN-ZAKEN, R. Peroxidase activity and presence of phenolic substances in peduncles of rose flowers. **Plant Physiology and Biochemistry**, n.3, v.31, p.333-339, 1993.

ZUCHER, M. Induction of phenylalanina deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v.40, p.779-784, 1965.

### CAPITULO 3

#### **Trocas Gasosas e Produção de Pigmentos Fotossintéticos em *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação**

##### **RESUMO**

A espécie *Piper aduncum* é uma planta com grande potencial econômico, pois possui um óleo essencial que apresenta compostos com propriedade antimicrobiana e inseticidas. Contudo, a síntese destes compostos possui correlações positivas entre taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> e o crescimento. Assim, como a luz afeta diretamente processo de fotossíntese, o presente estudo avaliou a influencia de diferentes condições de radiação no desempenho fotossintético, a partir de variáveis relacionadas as trocas gasosas e a produção dos pigmentos fotossintéticos de *Piper aduncum*. Os tratamentos consistiram em ambientes com 100 %, 70% e 50% da radiação conseguidos com sombrite e dois ambientes com malhas coloridas (vermelho e azul). Após 150 dias de cultivo, a atividade fotossintética (A), condutância estomática (gs) e transpiração (E) , a concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) , déficit de pressão de vapor ( DVP ) , temperatura da folha , a concentração de CO<sub>2</sub> interna / externa (Ci/Ca) , eficiência de carboxilação (A/Ci) e eficiência do uso da água (A/e) foram avaliados. Adicionalmente foram analisados a quantidade de clorofila a, b, carotenóides, relação total e clorofila a/b. A partir dos dados observados , pode concluir-se que a espécie desenvolve várias respostas adaptativas a diferentes condições de radiação. Além disso, pode-se inferir que o seu processo de fotossíntese é mais eficaz em ambientes com altas intensidades de radiação, apresentando maior eficiência fotossintética quando cultivada sob 70 % e 100 % da radiação.

Palavras-chave: Pimenta macaco. Fotossíntese. Luminosidade. Clorofila.

## 1 INTRODUÇÃO

*Piper aduncum* L. (Piperaceae), conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, é um arbusto nativo das Américas (ROCHA et al., 2008). Apresenta uma ampla distribuição geográfica na América Central, Antilhas e América do Sul. No Brasil, pode ser encontrada nos estados do Acre, Pará, Mato Grosso, Ceará, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (FAZOLIN et al., 2006). Embora ainda não seja cultivada comercialmente, a espécie possui elevado potencial devido as suas propriedades antimicrobianas (FAZOLIN et al., 2005; LARA JUNIOR et al., 2012), inseticidas (MISNI; OTHMAN; SULAIMAN, 2011) e baixa toxicidade (SOUSA et al., 2008) do seu óleo essencial, o que a torna de alto valor para indústria farmacêutica e química.

A procura de vegetais que apresentam características antimicrobianas tem crescido nos últimos anos, contudo, a maioria dos estudos realizados focam apenas na atividade biológica do óleo essencial produzido por algumas espécies medicinais. As pesquisas relacionadas às áreas agronomicas são escassas ou se limitam a um número muito restrito de espécies, normalmente exóticas. Além disso, o cultivo de espécies vegetais em sistemas de produção, seja com finalidade econômica ou conservacionista, requer uma série de cuidados que dependem do conhecimento prévio de suas características fisiológicas e exigências ecológicas nas diversas etapas de seu ciclo vital (SANTIAGO et al., 2001). Portanto, o cultivo de espécies medicinais em diferentes condições ambientais constitui uma temática atrativa e importante para as pesquisas agrônomicas, visto que são incipientes o conhecimento das respostas dessas espécies em ambiente protegido.

A radiação, tanto em termos de qualidade como de quantidade, seguramente é um dos mais importantes fatores do ambiente físico que pode

interferir na morfologia e fisiologia vegetal (WANG; GUO, 2007) e na fisiologia das plantas (KUREPIN et al., 2007). Altas irradiâncias, de uma maneira geral, podem promover uma redução na eficiência fotossintética, resultando na degradação do aparelho fotossintético (MARCHESE et al., 2008). LIMA JUNIOR et al. (2006), trabalhando com *Cupania vernalis*, observaram que alterações na intensidade de luz promoveram alterações morfológicas que afetavam diretamente a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e a transpiração, promovendo alterações na fotossíntese líquida. Contudo, as plantas apresentam respostas diversificadas em relação a esse fator ambiental e grande parte dos estudos não avalia variáveis fisiológicas diretas, como aquelas envolvidas nas trocas gasosas a fim de verificar respostas específicas nos processos fisiológicos (DAS, 2004).

Os ajustes no aparato fotossintético determinam a plasticidade adaptativa das espécies a diferentes condições de irradiância. Segundo ALVARENGA et al. (2003), plantas com maior eficiência na conversão de energia radiante em energia química conseguem maior desempenho e produtividade. Desta maneira, estudos referentes a trocas gasosas podem ser uma forma de avaliar a influência da radiação, do ponto de vista da qualidade e quantidade, na otimização da produção de biomassa e no acúmulo de metabólitos secundários de interesse, visto que, segundo Zavala e Ravetta (2001), há correlações positivas entre taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> com o metabolismo secundário e crescimento.

Objetivou-se neste estudo, avaliar a influencia de diferentes condições de radiação no desempenho fotossintético, a partir de variáveis relacionadas as trocas gasosas, e na produção dos pigmentos de *Piper aduncum*, tendo em vista a sua importância medicinal e a falta de conhecimento sobre a capacidade adaptativa do processo fotossintético a diferentes ecoambientes.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de *Piper aduncum* foram produzidas no Departamento de Biologia/ Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras - UFLA, a partir de sementes, as quais foram pré-germinadas em placas de petri, sobre três folhas de papel de filtro e mantidas em câmara de germinação tipo Mangesdorf, a 25°C e sob fotoperíodo de 12hs, durante 30 dias.

Após este período, as plântulas foram transferidas para bandejas de polipropileno expandido de 72 células, contendo 55g de substrato comercial Plantmax por célula e mantidas em viveiro com 50% de sombreamento até atingirem 2,5 cm de altura. As plantas destinadas ao cultivo a pleno sol (100% de irradiância) foram previamente aclimatizadas por 7 dias a 70% de irradiância e posteriormente por 7 dias a pleno sol antes de serem transplantadas para o substrato definitivo.

Após aclimatização, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 6 litros, contendo substrato composto por terra de subsolo, areia e esterco bovino, na proporção de 2:1:1, sendo dispostas nos diferentes tratamentos de irradiância. As características físico-químicas do solo foram analisadas pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciências do solo da UFLA e foram as seguintes: pH:5,4; P: 4,13 mg.dm<sup>3</sup>; K: 73,32 mg.dm<sup>3</sup>; Ca: 2,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Mg: 0,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Al:0,10 cmolc.dm<sup>-3</sup>, H+Al: 2,90 cmolc.dm<sup>-3</sup>, V:49,00%; matéria orgânica: 2,10 dag.kg<sup>-1</sup>, Argila: 70,00 dag.kg<sup>-1</sup>; Silte: 16,00 dag.kg<sup>-1</sup> e Areia: 14,00 dag.kg<sup>-1</sup>.

O experimento foi conduzido no período de abril a agosto de 2012, na Fazenda Gota de Esperança do Departamento de Agricultura (DAG) na Universidade Federal de Lavras com as seguintes coordenadas: 21°14'07"S e 44°58'22"W, a 879 m de altitude. As médias climatológicas observadas durante

o período do experimento foram fornecidas pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e tiveram temperatura máxima de 30,2°C e mínima de 6,3°C, precipitação de 1,28 mm e umidade relativa de 72,7%. Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas durante 5 meses sob cinco condições de radiação produzidos por sombrite (30% e 50%), duas malhas Chromatinet® nas cores vermelha (MV) e azul (MA) que bloqueavam 50% da radiação incidente, além de um tratamento a pleno sol. A irrigação foi realizada diariamente, mantendo o solo na condição de capacidade de campo.

Com o auxílio de um espectroradiômetro portátil USB-650 RED TIDE, acoplado a uma fonte de radiação eletromagnética DT-MINI (200 a 2000 nm) e a uma sonda de reflectância R400-7-VIS-NIR (US *Bio Solutions Ocean Optics*®), avaliou-se o espectro de reflectância dos diferentes ambientes de radiação com uma resolução espectral de 1 nm. A irradiância média observada para o tratamento a 50% foi de 6,54 W/m<sup>2</sup>, no tratamento com 70% foi de 13,08 W/m<sup>2</sup>, 100% de 15,42 W/m<sup>2</sup>, na MV de 8,86 W/m<sup>2</sup> e na MA de 9,07 W/m<sup>2</sup>. A irradiância normalizada para cada ambiente apresentou maiores valores em termos de quantidade e tamanho do espectro para o ambiente com 100% de irradiância, sendo seguido pelo ambiente proporcionado pela MV, 70% e 50% de irradiância e pelo ambiente com MA (Figura 1). Percebeu-se também que a malha azul proporcionou um pico de irradiância entre aproximadamente 450-550 nm e a malha vermelha 490-690 nm.

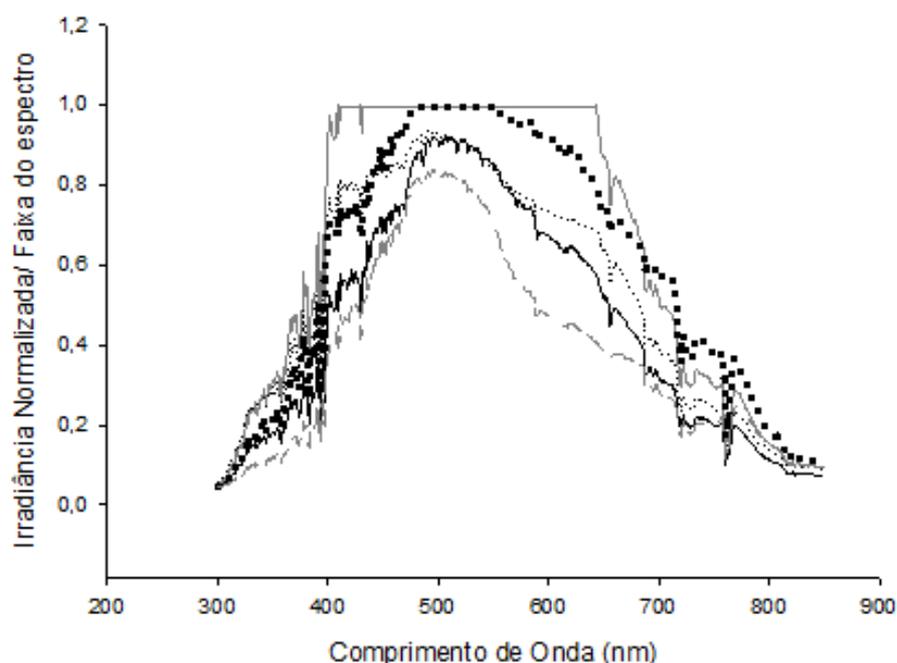


Figura 1 Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza)

Para a avaliação das trocas gasosas, foram selecionadas aleatoriamente duas folhas completamente expandidas, localizadas entre o segundo e terceiro nó, de cinco plantas por tratamento. As variáveis relacionadas a esta característica foram medidas cinco meses após o transplante das mudas, sem nenhuma nebulosidade, às 9 hs da manhã com o analisador portátil de  $\text{CO}_2$  infravermelho (IRGA), da marca LI-COR®, modelo LI-6400, que foi operado em sistema com fonte artificial de radiação fotossinteticamente ativa (Blue + Red LED LI-6400-02B, LI-COR®, Lincoln, USA). A densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativo (DFFFA) foi de  $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  no tratamento com 50% de irradiância e nas malhas coloridas,  $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e no

tratamento com 70% de irradiância e  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  no tratamento com 100% de irradiância, as quais foram padronizadas de acordo com a radiação incidente em cada ambiente no dia da primeira análise. A concentração de  $\text{CO}_2$  na câmara foi de  $380 \pm 3 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ .

As variáveis relacionadas as trocas gasosas analisadas foram: fotossíntese líquida (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  (Ci), déficit de pressão de vapor (DPV) e temperatura foliar (TF). Além disso, também foram calculados a relação Ci/Ca, a eficiência de carboxilação (A/Ci) e a eficiência instantânea do uso da água (A/E).

Os pigmentos fotossintéticos analisados foram clorofila *a*, clorofila *b*, relação *a/b*, clorofila total e carotenoides. A extração foi realizada, conforme metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001), sendo coletadas folhas completamente expandidas localizadas no terceiro nó, cinco meses após o transplante. Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em papel alumínio e transportadas em caixa de isopor contendo gelo até o Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas (Departamento de Biologia/UFLA), para imediata extração e quantificação dos pigmentos.

Para a extração dos pigmentos, foram pesados 200 mg de matéria fresca das folhas e homogeneizadas com 10 mL de acetona 80% (v/v), filtrados em lã de vidro, completando-se o volume para 30 mL de acetona 80%. Imediatamente após este procedimento, foi realizada a leitura da absorbância a 663,2 nm, 646,8 nm e 470nm. Todo o procedimento foi realizado no escuro para evitar a degradação das clorofilas. Os teores clorofila e carotenoides foram calculados seguindo as seguintes equações: clorofila *a*  $[(12,25 \times A_{663,2}) - (2,79 \times A_{646,8})]$ ; clorofila *b*  $[(21,5 \times A_{646,8}) - (5,1 \times A_{663,2})]$ ; clorofila total (*a+b*) e carotenoides  $[(1000 \times A_{470}) - (1,82 \times A_{663,2}) - (85,02 \times A_{646,2})]/198$ , sendo os resultados expressos em mg de pigmento por g de matéria fresca de tecido foliar.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizados, sendo os dados observados submetidos ao teste de normalidade Lilliefors a 5% de significância e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5%, pelo Programa SAEG (SAEG, 2007).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis de trocas gasosas avaliadas (Figura 2, 3). A fotossíntese líquida foi maior no tratamento com 100% de irradiância, sendo menores nas plantas cultivadas sob as malhas, independentemente da cor empregada (Figura 2a). Estas variações nas condições de irradiância promovem respostas rápidas na atividade fotossintética das plantas, onde a maior irradiância aumenta a fotossíntese líquida até o ponto de saturação (BOARDMAN, 1977). De acordo com SOUZA et al. (2011) plantas que crescem sob alta irradiância podem desenvolver células do mesofilo ricas em cloroplastos, permitindo uma maior atividade fotossintética.

Nas plantas cultivadas sob a malha vermelha a redução na fotossíntese líquida pode ser resultado da queda dos teores de clorofilas e da baixa eficiência de carboxilação (Figura 3, 4). Neste tratamento houve redução de 50% da irradiância, assim como observado por Dias et al. (2013) trabalhando com *Ulmus minor* cultivadas *in vitro*.

As plantas cultivadas sob malha azul também demonstraram uma queda na atividade fotossintética (Figura 2a). A luz azul desempenha um papel importante na regulação das características fotossintéticas (YAMAZAKI, 2010), no entanto, apenas o aumento na irradiância na região espectral azul parece não haver efeito positivo nas plantas de Piper. O balanço entre comprimentos de onda na faixa do vermelho e azul poderia promover o aumento da fotossíntese líquida nas plantas de Piper (KONG et al., 2012). Em plantas de *Capsicum annuum* cultivadas sob malhas brancas (100% de irradiância), amarelas e vermelhas (35% de irradiância) foi observado aumento na fotossíntese líquida nas plantas sob malha branca (KONG et al., 2012).

As diferentes condições de radiação influenciaram significativamente condutância estomática com maiores valores observados nos tratamentos 100%, 50% de irradiância e malha vermelha (Figura 2b). Além disso, plantas cultivadas sob malha vermelha foram registrados os maiores valores de  $C_i$ , enquanto o tratamento 70% de irradiância e malha azul os menores.

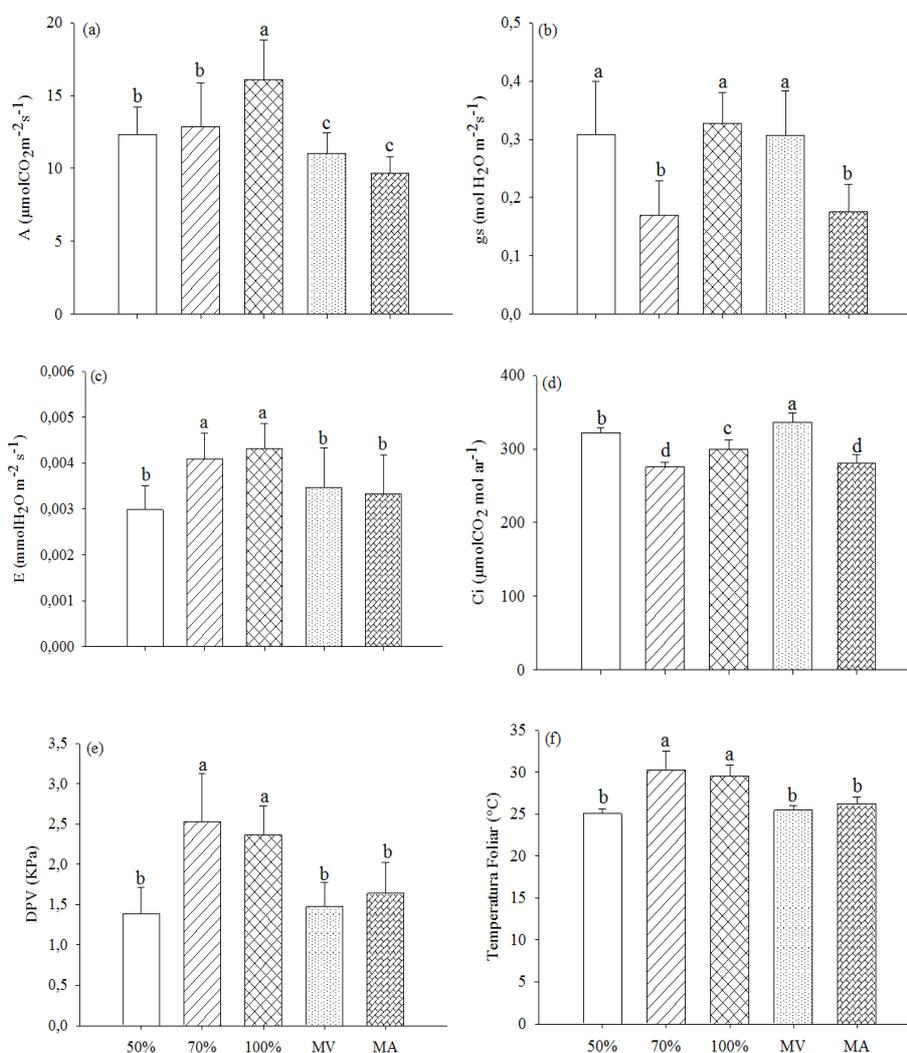


Figura 2 (a)Atividade fotossintética–A; (b)Condutância estomática ao vapor de água– $g_s$ ; (c)Taxa de transpiração– E; (d)Concentração intracelular de  $\text{CO}_2$ – $C_i$ ; (e) Déficit de pressão de vapor– DPV e (f) Temperatura foliar de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação – 50% de irradiância, 70% de irradiância, 100% de irradiância, MV (malha vermelha) e MA (malha azul)

\*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade

A redução do  $C_i$  pode ser atribuída à baixa condutância estomática observada nas plantas cultivadas sob 50% de irradiância. Esta menor assimilação de carbono reduziu a fotossíntese líquida das plantas nesta condição. Diferente das plantas sob 50% de irradiância, a redução da fotossíntese líquida das plantas sob malha vermelha parece não estar relacionada à difusão de  $CO_2$ , mas a baixa taxa de carboxilação. Estudos realizados com *Vaccinium corymbosum* em diferentes níveis de sombreamento (40%, 50% e 75% de sombreamento) não observaram alterações na condutância estomática (LOBOS et al., 2012).

Nos tratamentos com 70 e 100% de irradiância foram observadas as maiores taxas de transpiração, déficit de pressão de vapor e temperatura foliar (Figura 2c, 2e e 2f). Os maiores valores das variáveis acima citadas podem ter levado ao aumento da condutância estomática no tratamento com 100% de irradiância. Estes resultados indicam a baixa eficiência da regulação de abertura e fechamento estomático da espécie.

A queda da transpiração observada nos tratamentos sob malhas coloridas e 50% de irradiância é considerada, para plantas cultivadas em baixa irradiância, uma estratégia para reduzir as perdas de carbonos, como observado por YANG et al. (2013) que verificaram o efeito de diferentes intensidades de luz afetando o processo fotossintético.

A maior relação  $C_i/C_a$  foi observada nas plantas cultivadas com 50% de irradiância e na malha vermelha e as menores nos tratamentos com 70% e 100% de irradiância (Figura 3a). Os resultados estão de acordo com fotossíntese líquida nesses tratamentos, onde a menor relação entre  $C_i/C_a$  pode ter sido em função da maior carboxilação e, conseqüentemente, redução nos níveis de  $C_i$ .

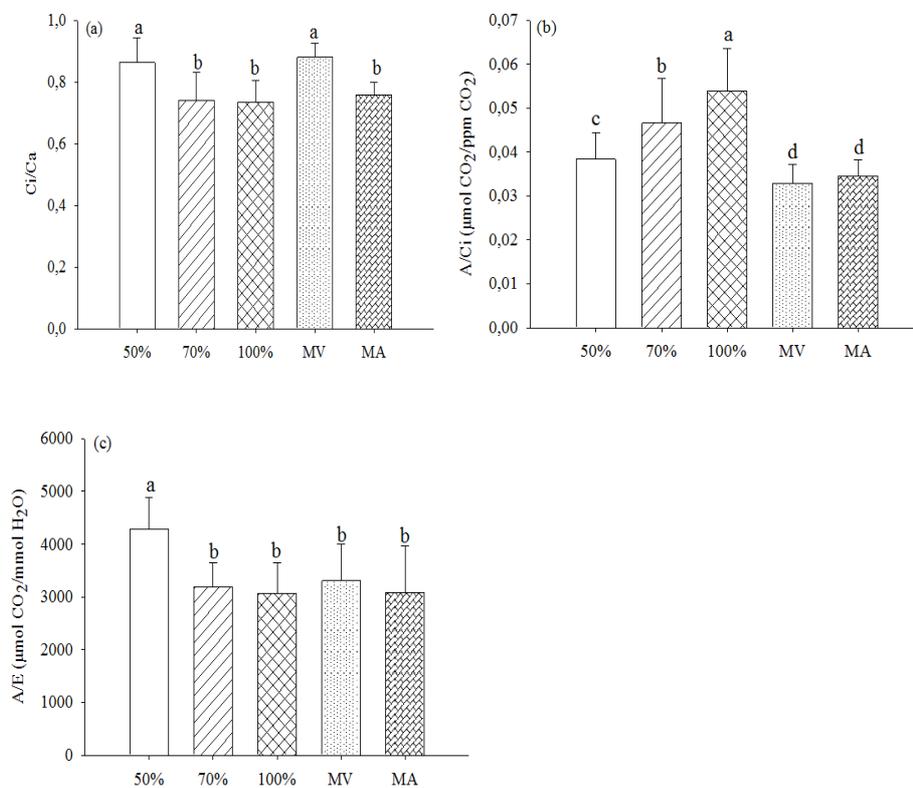


Figura 3 (a) Razão entre as concentrações de CO<sub>2</sub> intra/extracelular – Ci/Ca; (b) Eficiência de carboxilação – A/Ci e a (c) Eficiência instantânea do uso da água – A/E de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação– 50% de irradiância, 70% de irradiância, 100% de irradiância, MV (malha vermelha) e MA (malha azul)

\*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade

Nas plantas cultivadas sob 50% de radiação e malhas coloridas houve redução na relação A/Ci quando comparada as plantas sob 100% de radiação (Figura 3b). Este resultado demonstra o efeito da intensidade da irradiância mais do que qualidade na fotossíntese líquida e na eficiência de carboxilação.

A relação A/E que nos demonstra a eficiência instantânea do uso da água mostrou-se maior no tratamento com 50% de irradiância e menor nos tratamentos com 70 e 100% de irradiância (Figura 3c). Desta maneira observa-se que as plantas cultivadas sob 100% de radiação embora tenham apresentado as maiores taxas fotossintéticas tiveram uma perda muito grande de água pela transpiração levando a uma queda na sua eficiência de uso da água. Quando compara-se as plantas de *Piper aduncum* que cresceram sob 50% de irradiância e que tiveram as menores taxas de transpiração e a maior eficiência no uso da água pode ser que a planta apresenta essa característica para manter certo nível de fotossíntese e assimilação de carbonos. A maior eficiência do uso da água em plantas cultivadas sob meia sombra também foi observada em *Illicium lanceolatum* (CAO et al., 2011).

As folhas de *Piper aduncum* apresentaram maior quantidade de clorofila *a* e total nos tratamentos sob 70% de irradiância (Figura 4a, 4b). Os níveis de clorofila *b* foram influenciados pelas diferentes condições de radiação, onde o uso das malhas coloridas reduziu a concentração dos pigmentos (Figura 4b). A relação clorofila *a/b* também foi alterada sendo maior no tratamento com 70% de irradiância (Figura 4c).

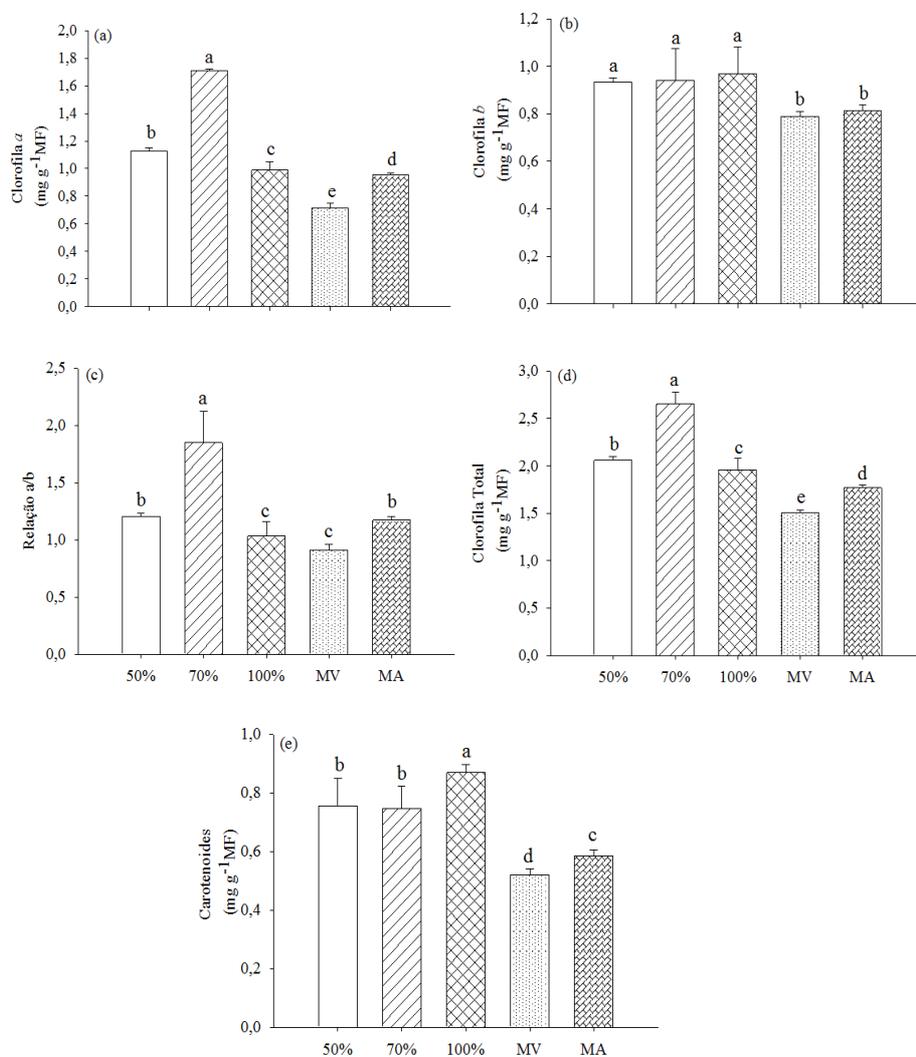


Figura 4 Teores de clorofila *a* (a), *b* (b), *a/b* (c), total (d) e carotenoides (e) de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação – 50% de irradiância, 70% de irradiância, 100% de irradiância, MV (malha vermelha) e MA (malha azul). \*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade

O aumento nos teores de clorofila *b* em ambientes com baixas intensidades de luz é uma característica importante de adaptação da planta a ambientes sombreados, pelo fato desse pigmento captar fótons com maiores comprimentos de onda observados neste tipo de ambiente (WHATEY; WHATEY, 1982). Assim, pode se inferir que a espécie estudada não apresenta adaptação em ambientes com baixos níveis de irradiância em relação aos pigmentos fotossintéticos, pois aumentou os teores de clorofila *b* na condição de 100% de irradiância. Este resultado está de acordo com as variáveis de trocas gasosas observadas. Houve uma maior atividade fotossintética no tratamento com 100% seguido pelo de 70% de irradiância, indicando uma ampliação do espectro de absorção mesmo em condições de altas irradiâncias. Ao mesmo tempo essas características estão de acordo com a classificação ecológica da espécie como pioneira sendo algumas vezes considerada uma planta daninha (ALVARENGA; BOTELHO; PEREIRA, 2006; ROCHA et al., 2008).

Os maiores teores de clorofila *a*, *b* e total observados no tratamento com 70% de irradiância indica que a espécie consegue se adaptar a essa condição luminosa. Além disso, a maior quantidade de pigmentos pode demonstrar uma alta síntese de clorofila e uma degradação mais lenta da clorofila *b* em relação a clorofila *a* e um equilíbrio entre os fotossistemas (ENGEL; POGGIANI, 1991).

Os baixos teores de pigmentos observados nas plantas cultivadas sob malha vermelha pode está relacionado a menor relação vermelho:vermelho distante (V/VD) existente nesse ambiente, como observado por SOUZA et al. (2011) em plantas de *Mikania laevigata*. A redução nos teores de clorofilas observada nas folhas que cresceram na malha azul é contrária ao encontrado na literatura onde, normalmente, observa-se a luz azul influenciando a biossíntese de clorofila e de outros pigmentos através da regulação genética (TSUNOYAMA et al., 2002). Segundo LARCHER (2006), as alterações na biossíntese de clorofila pelas alterações na qualidade espectral podem

proporcionar vantagens quanto ao crescimento e reprodução dos vegetais. Assim, esses resultados indicam que a pimenta de macaco não se adapta cromaticamente no sentido de melhorar o seu desempenho fotossintético. Contudo, o aumento dos níveis de clorofila em plantas cultivadas sob malha azul já foi observado para outras espécies medicinais como: *Catharanthus roseus* (MELO; ALVARENGA, 2009); *Ocimum gratissimum* (MARTINS et al., 2009) e *Mikania laevigata* (SOUZA et al., 2011).

O maior teor de carotenoide foi observado no tratamento com 100% de irradiância e menor nas malhas coloridas (Figura 4e). Os carotenoides são pigmentos que funcionam como fotoprotetores por meio da rápida extinção dos estados excitados da clorofila protegendo-a da oxidação (TAIZ; ZEIGER, 2009). Desta forma, os altos níveis de carotenoides nas plantas sob 100% de irradiância estão associados ao desenvolvimento de uma proteção para os complexos receptores de luz dos fotossistemas, comprovando a alta atividade fotossintética observada nesse trabalho. Altos níveis de carotenoides também foram observados em *Artemisia vulgaris* L. quando cultivadas a pleno sol (OLIVEIRA et al., 2009).

#### 4 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos pode-se observar que a espécie *Piper aduncum* apresenta maior desempenho fotossintético e a produção de pigmentos fotoprotetores quando cultivada sob 100% e 70% de irradiância. Contudo, para manter-se nessas condições é necessário uma maior disponibilidade de água visto que a eficiência no uso da água é reduzida devido a alta temperatura foliar que propicia uma elevada transpiração. Além disso, a espécie também desenvolve mecanismos que propicia seu crescimento em baixas irradiâncias e sob espectros enriquecidos com luz azul. Vale salientar ainda que para o uso dessa espécie em cultivos comerciais é necessário estudos futuros que verifiquem a translocação e produção de fotoassimilados nessas diferentes condições de radiação, visando a maior produção de metabolitos secundários de interesse.

## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, A. A. et al. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n. 1, p. 53-57, 2003.

ALVARENGA, A. P.; BOTELHO, S. A.; PEREIRA, I. M. Avaliação da regeneração natural na recomposição de matas ciliares em nascentes na região sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 4, p. 360-372, 2006.

BOARDMANN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p.355-377, 1977.

CAO, Y. et al. The photosynthetic physiological properties of *Illicium lanceolatum* plants growing under different light intensity conditions. **African Journal of Agricultural Research**, n.6, v.26, p. 5736-5741, 2011.

DAS, V. S. R. (2004). **Photosynthesis, Regulation Under Varying Light Regimes**, 1st ed. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire.

DIAS, M. C. et al. Photosynthetic parameters of *Ulmus minor* plantlets affected by irradiance during acclimatization. **Biologia Plantarum**, n.1, v.57, p.33-40, 2013.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofilas nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

FAZOLIN, M. et al **Potencialidades da Pimenta de macaco (*Piper aduncum* L.): Características Gerais e Resultados de pesquisas**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2006. 53p.

FAZOLIN, M. et al. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, n.3, v. 34, p. 485-489, 2005.

KONG, Y. et al. Response of Photosynthetic Parameters of Sweet Pepper Leaves to Light Quality Manipulation by Photosensitive Shade Nets. **Acta Horticulturae**, v.956, p.501-506, 2012.

KUREPIN, L. V. et al. Uncoupling light quality from light irradiance effects in *Helianthus annuus* shoots: putative roles for plant hormones in leaf and internode growth. **Journal of Experimental Botany**, v.58, p.2145–2157, 2007.

LARA JUNIOR, C. R. et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, n.6, v.21, p. 3800-3805, 2012.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2006. 531 p.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. et al. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Davis: John Wiley & Sons, 2001.

LIMA JUNIOR, E. C. et al. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 30, n. 1, p. 33-41, 2006.

LOBOS, G. A. et al. Spectral irradiance, gas exchange characteristics and leaf traits of *Vaccinium corymbosum* L. 'Elliott' grown under photo-selective nets. **Environmental and Experimental Botany**, v.75, p.142-149, 2012.

MARCHESE, J. A. et al. Irradiance stress responses of gas exchange and antioxidant enzyme contents in pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] plants. **Photosynthetica**, Prague, n.4, v. 46, p. 501-505, 2008.

MARTINS, J. R. et al. Teores de pigmentos fotossintéticos e estrutura de cloroplastos de Alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, n.1, v.39, p. 82-87, 2009.

MELO, A. A. M.; ALVARENGA, A. A. Sombreamento de plantas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 'Pacifica White' por malhas coloridas: Desenvolvimento Vegetativo. **Ciência e Agrotecnologia**, n.2, v.33, p. 514-520, 2009.

MISNI, N.; OTHMAN, H.; SULAIMAN, S. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. **Tropical Biomedicine**, n.2, v.28, p.249-258, 2011.

OLIVEIRA, M. I. et al. Características biométricas, anatômicas e fisiológicas de *Artemisia vulgaris* L. cultivada sob telas coloridas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 1, p. 56-62, 2009.

ROCHA, S. F. R. et al. Role of Light and Phytochrome on *Piper aduncum* L. Germination: An Adaptive and Environmental Approach. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plant**, n.3, v.11, p.85-96, 2008.

SAEG (2007). Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas,-Fundação Arthur Bernardes- UFV.

SANTIAGO, E. J. A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, n.5, v. 25, p. 1035-1042, 2001.

SOUSA, P. J. C. et al. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.2, v.18, p.217-221, 2008.

SOUZA, G. S. et al. Crescimento, teor de óleo essencial e conteúdo de cumarina de plantas jovens de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) cultivadas sob malhas coloridas. **Biotemas**, n.3, v.24, p.1-11, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre. Ed. Artmed. 2009, 719p.

TSUNOYAMA, Y. et al. Blue light specific and differential expression of plastid sigma factor, Sig5 in *Arabidopsis thaliana*. **FEBS lett**, v. 516, n. 1, p. 225-228, 2002.

WANG, R.; GUO, Z. H. Photosynthetic responses of *Schima superba* grown in different light regimes of subtropical evergreen broadleaf forest. **Forest Research**, v.20, p.688-693, 2007.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas: temas de biologia**. São Paulo: EDUSP, v.30, 1982, 101p.

YAMAZAKI, J. Y. Is light quality involved in the regulation of the photosynthetic apparatus in attached rice leaves? **Photosynth. Res.** v.105, p.63-71, 2010.

YANG, W. et al. Growth and photosynthetic responses of *Canarium pimela* and *Nephelium lappaceum* seedlings to a light gradient. **Agroforest Syst**, v.87, p. 507–516, 2013.

ZAVALA, J. A.; RAVETTA, D. A. Allocation of photoassimilates to biomass, resin and carbohydrates in *Grindelia chiloensis* as affected by light intensity. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 69, p. 143-149, 2001.

## CAPITULO 4

### **Anatomia foliar de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação**

#### **RESUMO**

A espécie *Piper aduncum* L. (Piperaceae), embora ainda não seja cultivada comercialmente, possui elevado potencial devido as propriedades antimicrobianas, inseticidas e de baixa toxicidade do seu óleo essencial. A luz é um dos fatores ambientais de maior significancia para o desenvolvimento das plantas, promovendo mudanças nas características anatomicas e fisiologicas das folhas. De maneira geral, as adaptações as diferentes condições de irradiância estão associadas ao ajuste do seu aparato fotossintético de modo a otimizar o aproveitamento da radiação incidente. Contudo, quando se trata de plantas medicinais a maioria dos estudos concentra-se em identificar os componentes químicos presentes nas suas estruturas produtoras de óleo essencial ou apenas na descrição anatômica das espécies. Assim pouca atenção tem sido dada aos aspectos da influencia das condições ambientais sob as características anatômicas para estas espécies. Neste contexto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes condições de radiação sobre a estrutura interna das folhas de *Piper aduncum*. Mudanças de *Piper aduncum* foram cultivadas por 4 meses sob diferentes condições de radiação, conseguidos com sombrite (50%, 70% e 100%) e com malhas fotoconversoras, na cor vermelha (MV) e na cor azul (MA). Para as análises anatômicas foram coletadas, duas folhas completamente expandidas, localizadas no terceiro nó de cinco plantas por tratamento. A partir destas folhas foram obtidos cortes paradérmicos e transversais. Nas secções paradérmicas foram avaliadas a densidade de estômatos, diâmetro polar, equatorial, a relação entre diâmetro polar e equatorial, a densidade de tricomas da face abaxial e adaxial da epiderme. Pelas secções transversais foram avaliados a espessura da epiderme adaxial e abaxial, cutícula da face adaxial, parênquima paliçádico e esponjoso e limbo foliar. Também foram medidos a espessura do floema, proporção do floema com relação a área total da nervura, diâmetro do xilema, número de xilema, proporção de xilema em relação a área total da nervura e o índice de vulnerabilidade de Carlquist. Foi possível notar que a espécie *Piper aduncum* altera a estrutura interna da sua folha quando cultivada sob diferentes condições de radiação, apresentando características anatômicas foliares favoráveis ao seu crescimento sob altas irradiâncias como também apresenta respostas anatômicas que permite sua sobrevivência em condições enriquecidas com comprimento de onda azul e em baixas condições de luz.

Palavras-chave: Pimenta macaco. Ecological anatomy. Luminosidade. Mesofilo.

## 1 INTRODUÇÃO

A luz, como uma fonte primária de energia, é um dos fatores ambientais de maior significancia para o desenvolvimento das plantas (NAOYA et al., 2008). Assim alterações na qualidade e quantidade de radiação levam mudanças nas características anatomicas e fisiologicas das folhas (MACEDO et al., 2011). De maneira geral, as adaptações as diferentes condições de irradiância estão associadas ao ajuste do seu aparato fotossintético de modo a otimizar o aproveitamento da radiação incidente (SANTIAGO et al., 2001). Além das modificações que ocorrem nos tecidos fotossintetizantes do mesofilo foliar, estudos mostram mudanças significativas na densidade estomática, funcionalidade dos estômatos, número de tricomas, alterações nos feixes vasculares e na espessura da epiderme sob diferentes condições de radiação (CASTRO et al., 2007; LI; TANG; XU, 2013; FAN et al., 2013).

*Piper aduncum* L. (Piperaceae), conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, é um arbusto nativo das Américas (ROCHA et al., 2008). Apresenta uma ampla distribuição geográfica na América Central, Antilhas e América do Sul. No Brasil, pode ser encontrada nos estados do Acre, Pará, Mato Grosso, Ceará, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (FAZOLIN, 2006). Embora ainda não seja cultivada comercialmente, a espécie possui elevado potencial devido as propriedades antimicrobianas (FAZOLIN et al., 2005; LARA JUNIOR et al., 2012), inseticidas (MISNI; OTHMAN; SULAIMAN, 2011) e baixa toxicidade do seu óleo essencial (SOUSA et al., 2008).

As espécies pertencentes à família Piperaceae, tais como a pimenta longa, sempre despertaram interesse anatômico devido algumas características de plantas monocotiledôneas, mesmo sendo plantas basais e a diversidade

estrutural encontrada entre as espécies (GOGOSZ et al., 2012). Contudo a maioria dos estudos concentram-se em identificar os componentes químicos presentes nas suas estruturas produtoras de óleo essencial (MORAES et al., 2007; SOUSA et al. 2008) ou apenas na descrição anatômica das espécies (ALBIERO et al., 2005; GOGOSZ et al., 2012).

Assim pouca atenção tem sido dada aos aspectos da influencia das condições ambientais sob as características anatômicas. No entanto, é exatamente desses aspectos que depende, em grande parte, a plasticidade das plantas ao ambiente, pois são as características morfológicas da superfície foliar que condicionam, por exemplo, a quantidade de luz absorvida ou refletida, o grau de hidrofobia do órgão, a pressão de vapor do ar em contato com as folhas, a eficiência do órgão em defender-se de parasitas e patógenos, a quantidade de poluentes ou defensivos absorvida e, evidentemente, a magnitude da transpiração e o crescimento (SANTIAGO et al., 2001).

Pelo exposto, objetivou-se avaliar neste estudo o efeito de diferentes condições de radiação sobre a estrutura interna das folhas de *Piper aduncum*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de *Piper aduncum* foram produzidas no Departamento de Biologia/ Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras - UFLA, a partir de sementes, as quais foram pré-germinadas em placas de petri, sobre três folhas de papel de filtro e mantidas em câmara de germinação tipo Mangesdorf, a 25°C e sob fotoperíodo de 12hs, durante 30 dias.

Após este período, as plântulas foram transferidas para bandejas de polipropileno expandido de 72 células, contendo 55g de substrato comercial Plantmax por célula e mantidas em viveiro com 50% de sombreamento até atingirem 2,5 cm de altura. As plantas destinadas ao cultivo a pleno sol (100% de irradiância) foram previamente aclimatizadas por 7 dias a 70% de irradiância e posteriormente por 7 dias a pleno sol antes de serem transplantadas para o substrato definitivo.

Após aclimatização, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 6 litros, contendo substrato composto por terra de subsolo, areia e esterco bovino, na proporção de 2:1:1, sendo dispostas nas diferentes condições de radiação. As características físico-químicas do solo foram analisadas pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciências do solo da UFLA e foram as seguintes: pH:5,4; P: 4,13 mg.dm<sup>3</sup>; K: 73,32 mg.dm<sup>3</sup>; Ca: 2,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Mg: 0,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Al:0,10 cmolc.dm<sup>-3</sup>, H+Al: 2,90 cmolc.dm<sup>-3</sup>, V:49,00%; matéria orgânica: 2,10 dag.kg<sup>-1</sup>, Argila: 70,00 dag.kg<sup>-1</sup>; Silte: 16,00 dag.kg<sup>-1</sup> e Areia: 14,00 dag.kg<sup>-1</sup>.

O experimento foi conduzido no período de abril a agosto de 2012, na Fazenda Gota de Esperança do Departamento de Agricultura (DAG) na Universidade Federal de Lavras com as seguintes coordenadas: 21°14'07"S e 44°58'22"W, a 879 m de altitude. As médias climatológicas observadas durante

o período do experimento foram fornecidas pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA que registraram temperatura máxima de 30,2°C e mínima de 6,3°C, precipitação de 1,28 mm e umidade relativa de 72,7%. Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas durante 5 meses sob cinco condições de radiação produzidos por sombrite (30% e 50%), duas malhas Chromatinet® nas cores vermelha (MV) e azul (MA) que filtravam 50% da radiação incidente, além de um tratamento a pleno sol. A irrigação foi realizada diariamente, mantendo o solo na condição de capacidade de campo.

Com o auxílio de um espectroradiômetro portátil USB-650 RED TIDE, acoplado a uma fonte de radiação eletromagnética DT-MINI (200 a 2000 nm) e a uma sonda de reflectância R400-7-VIS-NIR (US *Bio Solutions Ocean Optics*®), avaliou-se o espectro de reflectância dos diferentes ambientes de radiação com uma resolução espectral de 1 nm. A irradiância observada para o tratamento a 50% foi de 6,54 W/m<sup>2</sup>, no tratamento com 70% foi de 13,08 W/m<sup>2</sup>, 100% de 15,42 W/m<sup>2</sup>, na MV de 8,86 W/m<sup>2</sup> e na MA de 9,07 W/m<sup>2</sup>. A irradiância normalizada para cada ambiente apresentou maiores valores em termos de quantidade e tamanho do espectro para o ambiente com 100% de irradiância, sendo seguido pelo ambiente proporcionado pela MV, 70% e 50% de irradiância e pelo ambiente com MA (Figura 1). Percebeu-se também que a malha azul proporcionou um pico de irradiância entre aproximadamente 450-550 nm e a malha vermelha 490-690 nm.

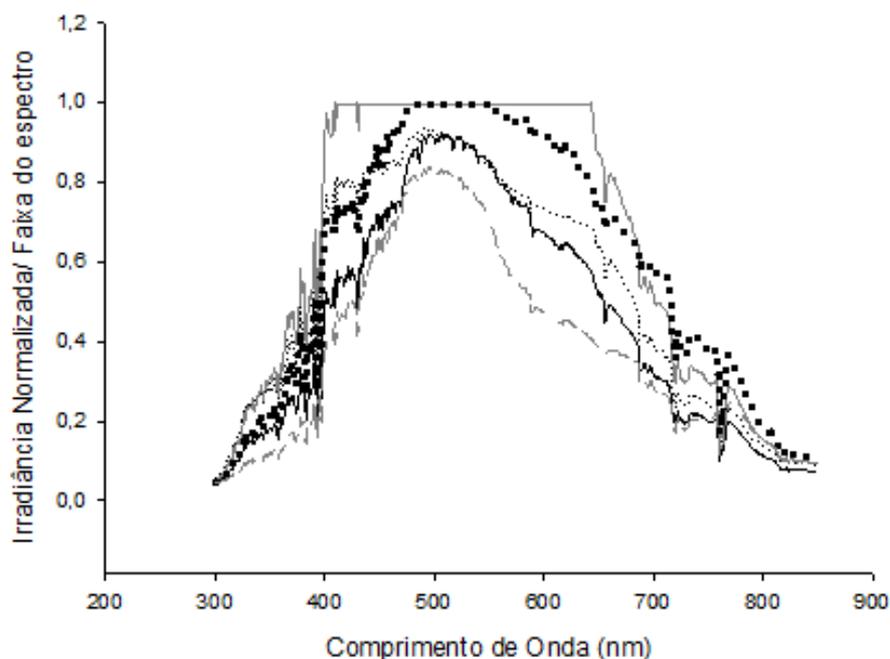


Figura 1 Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza)

Para as análises anatômicas foram coletadas, duas folhas completamente expandidas, localizadas no terceiro nó de cinco plantas por tratamento, após cinco meses do transplante para os vasos. Essas folhas foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (F.A.A.70) por período de 72 horas, sendo posteriormente armazenadas em frascos contendo etanol 70%. As seções paradérmicas foram obtidas a partir da dissociação química dos tecidos em solução de Jeffrey por 7 dias, com posterior clarificação com hipoclorito de sódio 50%, as quais foram lavadas em água destilada três vezes por 10 min, coradas com solução de safranina 1% e montadas em lâmina e lamínula com glicerina 50% (KRAUS; ARDUIN, 1997). A solução de Jeffrey foi preparada

usando partes iguais de ácido crômico (10%) e ácido nítrico (10%) (JOHANSEN, 1940). Em fragmentos de 2 cm das folhas retirados da região mediana da folha contendo a nervura central foram realizadas seções transversais com auxílio de micrótomo de mesa modelo LPC. Os cortes foram clarificados em hipoclorito de sódio 50%, lavados em água destilada três vezes por 10 min, corados com solução Safrablau (safranina 1% e azul de astra 0,1% na proporção de 7:3) e montados em lâmina e lamínula em glicerina 50%. As lâminas foram fotografadas em microscópio Olympus modelo BX 60, acoplado à câmera digital Canon A630. As fotomicrografias foram analisadas em software para análise de imagens UTHSCSA Imagetool, medindo-se as características quantitativas dos tecidos em quatro lâminas por repetição, sendo contabilizados cinco cortes por lâmina e cinco campos por corte.

Nas seções paradérmicas foram avaliadas a densidade de estômatos (DE), diâmetro polar (POL), equatorial (EQU), a relação entre diâmetro polar e equatorial (POL/EQU), a densidade de tricomas da face abaxial (TAB) e adaxial (TAD) da epiderme. A densidade estomática (numero de estômatos por mm<sup>2</sup>) realizada na face abaxial da epiderme (folha hipostomática) e a densidades de tricomas (numero de tricomas por mm<sup>2</sup>) foram obtidas na face abaxial e adaxial da epiderme.

Pelas seções transversais foram avaliados a espessura da epiderme adaxial (EAD) e abaxial (EAB), cutícula da face adaxial (CUT), parênquima paliçádico (PP) e esponjoso (PE) e limbo foliar (LF). Também foram medidos a espessura do floema (EF), proporção do floema com relação a área total da nervura (PF), diâmetro do xilema (DIAX), número de xilema (NX), proporção de xilema em relação a área total da nervura (PX) e índice de vulnerabilidade de Carlquist (IVC=diâmetro dos vasos do xilema/número de vasos do xilema) calculado segundo Carlquist (1975).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott para  $P < 0,05$ , com auxílio do software estatístico SAEG (SAEG, 2007).

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram observadas mudanças na anatomia foliar de *Piper aduncum* quando cultivada sob diferentes condições de radiação. Nas seções transversais da lâmina foliar, observou-se que a espessura da epiderme na face adaxial e abaxial, da cutícula, do parênquima paliçádico, do parênquima esponjoso e do limbo foliar foram maiores nas plantas cultivadas sob 100% de irradiância, ocorrendo uma redução nos tratamentos com menores quantidades de irradiância (Tabela 1 e Figura 2). O aumento da espessura dos tecidos foliares em condições de altas irradiâncias pode ser uma forma de atenuar ou prevenir danos causados pela luz excessiva no aparato fotossintético, permitindo que a fotossíntese seja mantida (MATOS et al., 2009). Epiderme e cutícula mais espessas pode aumentar a reflectância das folhas e melhorar a eficiência na interceptação de luz (CHAZDON; KAUFMANN, 1993). Além disso, o espessamento dos tecidos foliares pode ser entendido como uma plasticidade da espécie a esta condição de radiação. Resultados semelhantes foram observados em plantas de *Juniperus oxycedrus* em condições naturais que apresentaram maior espessamento cuticular e do parênquima paliçádico nos ambientes com maior irradiâncias (VASIC; DUBAK, 2012).

Tabela 1 Características dos tecidos foliares em secção transversal de *Piper aduncum* cultivada em diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100% de irradiância e em malha vermelha – MV e na malha azul – MA)

TRAT	EAD ( $\mu\text{m}$ )	EAB ( $\mu\text{m}$ )	CUT ( $\mu\text{m}$ )	PP ( $\mu\text{m}$ )	PE ( $\mu\text{m}$ )	LF ( $\mu\text{m}$ )
<b>50%</b>	50,8d	42,2a	5,60b	39,23c	46,67d	85,97d
<b>70%</b>	56,2b	37,2b	5,51b	40,24c	49,19c	83,47d
<b>100%</b>	63,7a	42,7a	8,88a	56,52a	71,80a	125,63a
<b>MV</b>	53,7c	43,2a	8,33a	45,60b	56,68b	98,53c
<b>MA</b>	56,6b	42,0a	8,76a	54,52a	50,49c	105,49b
CV(%)	2,17	3,24	6,79	4,34	2,98	1,70

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). EAD = espessura da epiderme na face adaxial; EAB = espessura da epiderme na face abaxial; CUT = espessura da cutícula; PP= espessura do parênquima paliçádico; PE = espessura do parênquima esponjoso e LF= espessura do limbo foliar

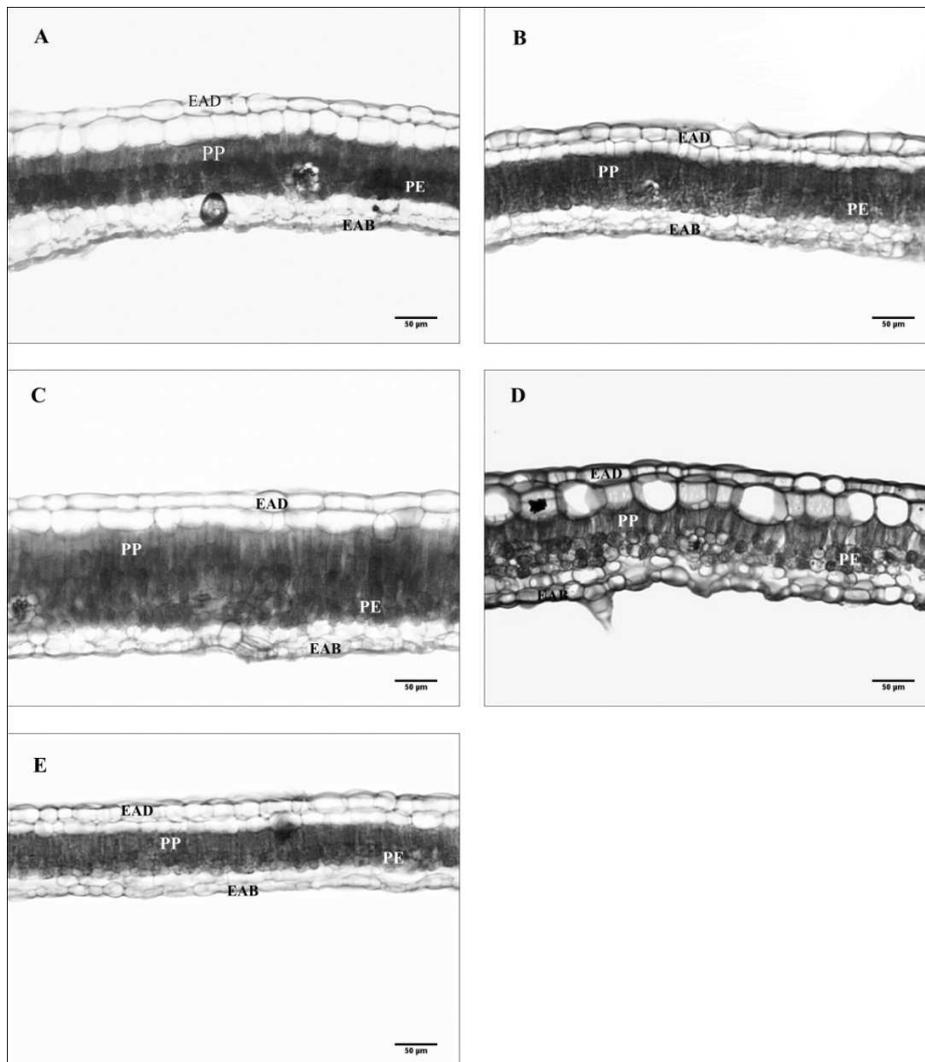


Figura 2 Fotomicrografias da secção transversal de folhas de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação. **A**-50% de irradiância; **B**-70% de irradiância; **C**-100% de irradiância; **D**-malha azul (MA); **E**-malha vermelha (MV); EAD-Epiderme da face adaxial; EAB-epiderme da face abaxial; PP- parênquima paliçádico, PE-parênquima esponjoso. Barra-50µm

Com relação às plantas cultivadas nas malhas coloridas foi verificado um aumento na espessura da epiderme na face abaxial, da cutícula, do parênquima paliçádico e no limbo foliar nas plantas cultivadas sob malha azul (Tabela 1 e Figura 2 D). Trabalho realizado com *Alternanthera brasiliana* também observou um espessamento do parênquima paliçádico e da epiderme em plantas cultivadas *in vitro* sob luz monocromática azul e uma redução destes tecidos quando cultivadas na luz vermelha (MACEDO et al., 2011). Segundo Tennessen, Singsaas e Sharkey (1994) um incremento da banda vermelha promove um desequilíbrio de energia que interfere no funcionamento do fotossistemas I e II. Assim a menor espessura do parênquima paliçádico e da epiderme é resultado da interferência da distribuição de radiação entre os fotossistemas o que promove alterações no desenvolvimento destes tecidos foliares. Além disso, uma maior quantidade de luz azul pode promover mudanças foliares com características semelhantes aquelas que se desenvolveram sob condições de altas irradiâncias (MATSUDA et al., 2008).

A densidade estomática, das plantas cultivadas em 100% de irradiâncias apresentaram valores mais elevados quando comparada aos demais tratamentos (Tabela 2 e Figura 3), sendo que a menor densidade foi observada nas plantas cultivadas sob malhas coloridas. Contudo os estômatos do tratamento com 100% de irradiância apresentaram uma leve redução em seu tamanho (Figura 3C). Um aumento na densidade estomática pode está relacionada a uma plasticidade da planta que visa aumentar a condutância estomática impedindo que a fotossíntese seja limitada (FAN et al., 2013). Em *Brassica napus*, cultivada *in vitro* em diferentes qualidades de luz, foi observada maior densidade estomática em plantas cultivadas sob luz azul (LI; TANG; XU, 2013).

Tabela 2 Características anatômicas de folhas de *Piper aduncum* em secções paradérmicas cultivadas em diferentes condições de radiação (50%, 70%, 100% de irradiância, na malha vermelha (MV) e na malha azul (MA))

TRAT	POL ( $\mu\text{m}$ )	EQU ( $\mu\text{m}$ )	POL/EQU ( $\mu\text{m}$ )	DE (n°estômatos/ $\text{mm}^2$ )	TAB (n°tricomos/ $\text{mm}^2$ )	TAD (n°tricomos/ $\text{mm}^2$ )
50%	27,06 <sup>ns</sup>	18,58 <sup>ns</sup>	1,76b	177,25b	22,98c	28,93d
70%	28,66	18,64	1,54c	163,21c	60,71a	33,69c
100%	25,48	17,72	1,41d	217,54a	44,86b	53,54b
MV	28,34	15,22	1,84a	141,42d	25,70c	37,96c
MA	27,62	15,88	1,84a	150,97d	25,09c	61,29a
CV(%)	8,12	10,87	2,36	4,87	6,72	7,25

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). ns. não significativo. POL= diâmetro polar; EQU= diâmetro equatorial; relação POL/EQU; DE= densidade de estômatos, TAB= densidade de tricomas na face abaxial da epiderme e TAD= densidade de tricomas na face adaxial da epiderme

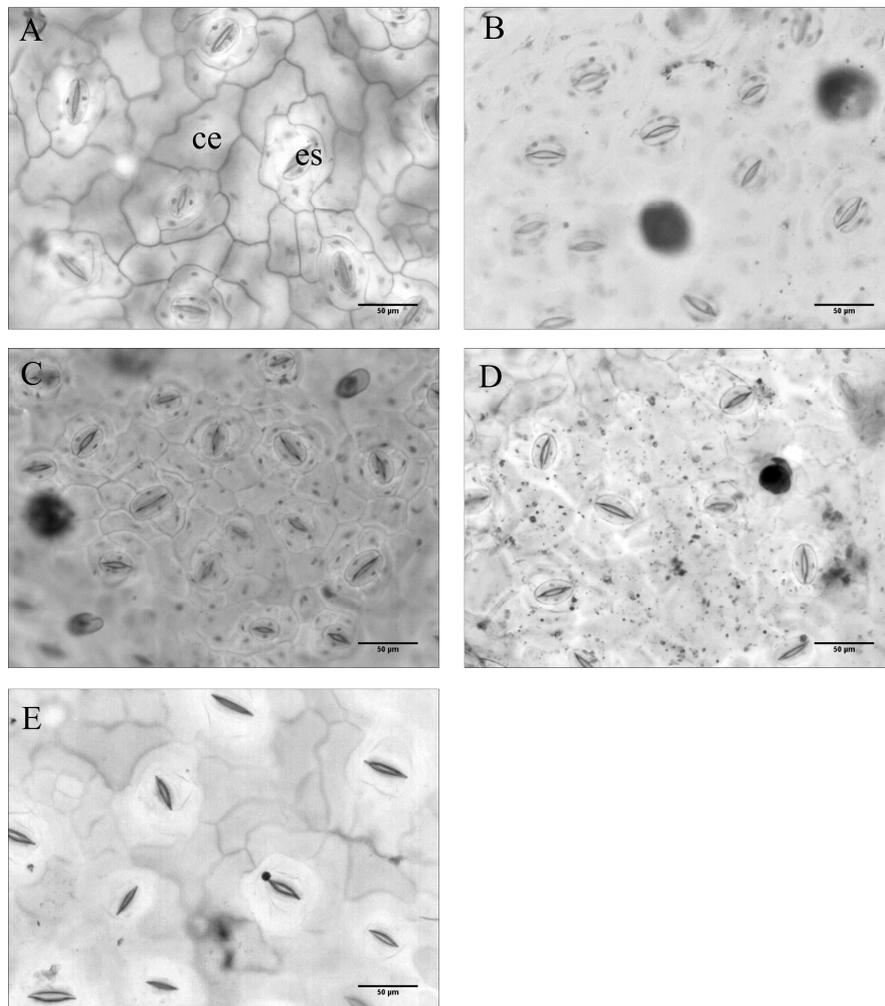


Figura 3 Fotomicrografias da epiderme, em vista frontal, da face abaxial das folhas de *Piper aduncum* cultivadas em diferentes condições de radiação. **A**-50% de irradiância; **B**-70% de irradiância; **C**-100% de irradiância; **D**-malha azul (MA); **F**-malha vermelha (MV); ce-célula epidérmica; es- estômatos. Barra-50µm

Quanto à relação DP/DE dos estômatos verifica-se que as plantas que cresceram sob malhas coloridas apresentaram maior valor do que aquelas sob 100% de irradiância (Tabela 2). O espectro da luz azul e vermelha são importantes para o controle da abertura estomática por regular fototropinas e fitocromos que ativam uma cascata de sinalização controlando a abertura e fechamento (SHIMAZAKI et al., 2007; CHEN et al., 2012). Segundo Khan et al. (2002), quanto maior a relação DP/DE, mais elipsóide é o estômato, podendo resultar em maior funcionalidade o que foi observado para as plantas cultivadas sob malhas coloridas. Alterações nesta estrutura elipsóide afeta o controle da abertura e fechamento dos estômatos o que resulta numa alta condutância estomática favorecendo a perda de água (SÁEZ et al., 2012). Contudo, como as plantas sob 100% de irradiância foram cultivadas na capacidade de campo alterações nesta estrutura pode não ter afetado o status hídrico das plantas como também ter favorecido maior atividade fotossintética (dados não mostrados).

A densidade de tricomas na epiderme na face abaxial e adaxial teve resultados significativos em relação aos tratamentos de radiação (Tabela 2 e Figuras 4-5). Na face abaxial da epiderme o tratamento com 70% de irradiância foi o que apresentou maior densidade de tricomas. Enquanto que na face adaxial da epiderme foi observada maior densidade de tricomas nas plantas cultivadas sob malha azul. Este resultado sugere que em *Piper aduncum* tanto a qualidade do espectro como a intensidade da radiação influenciam na formação destas estruturas. Estudos realizados em *Ocimum gratissimum* também verificou essa relação do espectro e da intensidade de radiação na formação dos tricomas, porém nesta espécie a malha vermelha foi a que apresentou maior densidade (MARTINS et al., 2009).

Os tricomas são uma forma de adaptação morfológica que pode atuar na proteção da planta por regular a temperatura foliar pela reflexão da luz. Os tricomas glandulares, ainda podem secretar substâncias que protegem as folhas

contra parasitas e predadores (BARBOZA et al., 2006). Além disso, pode se inferir que a maior densidade de tricomas, maior espessamento do parênquima paliçádico e da epiderme observados nos tratamentos com 100% de irradiância e na malha azul é uma resposta que visa proporcionar melhor eficiência na utilização da radiação no processo fotoquímico (SATIL; SELVI, 2007).

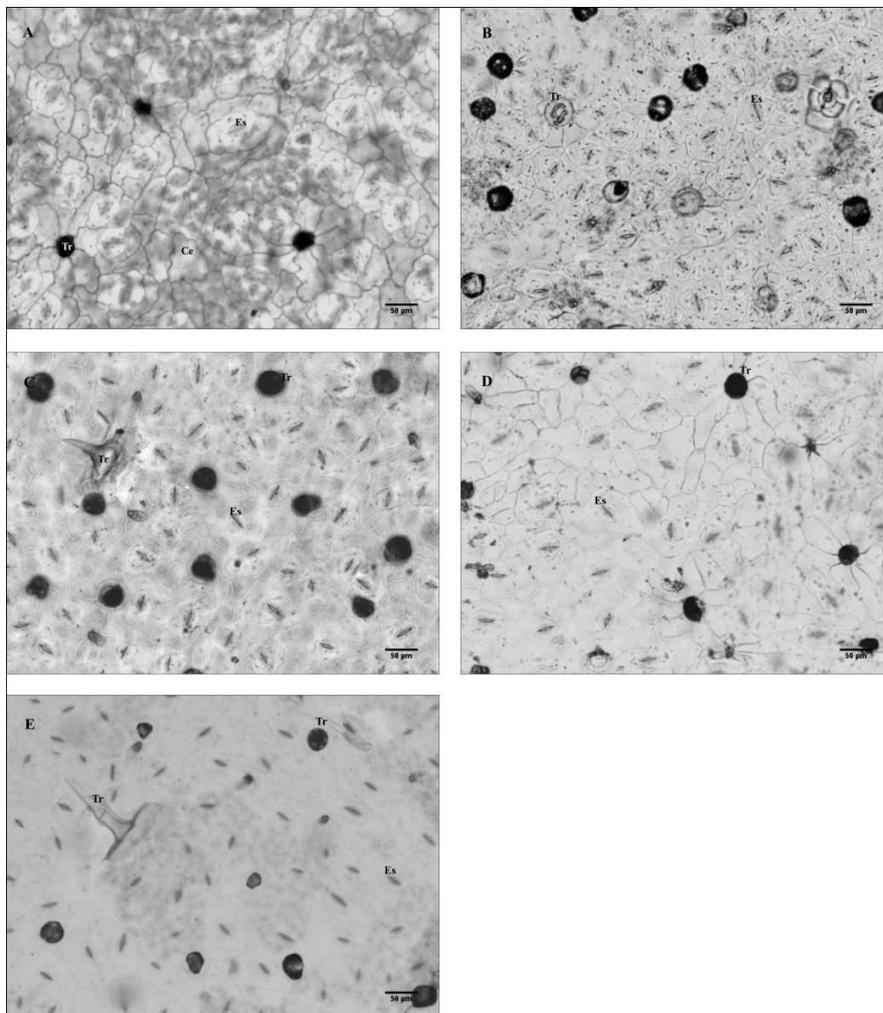


Figura 4 Fotomicrografias da epiderme em vista frontal, da face abaxial, evidenciando os tricomas tectores e glandulares, de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação. **A**-50% de irradiância; **B**-70% de irradiância; **C**-100% de irradiância; **D**-malha azul (MA); **E**-malha vermelha (MV). Legenda: Célula epidérmica (ce); estômatos (es); tricomas tectores (Tr). Barra-50µm

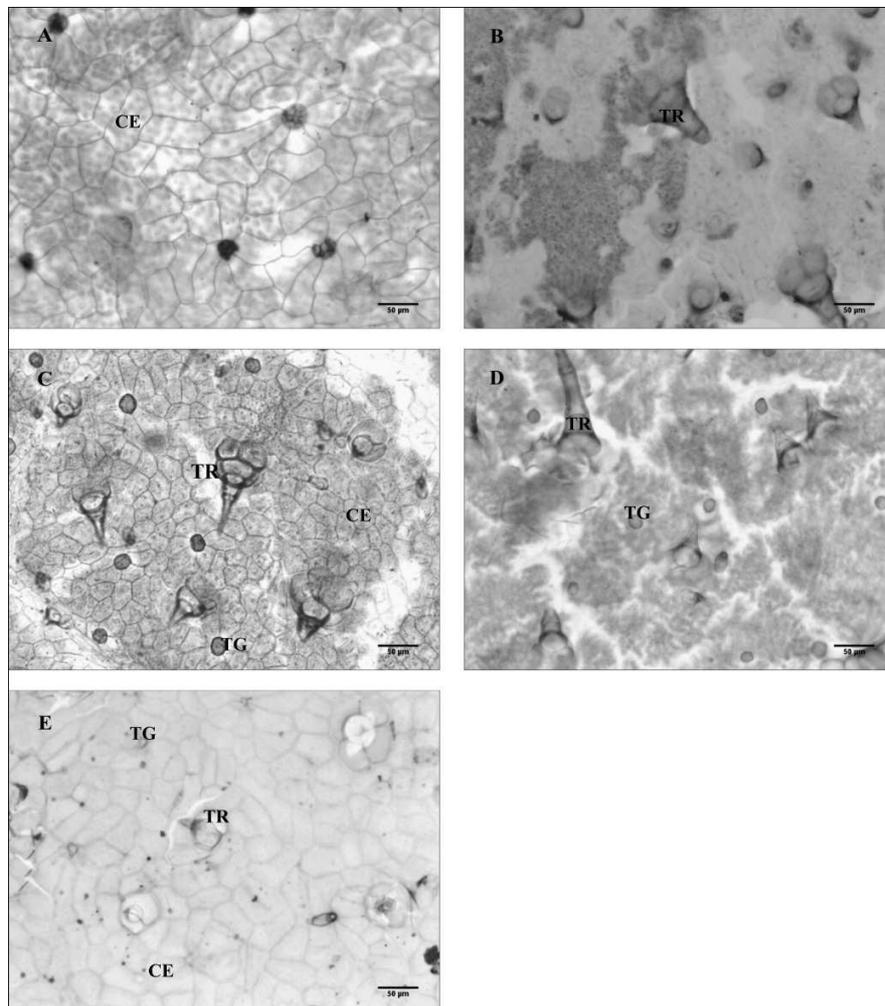


Figura 5 Fotomicrografias da epiderme em vista frontal, da face adaxial, evidenciando os tricomas tectores e glandulares, de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes irradiâncias. **A**-50% de irradiância; **B**-70% de irradiância; **C**-100% de irradiância; **D**-malha azul (MA); **F**-malha vermelha (MV). Legenda: Célula epidérmica (ce); estômatos (es); tricomas tectores (Tr); tricomas glandulares (Tg). Barra-50µm

Houve um maior espessamento do floema nas plantas cultivadas sob 70% de irradiância e na malha azul, não ocorrendo alterações na proporção deste tecido vascular em relação à área total da nervura (Tabela 3 e Figura 6). O floema distribui os fotoassimilados produzidos pelas folhas e, desta forma, pode sofrer alterações em função do ambiente luminoso (CUTLER; BOTHA, STEVENSON, 2011). Assim o maior espessamento de sua estrutura no ambiente com 70% de irradiância e na malha azul pode está promovendo um aumento na distribuição equilibrada de fotoassimilados para os diferentes órgãos da planta. Contudo, os estudos relacionando o efeito da qualidade e intensidade de luz no desenvolvimento deste tecido em plantas medicinais ainda são incipientes.

Tabela 3 Características anatômicas dos feixes vasculares de folhas em secções transversais de *Piper aduncum* cultivadas em diferentes condições de radiação

TRAT	EF ( $\mu\text{m}$ )	PF (%)	DIAX ( $\mu\text{m}$ )	NX (unid.)	PX (%)	IVC
50%	37,48b	0,064ns	9,66a	66,04c	0,060b	0,15a
70%	44,18a	0,067ns	10,22a	113,02a	0,079a	0,09c
100%	38,50b	0,058ns	8,81b	59,13c	0,063b	0,15a
MV	36,38b	0,065ns	8,66b	56,03c	0,060b	0,16a
MA	46,89a	0,072ns	9,85a	80,08b	0,085a	0,12b
CV(%)	9,05	13,04	4,64	9,33	8,53	10,45

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). ns. não significativo. EF= espessura do floema; PF= Proporção de floema; DIAX= diâmetro do xilema; NX= números de vasos do xilema; PX= proporção de vasos do xilema e IVC= índice de vulnerabilidade Carlquist

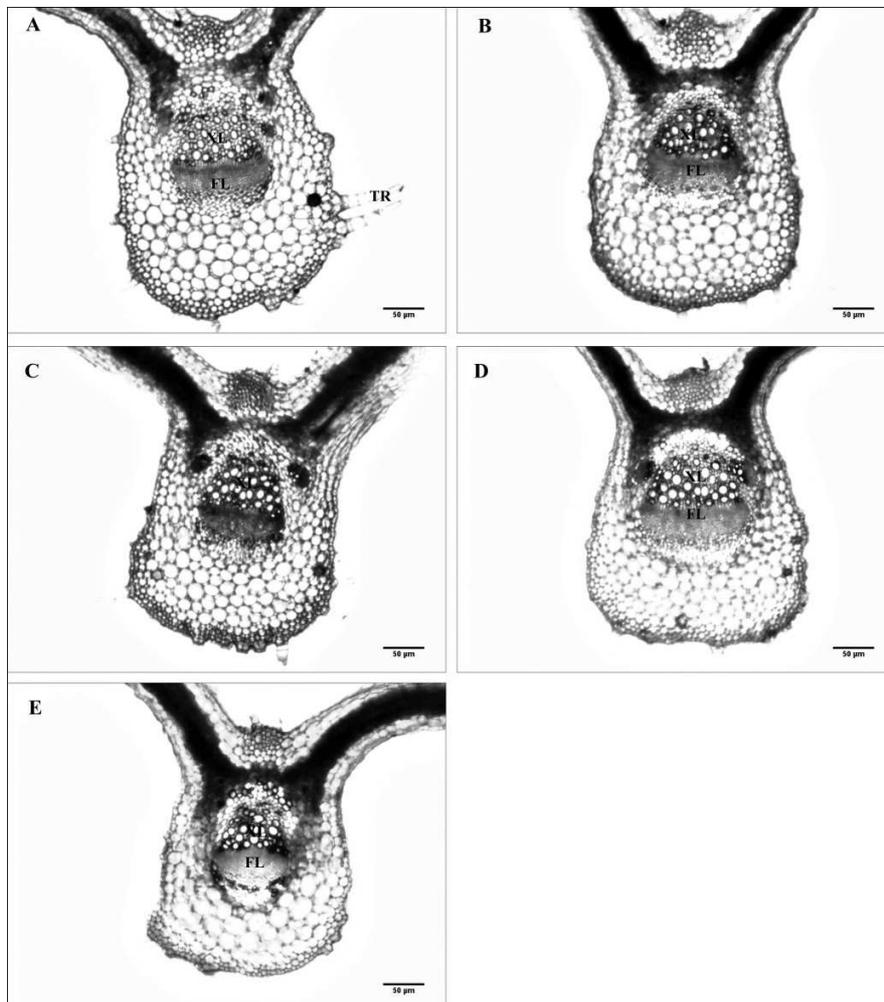


Figura 6 Fotomicrografias da secção transversal da nervura central de folhas de *Piper aduncum* cultivada em diferentes condições de radiação. **A**-50% de irradiância; **B**-70% de irradiância; **C**-100% de irradiância; **D**- malha azul (MA); **E** malha vermelha (MV); - XL-vasos do xilema; FL-vasos do floema; TR-tricomas. Barra-50µm

O número e diâmetro de vasos do xilema e a proporção de xilema em relação à área total da nervura foram maiores nos tratamentos com 70% de irradiância e na malha azul (Tabela 3 e Figura 6). Vasos de xilema maiores (em diâmetro e proporção) são mais eficientes na condução em relação aos menores

e mais estreitos, porém promovem menor segurança hidráulica (ZANNE et al., 2010). Desta forma, pode se inferir que as plantas cultivadas nos tratamentos com 50 e 100% de irradiância e na malha vermelha sofreram algum estresse relacionado ao excesso ou falta de luminosidade e reduziram as variáveis relacionadas ao xilema no intuito de aumentar a segurança hidráulica. Em *Mikania glomerata* a diminuição da intensidade de radiação promoveu um estresse luminoso que resultou na diminuição no número de vasos do xilema (CASTRO et al., 2007).

O índice de vulnerabilidade de Carlquist (IVC) permite inferir sobre a vulnerabilidade do xilema a embolias – quanto menor o IVC, maior a condutividade hidráulica da planta (CARLQUIST, 1975). As plantas cultivadas sob 70% de irradiância e na malha azul apresentaram os menores IVC (Tabela 3). O aumento da espessura do floema associado aos baixos IVC observados nos tratamentos de 70% e na malha azul indicam que a espécie possui respostas adequadas quando cultivadas nestas condições.

#### 4 CONCLUSÃO

A partir dos dados observados pode-se notar que a espécie *Piper aduncum* altera a estrutura interna da sua folha quando cultivada sob diferentes condições de radiação. Além disso, apresenta características anatômicas foliares favoráveis a seu desenvolvimento em condições de altas irradiâncias, mas também apresenta respostas anatômicas que permite sua sobrevivência em condições de baixas irradiâncias.

## REFERÊNCIAS

- ALBIERO, A. L. M. et al. Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper gaudichaudianum* Kuntze (Piperaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, n.4, v.24, p.550-554, 2005.
- BARBOZA, S. B. S. C. et al. Anatomia Foliar de Plantas Micropropagadas de Abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.2, v.41, p.185-194, 2006.
- CARLQUIST, S. **Ecological strategies of xylem evolution**. Berkeley: University of California Press, 1975, 259 p.
- CASTRO, E. M. et al. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n.2, v.9, p.8-16, 2007.
- CHAZDON, R. L.; KAUFMANN, S. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. **Functional Ecology**, v.7, p.385–394, 1993.
- CHEN, Z. H. et al. Systems dynamic modeling of the stomatal guard cell predicts emergent behaviors in transport, signaling, and volume control. **Plant Physiology**, n.3, v.159, p.1235–1251, 2012.
- CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia Vegetal: Uma abordagem aplicada**. Porto Alegre: Artmed. 2011. 304p.
- FAN, X. X. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. **Scientia Horticulturae**, v.153, p.50-55, 2013.

FAZOLIN, M. et al. **Potencialidades da Pimenta de macaco (*Piper aduncum* L.): Características Gerais e Resultados de pesquisas.** Rio Branco: Embrapa Acre, 2006. 53p.

FAZOLIN, M. et al. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Ceratomyza tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, n.3, v. 34, p. 485-489, 2005.

GOGOSZ, A. M. et al. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero *Piper* (Piperaceae). **Rodriguésia**, n.2, v.63, p.405-417, 2012.

JOHANSEN, D. A. 1940. Plant microtechnique. McGraw Hill Book, New York. 523p.

KHAN, P. S. S. V. et al. Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* Smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, n.2, v.71, p.141-146, 2002.

KRAUS, J. P.; ARDUIN, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. EDUR, São Paulo, Seropédica. 198p.

LARA JUNIOR, C. R. et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, n.6, v.21, p. 3800-3805, 2012.

LI, H.; TANG, C.; XU, Z. The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, v.150, p.117-124, 2013.

MACEDO, A. F. et al. The effect of light quality on leaf production and development of *in vitro*-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. **Environmental Experimental Botany**, n.1, v.70, p.43-50, 2011.

MARTINS, J. R. et al. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, n.1, v.39, p.82-87, 2009.

MATOS, F. S. et al. Phenotypic Plasticity in Response to Light in the Coffee Tree. **Environmental and Experimental Botany**, n.2, v.67, p.421–427, 2009.

MATSUDA, R. et al. Effects of Blue Light Deficiency on Acclimation of Light Energy Partitioning in PSII and CO<sub>2</sub> Assimilation Capacity to High Irradiance in Spinach Leaves. **Plant Cell Physiology**, n.4, v.49, p. 664–670, 2008.

MISNI, N.; OTHMAN, H.; SULAIMAN, S. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. **Tropical Biomedicine**, n.2, v.28, p.249-258, 2011.

MORAES, S. M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.35, p. 670-675, 2007.

NAOYA, F. et al. Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. **Scientia Horticulturae**, v.115, p.176–182, 2008.

ROCHA, S. F. R. Role of Light and Phytochrome on *Piper aduncum* L. Germination: An Adaptive and Environmental Approach. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plant**, n.3, v.11, p.85-96, 2008.

SAEG. 2007. Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas,-Fundação Arthur Bernardes- UFV.

SÁEZ, P. L. et al. Photosynthetic and Leaf Anatomical Characteristics of *Castanea sativa*: a comparison between *in vitro* and nursery plants. **Biologia Plantarum**, n.1, v.56, p.15-24, 2012.

SANTIAGO, E. J. A. et al. Aspectos da Anatomia Foliar da Pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência agrotecnologia**, n.5, v.25, p. 1035-1042, 2001.

SATIL, F. H.; SELVI, S. An anatomical and ecological study of some *Crocus* L. taxa (Iridaceae) from the west part of Turkey. **Acta Botanica Croatica**, n.1, v.66, p.25-33, 2007.

SHIMAZAKI, K. et al. Light Regulation of Stomatal Movement. **Annual Review of Plant Biology**, v.58, p.219-247, 2007.

SOUSA, P. J. C. et al. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.2, v.18, p.217-221, 2008.

TENNESSEN, D. J., SINGSAAS, E. L., SHARKEY, T. D. Light-emitting diodes as a light source for photosynthesis research. **Photosynthesis Research**, n.1, v.39, p.85-92, 1994.

VASIC, P. S.; DUBAK, D. V. Anatomical analysis of red Juniper leaf (*Juniperus oxycedrus*) taken from Kopaonik Mountain, Serbia. **Turkish Journal of Botany**, n.5, v.36, p.473-479, 2012.

ZANNE, A. E. et al. Angiosperm wood structure: Global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. **American Journal of Botany**, n.2, v. 97, p. 207-215, 2010.

## CAPITULO 5

### **Produção e composição química do óleo essencial de folhas e raízes de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação**

#### **RESUMO**

*Piper aduncum* L. (Piperaceae) é um arbusto pioneiro nativo das Américas que destaca-se por produzir um óleo essencial com considerável rendimento (1,1 a 3,5%), baixa toxicidade e que apresenta propriedades antimicrobianas, inseticidas e moluscicida. Todavia, pouco se sabe sobre esta espécie, que na maioria das vezes é utilizada ainda em seu estado selvagem. As plantas cultivadas em condições diferentes daquelas do seu habitat natural podem apresentar alterações qualitativas e/ou quantitativas na composição dos metabólitos produzidos. A qualidade e quantidade da radiação imposta as plantas durante seu desenvolvimento são importantes fatores ambientais que alteram a síntese destes compostos. Neste contexto, objetivou-se avaliar a produção e composição química do óleo essencial de folhas e raízes de *P. aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação. Mudanças de *Piper aduncum* foram cultivadas por 4 meses sob diferentes condições de radiação, conseguidos com sombrite (50%, 70% e 100%) e com malhas fotoconversoras, na cor vermelha (MV) e na cor azul (MA). O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação de folhas e raízes secas. A radiação promoveu alteração na produção de óleo essencial das folhas onde foi observado a maior produção nos tratamentos com 50% de irradiância e na malha azul. Contudo, a raiz foi o órgão que apresentou maior produção de óleo (0,115-0,172%). Nas folhas houve o predomínio de compostos de natureza sesquiterpênica e nas raízes de natureza fenilpropanoica. Dentre os compostos majoritários, das folhas foram encontrados o *E*-neuroolidol, linalol,  $\alpha$ -humuleno; *cis*-cadin-4-en-7-ol e o cariofileno. Todos esses compostos tiveram sua produção estimulada na condição de alta irradiância e na malha azul. Na raiz o apiol apresentou-se como constituinte majoritário em todos os tratamentos. Neste órgão também foi observado dentre os compostos o dilapiol,  $\beta$ -selineno e o butanoato-2-metilgeranila. A maioria dos compostos teve sua quantidade aumentada a 100% de irradiância e nas condições enriquecidas com comprimento de onda azul (MA).

Palavras-chave: Pimenta macaco. Luminosidade. Fenilpropanoides.  
Sesquiterpenos.

## 1 INTRODUÇÃO

*Piper aduncum* L. (Piperaceae) é um arbusto pioneiro nativo das Américas (ROCHA et al., 2008) que, embora ainda não seja cultivado comercialmente, possui um alto potencial. Devido a produção de um óleo essencial com considerável rendimento (1,1 a 3,5%) e baixa toxicidade (SOUSA et al, 2008). O óleo é rico em dilapiol (31,5 a 91,1%), um fenilpropanoide que apresenta propriedades antimicrobianas (FAZOLIN et al., 2005; LARA JUNIOR et al., 2012), inseticidas (MISNI, OTHMAN, SULAIMAN, 2011) e moluscicida (ORJALA et al., 1994). Na medicina popular, ainda, tem se atribuído as suas folhas, propriedades tônicas, estomáquica, e antiespasmódica e às raízes ação eficaz em picada de cobra, estimulante e colagoga (LORENZI; MATOS, 2008). De acordo com PARMAR et al. (1997) estas propriedades biológicas atribuídas ao óleo essencial da espécie também pode ser explicada pela presença de outros compostos fenólicos, flavonoides e sesquiterpenos que poderiam ser explorados pela indústria química e farmacêutica.

Do ponto de vista agrícola pouco se sabe sobre esta espécie, que na maioria das vezes é utilizada ainda em seu estado selvagem. No Brasil, por exemplo, a maior parte das espécies de plantas medicinais que são utilizadas pela população é obtida a partir de habitats naturais (OLIVEIRA et al., 2013). A capacidade de sustentar a produção de matérias-primas vegetais que são de alta qualidade sob condições controladas é importante devido a necessidade de produzir medicamentos fitoterápicos padronizados (JANNUZZI et al. , 2010).

Existe um grande número de vantagens do uso de cultivo controlado em vez da coleta das ervas em seu habitat natural. Segundo Jaafar e Rahmat (2008) o cultivo de plantas medicinais onde pelo menos microclima luminoso possa ser controlado pode ser uma alternativa promissora para o controle dos níveis de

fitoquímicos e matérias primas de qualidade. Além disso, sob um ambiente de luz controlado e uniforme poderia ser esperado um aumento no crescimento, melhor planejamento da produção e maior controle de contaminação ou ataque de insetos (KARIMI et al., 2013).

As plantas cultivadas em condições diferentes daquelas do seu habitat natural podem apresentar alterações qualitativas e/ou quantitativas em sua composição em relação aos metabólitos produzidos. A composição química dos óleos essenciais, por exemplo, é alterada por diferentes fatores ambientais impostos durante o seu desenvolvimento (MAIA et al, 1998). A luz, tanto em termos de qualidade como em termos de quantidade, é um dos mais importantes fatores ambientais que alteram a síntese destes compostos (WANG; GUO, 2007). A biossíntese dos compostos fenólicos, por exemplo, necessitam de luz ou é reforçada pela luz (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). Estudos anteriores mostraram que a mudança na intensidade e qualidade da luz promoveram um aumento na produção de compostos fenólicos totais em plantas medicinais (GHASEMZADEH et al., 2010; KARIMI et al., 2013). Todavia, as plantas apresentam diferenças interespecíficas em relação ao ambiente que promovem diferentes respostas alterando a composição dos compostos secundários (JAAFAR; RAHMAT, 2008).

Neste contexto, objetivou-se avaliar a produção e composição química do óleo essencial em folhas e raízes de *P. aduncum* cultivadas sob diferentes condições de radiação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de *Piper aduncum* foram produzidas no Departamento de Biologia/ Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras - UFLA, a partir de sementes, as quais foram pré-germinadas em placas de petri, sobre três folhas de papel de filtro e mantidas em câmara de germinação tipo Mangesdorf, a 25°C e sob fotoperíodo de 12hs, durante 30 dias.

Após este período, as plântulas foram transferidas para bandejas de polipropileno expandido de 72 células, contendo 55g de substrato comercial por célula e mantidas em viveiro com 50% de sombreamento até atingirem 2,5 cm de altura. As plantas destinadas ao cultivo a pleno sol (100% de radiação) foram previamente aclimatizadas por 7 dias a 70% de irradiância e posteriormente por 7 dias a pleno sol antes de serem transplantadas para o substrato definitivo.

Após aclimatização, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 6 litros, contendo substrato composto por terra de subsolo, areia e esterco bovino, na proporção de 2:1:1, sendo dispostas nos diferentes tratamentos de irradiância. As características físico-químicas do solo foram analisadas pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciências do solo da UFLA e foram as seguintes: pH:5,4; P: 4,13 mg.dm<sup>3</sup>; K: 73,32 mg.dm<sup>3</sup>; Ca: 2,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Mg: 0,30 cmolc.dm<sup>-3</sup>, Al:0,10 cmolc.dm<sup>-3</sup>, H+Al: 2,90 cmolc.dm<sup>-3</sup>, V:49,00%; matéria orgânica: 2,10 dag.kg<sup>-1</sup>, Argila: 70,00 dag.kg<sup>-1</sup>; Silte: 16,00 dag.kg<sup>-1</sup> e Areia: 14,00 dag.kg<sup>1</sup>.

O experimento foi conduzido no período de abril a agosto de 2012, na Fazenda Gota de Esperança do Departamento de Agricultura (DAG) na Universidade Federal de Lavras com as seguintes coordenadas: 21°14'07"S e 44°58'22"W, a 879 m de altitude. As médias climatológicas observadas durante o período do experimento foram fornecidas pela Estação Climatológica do

Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA que registraram temperatura máxima de 30,2°C e mínima de 6,3°C, precipitação de 1,28 mm e umidade relativa de 72,7%. Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas durante 5 meses sob cinco espectros de irradiância produzidos por sombrite (30% e 50%), duas malhas Chromatinet® nas cores vermelha (MV) e azul (MA) que filtravam 50% da radiação incidente, além de um tratamento a pleno sol. A irrigação foi realizada diariamente, mantendo o solo na condição de capacidade de campo.

Com o auxílio de um espectroradiômetro portátil USB-650 RED TIDE, acoplado a uma fonte de radiação eletromagnética DT-MINI (200 a 2000 nm) e a uma sonda de reflectância R400-7-VIS-NIR (US *Bio Solutions Ocean Optics*®), avaliou-se o espectro de reflectância dos diferentes ambientes de radiação com uma resolução espectral de 1 nm. A irradiância observada para o tratamento a 50% foi de 6,54 W/m<sup>2</sup>, no tratamento com 70% foi de 13,08 W/m<sup>2</sup>, 100% de 15,42 W/m<sup>2</sup>, na MV de 8,86 W/m<sup>2</sup> e na MA de 9,07 W/m<sup>2</sup>. A irradiância normalizada para cada ambiente apresentou maiores valores em termos de quantidade e tamanho do espectro para o ambiente com 100% de irradiância, sendo seguido pelo ambiente proporcionado pela MV, 70% e 50% de irradiância e pelo ambiente com MA (Figura 1). A malha azul proporcionou um pico de irradiância entre aproximadamente 450-550 nm e a malha vermelha 490-690 nm.

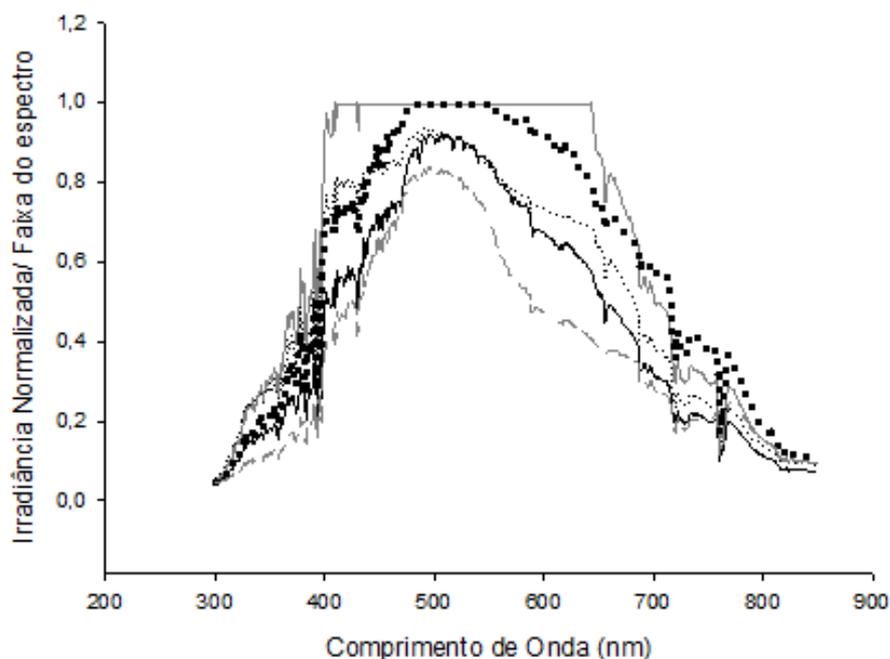


Figura 1 Irradiância normalizada/comprimento de onda em cinco ambientes de radiação: 100% de irradiância (linha cinza contínua); 70% de irradiância (linha com pontinhos menores cinza); 50% de irradiância (linha preta contínua); MV (malha vermelha- linha com pontinhos maiores pretos) e MA (malha azul- linha não contínua cinza)

A quantificação e análise da composição química do óleo essencial foi realizada após 150 dias do transplante. Folhas e raízes foram coletadas e desidratadas em estufa de circulação forçada, a 40°C até peso constante. Antes da secagem, as raízes foram lavadas com água destilada. Para extração do óleo essencial, o material vegetal foi submetido ao processo de hidrodestilação por 90min em um aparato de Clevenger modificado. Foram utilizadas 4 amostras por tratamento, utilizando 30 g de matéria seca das folhas e 25 g das raízes. O óleo obtido foi acondicionado em vidro âmbar, hermeticamente fechado e armazenado em geladeira a 5°C, até o momento da quantificação. Os teores de óleo foram calculados a partir da equação:  $TO (\%) = (PO/PA) \times 100$ , onde TO:

teor de óleo essencial, PO: peso do óleo obtido após a hidrodestilação e PA: Peso da amostra.

As análises químicas do óleo essencial foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Agricultura da UFLA. A análise dos óleos essenciais foi efetuada pela combinação de técnicas de Cromatografia de Fase Gasosa (CG) e de Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM).

Nas análises dos óleos voláteis por Cromatografia de Fase Gasosa utilizou-se um Cromatógrafo Agilent® 7890A, operado com sistema de processamento de dados HP GC ChemStation Ver. A.01.14, equipado com injetor/amostrador automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG, Switzerland) e um Detector de Ionização de Chama (DIC). As amostras foram preparadas diluindo-se o óleo essencial em acetato de etila (1%, v/v). O volume de injeção foi de 1,0 µL, no modo *split* a uma razão de injeção de 1:20. Empregou-se coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m de comprimento x 250 µm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min; as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 240°C. A temperatura inicial do forno foi de 60 °C mantido por 1 minuto, seguido por uma rampa de temperatura de 3 °C/min até 240 ° C, seguida de uma rampa de 10 °C/min até 250 °C, mantendo-se em condição isotérmica por 1 minuto. As concentrações dos constituintes foram expressas pela média da porcentagem de área relativa dos picos cromatográficos  $\pm$  o desvio padrão das 4 amostras analisadas.

As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Agilent® 7890A acoplado a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan/s, com

intervalo de aquisição de massas de 40-400 m/z. As condições operacionais foram as mesmas empregadas nas análises por CG-DIC.

Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos seus índices de retenção relativos à coinjeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C20, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST SPEECH GROUP WEBSITE, 2008) e de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) e para as atribuições foram consultados índices de retenção de literaturas (ADAMS, 2007; DAVIES, 1990). Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey,  $p < 0,05$ , com auxílio do *software* estatístico SAEG (SAEG-2007).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas nos teores do óleo essencial em relação ao órgão amostrado e as condições de irradiância as quais a espécie foi cultivada (Tabela 1). A raiz foi o órgão que apresentou o maior teor de óleo essencial, independente dos tratamentos de irradiância. Tal fato pode ser devido à alta atividade metabólica da folha, associada a sua grande plasticidade em estrutura e fisiologia, pois a produção de compostos secundários é inversamente relacionada há tecidos com altas atividades metabólicas (GLOBBO-NETO; LOPES, 2007). Além disso, órgãos com curtos tempos de duração, como a folha, tende a apresentar menores teores de óleo essencial (SANGWAN et al., 2001). Contudo, os teores observados em ambos os órgãos são inferiores aos encontrados em outros estudos para a espécie que variam de 1,1 e 3,4% nas folhas, o que pode ser devido à forma de extração, condições ambientais em que as plantas se desenvolveram e a idade das plantas no momento da coleta (MAIA et al., 1998; POTZERNHEIM; BIZZO; VIEIRA, 2006; SOUSA et al., 2008).

Tabela 1 Teor do óleo essencial (%) de *Piper aduncum* cultivadas sob diferentes irradiâncias (50%, 70% e 100% de irradiância, MV-malha vermelha e MA- malha azul)

Tratamentos	Folhas (%)	Raízes (%)
50%	0,085 aB	0,139 aA
70%	0,043 cB	0,150 aA
100%	0,040 cB	0,115 aA
MV	0,045 cB	0,128 aA
MA	0,062 bB	0,167 aA
CV%	7,72	7,23

\*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não difere entre pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Nas folhas, os tratamentos com 50% de irradiância e com maior comprimento de onda na região do azul proporcionaram os maiores teores de óleo essencial. Enquanto, as diferentes condições de radiação não promoveram alterações na produção de óleo nas raízes (Tabela 1). Desta forma, pode se inferir que a produção ou o acúmulo de óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* é tanto influenciada pela intensidade e pela qualidade da radiação indicando a participação de fotorreceptores nas vias de síntese do seu óleo essencial. A luz azul é absorvida por fotorreceptores que estimulam a síntese dos compostos secundários (LI; KUBOTA, 2009; BRANT et al., 2009; WU; LIN, 2012). Além disso, é provável que a enzima chave da rota de biossíntese dos compostos secundários desta espécie é a fenilalanina amônia liase que apresentou maior atividade nestes tratamentos (dados não mostrados).

Os maiores teores de óleo essencial em 50% de irradiância e sob malha azul pode estar associado a uma estratégia adaptativa para a sobrevivência em um ambiente com baixa disponibilidade de luz. Conforme MING et al. (1998), em condições desfavoráveis, há uma maior produção de óleo essencial. Adicionalmente, NASCIMENTO et al. (2013) afirma que a luz azul induz a síntese de compostos secundário que estão relacionados a um aumento na capacidade antioxidante do vegetal promovendo maior proteção em situações desfavoráveis.

Estudos realizados em *Mikania glomerata* mostraram resultados semelhantes com altos teores de óleo essencial quando cultivadas em baixas irradiâncias e em malha azul (SOUZA et al., 2010). *Ocimum gratissimum* e *Melissa officinalis* mostraram maior teor de óleo essencial quando cultivadas sob malha azul (MARTINS et al., 2009; BRANT et al., 2009). Em *Larix gmelinii* também foi observado um aumento no teor de compostos secundários quando cresciam em baixas irradiâncias (YAN; LU; YAN, 2013). Por outro lado, em

*Lippia sidoides* foi verificado um maior teor de óleo essencial quando cultivadas sob altas irradiâncias (SOUZA et al., 2007) e em *Aloysia gratissima* a produção de óleo essencial não foi afetada pelas condições de irradiâncias impostas (PINTO et al., 2007).

A composição química do óleo essencial de *P. aduncum* demonstrou ser bastante complexa, principalmente nas folhas. Mais de 38 constituintes químicos nas folhas e 27 nas raízes foram positivamente identificados, totalizando 88,38% e 93,18% do total dos constituintes (Tabelas 2 e 3). Estudos realizados por RALLI et al. (2007) com a mesma espécie também identificaram 46 compostos nas folhas. Por outro lado, POTZERNHEIM et al. (2006), ao analisarem o óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* em ambiente natural (cerrado) identificaram a existência de 26 compostos indicando uma possível interferência das condições abióticas no número de constituintes desta espécie.

As condições de radiação também afetaram a composição química do óleo essencial e o número de constituintes (41 a 50 nas folhas e 27 a 34 nas raízes) de *Piper aduncum* tanto da folha como na raiz. Nas folhas ocorreu a predominância de compostos de natureza sesquiterpênica (Tabela 2), sendo o maior teor (51,24%) observado sob 100% de irradiância. Nas raízes houve uma predominância de compostos fenilpropanoídeos (40,01%), sendo o maior número de constituintes observados no tratamento com 100% de irradiância (Tabela 3). Também vale destacar que nas raízes das plantas cultivadas sob malha azul foi observado o menor número de constituintes, sendo mais uma indicação do possível envolvimento de fotorreceptores de luz azul nas rotas de síntese dos compostos secundário (Tabela 3).

MESQUITA et al. (2005) e VIEIRA et al. (2011) também observaram a predominância de compostos sesquiterpênicos em folhas de outras espécies do gênero *Piper* (*Piper aduncum*, *Piper amalago*, *Piper arboreum*, *Piper cernuum*, *Piper hispidum*, *Piper regnelii*, *Piper submarginalum*, *Piper vicosanum* e *Piper*

*diospyrifolium*). Enquanto, que o maior número de fenilpropanoides nas raízes foi o primeiro relato na literatura que se analisou a composição química do óleo essencial radicular da espécie *Piper aduncum*.

Tabela 2 Composição química do óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação (100%: pleno sol; 70% e 50% de irradiância; MV: malha vermelha; MA: malha azul)

Constituintes (%)	Tratamentos					
	IR	100%	70%	50%	MV	MA
<b>Monoterpenos</b>	—	<b>10,50</b>	<b>9,79</b>	<b>9,33</b>	<b>11,12</b>	<b>13,44</b>
linalol	1103	10,50	9,79	9,33	11,12	13,44
<b>Monoterpenos oxigenados</b>	—	<b>3,33</b>	<b>2,94</b>	<b>2,31</b>	<b>3,59</b>	<b>4,02</b>
1,8-cineol	1032	0,15	—	—	—	0,30
óxido de <i>cis</i> -furanolinalol	1073	0,87	0,51	0,72	1,27	0,94
óxido de <i>trans</i> -furanolinalol	1089	0,12	—	—	1,15	0,11
terpinen-4-ol	1106	0,30	0,22	0,18	0,15	0,18
$\alpha$ -terpineol	1166	0,23	0,23	—	0,23	0,29
neral	1191	0,63	0,77	0,56	0,71	0,86
piperitona	1255	0,24	0,35	0,35	0,32	0,37
geranial	1289	0,65	0,68	0,48	0,60	0,77
2-undecanona	1294	0,13	0,18	—	0,13	0,16
<b>Sesquiterpenos</b>	—	<b>22,05</b>	<b>24,24</b>	<b>23,36</b>	<b>25,94</b>	<b>26,13</b>
$\alpha$ -copaeno	1377	0,67	0,61	0,82	0,74	0,69
$\beta$ -cubebeno	1386	0,16	0,19	—	0,15	0,19
$\beta$ -elemeno	1393	0,15	0,16	0,20	0,16	0,24
cariofileno	1421	5,29	5,14	5,34	6,70	6,05
$\beta$ -copaeno	1430	0,12	0,14	—	0,14	0,16
aromadrendeno	1440	0,26	0,39	0,52	0,36	0,38
6,9-guaiadieno	1445	—	—	0,17	—	0,13
$\alpha$ -humuleno	1456	8,45	8,83	8,75	10,31	10,62
alloaromadrendeno	1462	0,33	0,39	0,47	0,39	0,46
$\gamma$ -muuroleno	1478	0,69	0,81	0,99	0,73	0,87
$\alpha$ -selineno	1497	2,24	2,37	2,15	2,46	2,21
$\alpha$ -muuroleno	1502	0,22	0,26	0,30	—	0,30
$\gamma$ -cadineno	1516	2,00	2,27	1,83	1,78	2,09
$\delta$ -cadineno	1525	1,17	1,26	1,61	0,28	1,41
<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno	1534	0,12	0,19	—	0,14	0,11

Tabela 2, continuação

Constituintes (%)	Tratamentos					
	IR	100%	70%	50%	MV	MA
$\alpha$ -cadineno	1539	0,17	0,18	0,17	0,15	0,17
<b>Sesquiterpenos oxigenados</b>	—	<b>51,24</b>	<b>49,19</b>	<b>49,62</b>	<b>45,48</b>	<b>45,83</b>
<i>E</i> -nerolidol	1569	16,16	16,65	15,53	14,28	16,10
eudesma-4(14),11-dieno	1487	0,85	—	0,88	0,83	0,86
álcool de cariofilenila	1571	0,16	0,15	0,11	0,14	0,15
espatulenol	1571	2,82	4,28	5,62	2,88	—
óxido de cariofileno	1580	—	—	—	—	2,81
cubebane-11-ol	1596	—	—	—	—	0,31
guaiol	1601	2,13	2,23	1,80	1,71	1,81
ledol	1606	0,70	1,05	1,64	1,63	1,68
<i>epi</i> -globulol	1612	1,61	1,61	1,77	1,81	1,58
6,7-epóxido de humuleno	1617	0,17	0,22	0,23	0,19	0,28
1- <i>epi</i> -cubenol	1625	0,38	0,42	0,40	0,42	0,42
<i>cis</i> -cadin-4-en-7-ol	1638	12,24	9,60	7,93	7,98	7,48
<i>epi</i> - $\alpha$ -cadinol	1640	1,21	1,06	0,71	0,97	0,64
$\alpha$ -muurolol	1645	1,26	4,26	4,55	1,33	1,28
$\tau$ -muurolol	1649	—	1,35	1,47	—	—
$\alpha$ -cadinol	1658	2,83	2,76	3,17	2,86	2,81
7- <i>epi</i> - $\alpha$ -eudesmol	1660	—	2,56	2,23	—	—
(3 <i>Z</i> )-carofila-3,8(13)-diene-5 $\alpha$ -ol	1661	3,80	—	—	2,39	1,83
cariofila-4(12),8(3)-dien-5- $\beta$ -ol	1662	3,74	—	—	4,36	4,81
ácido <i>n</i> -hexadecanoico	1963	1,17	0,92	1,25	1,42	0,89
<b>Fenilpropanoides</b>	—	<b>2,08</b>	<b>2,62</b>	<b>1,87</b>	<b>2,02</b>	<b>2,60</b>
estragol	1075	0,19	0,41	0,19	0,20	0,30
elemicina	1560	0,37	0,80	0,35	0,62	0,60
dillapiol	1631	1,53	1,40	1,33	1,20	1,54
safrol	1229	—	—	—	—	0,17
<i>Não identificados</i>	—	<i>5,16</i>	<i>5,15</i>	<i>7,60</i>	<i>6,00</i>	<i>3,65</i>
<i>m/z</i> =220	1554	0,53	0,28	0,15	0,23	0,24
<i>m/z</i> =220	1587	1,16	0,92	2,93	2,65	0,87
<i>m/z</i> =218	1674	3,46	3,93	4,50	3,14	2,53
<b>Total identificado (%)</b>		<b>89,20</b>	<b>88,78</b>	<b>86,49</b>	<b>88,15</b>	<b>92,02</b>
<b>Número de constituintes</b>		47	43	43	45	41

\*Índice de retenção relativo a série *n*-alcanos (C8-C20) em coluna HP-5MS na ordem de eluição

A diferença na natureza dos compostos secundários observados na folha e raiz pode estar associado as suas funções. Os mono e sesquiterpenos, apresentam diferentes funções, mas comumente estão relacionados ao ataque de patógenos, herbívoros, atração de polinizadores e comunicação entre plantas e não se conhece sua ação contra herbívoros subterrâneos (BAKKALI et al., 2008). Adicionalmente, as terpenos sintases que são as enzimas chaves da síntese dos terpenos, apresentam um padrão de transcrição órgão-específico correlacionada a quantidade de terpenos produzidos. Em *Matricaria recutita*, por exemplo, a menor quantidade dos sesquiterpenos observada na raiz foi associada a não expressão de alguns genes das terpenos sintases (IRMISCH et al., 2012).

A luz atua de forma significativa e complexa no acúmulo e na variedade dos componentes dos óleos essenciais, uma vez que afeta direta ou indiretamente a produção de biomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas destes metabolitos secundários (OLIVEIRA et al., 2009). Assim, os maiores números de constituintes encontrados nos tratamentos sob 100% de irradiância e na malha azul, podem estar relacionado a maior produção de biomassa e investimento nos diferentes órgãos encontrado nestes tratamentos (dados não mostrados).

O composto majoritário encontrado nas folhas, independente do tratamento de irradiância, foi o *E*-neuroolidol (14,28-16,65). Dentre outros componentes citam-se: o linalol (9,33-13,44%); o  $\alpha$ -humuleno (8,45-10,62%); o *cis*-cadin-4-en-7-ol (7,48-12,24%) e o cariofileno (7,93-12,24%) (Tabela 2). RALLI et al. (2007) analisando a composição química do óleo essencial de folhas de *Piper aduncum* em Papua Nova Guiné verificou como composto majoritário o dilapiol (43,3%). Enquanto, OLIVEIRA et al. (2013) analisando a composição química do óleo das folhas da mesma espécie em dois ambiente de Cerrado encontrou como componente majoritário o 1,8 cineol. Desta forma,

pode se inferir que a produção do composto majoritário encontrados na folha para a espécie varia em função do tipo e condições ambientais impostas ao seu desenvolvimento. Como também pode está relacionada a existência de um genótipo diferente.

Em relação ao efeito das condições de radiação sob a produção dos compostos majoritários foi possível verificar que houve um aumento de *E*-nerolidol nos tratamentos com 70%, 100% de irradiância e na malha azul. Houve maior quantidade de linalol e  $\alpha$ -humuleno nas plantas cultivadas sob malha azul. Enquanto os teores de *cis*-cadin-4-en-7-ol foi maior nas plantas cultivadas em 100% de irradiância (Tabela 2). Além disso, as substâncias  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -copaeno, 2-undecanona e *trans*-cadin-1,4-dieno não apareceram no tratamento com 50% de irradiância, indicando uma possível necessidade de altos níveis irradiância para suas sínteses.

A biossíntese do linalol ocorre a partir do geranyl-difosfato e o precursor do *E*-nerolidol é o farnesil difosfato, ambas catalisadas por terpeno-sintase com vias específicas (DUDAREVA et al. 2013). As terpenos-sintases são enzimas que possuem atividade e expressão reguladas pelo desenvolvimento vegetal e em resposta a fatores biótico e abióticos como as condições de radiação (THOLL, 2006). Estudos realizado em *Populus alba* demonstrou que a expressão das terpenos sintases é reforçada em alta temperatura e alta irradiância (CINEGE et al., 2009). Assim, em *Piper aduncum* o aumento dos níveis de seus constituintes majoritários sob alta irradiância pode estar associada ao aumento da expressão dos genes dessa classe de enzimas.

O efeito da luz azul estimulando a síntese de sesquiterpenos carece de maiores entendimentos. Estudos realizados em flores de *Arabidopsis thaliana* procurando entender a regulação de fatores de transcrição relacionados a síntese de terpenos verificou que a luz azul exibiu pouco efeito sobre a expressão dos genes envolvidos na sua rota de síntese (HONG et al., 2012). Todavia, a partir

de estudos com plantas transformadas que superexpressavam genes relacionados aos criptocromos (receptores de luz azul) ocorreu um aumento da síntese de terpenoides quando expostas na luz azul. Em folhas de *Artemisia annua*, por exemplo, a luz azul estimula a síntese citosólica dos terpenos e promove o aumento da expressão de genes relacionados a farnesil-difosfato-sintase envolvendo os criptocromos para a ativação da rota (HONG et al., 2009). Desta forma, aparentemente em *Piper aduncum* o aumento da incidência de comprimento de onda azul em suas folhas também pode promover a ativação da síntese dos terpenos identificados no citosol, ocorrendo a participação dos receptores de luz azul. Entretanto, mais estudos envolvendo biologia molecular e as formas de biossíntese de terpenos para a espécie são necessários para a tomada de conclusões mais precisas.

Sesquiterpenicos indólicos como *E*-nerolidol e o linalol estão entre os principais voláteis que agem na defesa indireta da planta contra herbívoros, ou seja, atraindo inimigos dos herbívoros (DICKE, 1994). Estes terpenos são liberados das folhas de muitas espécies após a ocorrência de danos provocados pelos herbívoros, e também são constituintes de fragrâncias (AZUMA et al., 1997). Contudo, antes dos ataques estes compostos são encontrados em níveis muito baixos (DEGENHARDT; GERSHENZON, 2000). Assim o cultivo de *Piper aduncum* sob condições de irradiância enriquecida com espectros de luz azul seria promissor não somente para a obtenção destas substâncias em seu óleo essencial mais também para aumentar suas defesas contra herbívoros no seu cultivo.

O  $\alpha$ -humuleno e o cariofileno, identificados como compostos majoritários secundários da *Piper aduncum*, apresentam importante ação antimicrobiana como já testada para a espécie (FIDALGO et al., 2004; DUARTE et al., 2005). Estudos feito por PICHETTE et al. (2006), com óleo essencial de *Abies balsamea*, constatou que 96% do óleo essencial eram

constituídos pelos monoterpenos,  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno, os quais também apresentaram importante ação antimicrobiana contra diferentes microrganismos patogênicos. Além disso, o  $\alpha$ -humuleno também tem sido utilizado como anti-inflamatório e como candidato a ser um anticancerígeno. Devido sua ação na diminuição do conteúdo de glutatona celular e o aumento da produção de espécies reativas do oxigênio que promovem a morte da célula cancerosa (HADRI et al., 2010). Estudos futuros com esses compostos obtidos de extratos da *Piper aduncum* podem permitir uma nova utilização medicinal desta espécie.

Na raiz o apiol apresentou-se como constituinte majoritário em todos os tratamentos (50% -21,73%; 70%-21,35%; 100%- 16,27%; malha vermelha- 22,61% e na malha azul 29,51%). Neste órgão também foi observado como compostos o dilapiol (13,0-18,36%),  $\alpha$ -selineno (14,11-16,47) e o butanoato-2-metil-geranila (8,92-13,6%). A maioria dos compostos tiveram seu teor aumentado em condições ricas em comprimento de onda azul, com exceção do dilapiol que teve sua produção aumentada em 100% de irradiância (Tabela 3).

Tabela 3 Constituição química do óleo essencial de raízes de *Piper aduncum* cultivada sob diferentes condições de radiação (100%: pleno sol; 70% e 50% de irradiância; MV: malha vermelha; MA: malha azul)

Constituintes (%)	Tratamentos (raízes)					
	IR	100%	70%	50%	MV	MA
<b>Monoterpenos</b>	—	—	—	—	—	—
<b>Monoterpenos oxigenados</b>	—	<b>2,40</b>	<b>1,92</b>	<b>1,95</b>	<b>1,66</b>	<b>0,91</b>
1,8-cineol	1032	0,26	0,35	0,34	0,32	0,23
mircenol	1101	0,33	0,33	0,39	0,32	0,27
cânfora	1145	0,66	0,52	0,50	0,40	0,30
isoborneol	1157	0,39	0,25	0,25	0,19	—
borneol	1166	0,21	0,15	0,16	0,13	—
$\alpha$ -terpineol	1191	0,12	—	—	—	—
piperitona	1255	0,24	0,15	0,15	0,13	—
geranial	1298	0,16	0,15	0,13	0,14	0,11
<b>Sesquiterpenos</b>	—	<b>20,99</b>	<b>21,63</b>	<b>21,27</b>	<b>20,69</b>	<b>22,39</b>
cariofileno	1421	0,33	0,30	0,35	0,32	0,26
$\alpha$ -humuleno	1455	0,52	0,45	0,49	0,49	0,35
alloaromadrendeno	1461	0,23	0,22	0,21	0,20	0,21
$\gamma$ -amorfo	1498	3,17	3,37	3,20	3,05	3,37
$\beta$ -selineno	1527	0,20	0,17	0,48	0,30	0,36
$\alpha$ -selineno	1515	14,11	15,64	15,26	15,03	16,47
$\alpha$ -calacoreno	1543	2,39	1,45	1,26	1,31	1,08
<b>Sesquiterpenos oxigenados</b>	—	<b>32,22</b>	<b>27,70</b>	<b>27,80</b>	<b>26,91</b>	<b>22,11</b>
elemol	1551	0,36	0,31	0,39	0,34	0,29
<i>E</i> -nerolidol	1566	0,74	0,61	0,55	0,59	0,48
espatulenol	1571	0,13	—	—	0,19	—
butanoato de 2-metil-geranila	1603	13,60	10,69	10,24	10,25	8,92
epiglobulol	1611	0,25	0,23	0,22	0,22	0,23
1- <i>epi</i> -cubenol	1628	2,66	3,09	3,81	3,27	3,85
$\gamma$ -eudesmol	1632	0,65	0,49	0,38	0,39	0,28
<i>cis</i> -cadin-4-en-7-ol	1635	1,32	0,96	0,84	1,01	0,76
$\alpha$ -muurolol	1645	0,60	0,49	0,48	0,49	0,43
$\tau$ -muurolol	1649	0,39	0,41	0,40	0,42	0,38
$\alpha$ -eudesmol	1653	2,12	1,79	1,67	1,74	1,50
$\beta$ -eudesmol	1657	2,60	2,07	1,91	1,99	1,65
$\alpha$ -cadinol	1660	0,13	0,15	—	—	—
(3Z)-carofila-3,8(13)-diene-5 $\alpha$ -ol	1662	0,13	—	0,10	0,11	—
Bulnesol	1671	6,06	5,24	5,09	5,11	4,58
ácido <i>n</i> -hexadecanoico	1692	0,42	1,17	1,72	0,79	0,99
<b>Fenilpropanoides</b>	—	<b>40,01</b>	<b>42,76</b>	<b>42,16</b>	<b>44,35</b>	<b>48,45</b>
Elimicina	1561	5,37	4,61	5,16	4,78	5,93
dillapiol	1679	18,36	16,79	15,25	16,96	13,00
Apiol	1690	16,27	21,35	21,73	22,61	29,51
<b>Total identificado (%)</b>		<b>95,62</b>	<b>94,01</b>	<b>93,18</b>	<b>93,61</b>	<b>93,86</b>
<b>Numero de constituintes</b>		34	31	31	32	27

<sup>1</sup>Índice de retenção relativo a série *n*-alcanos (C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>) em coluna HP-5MS na ordem de eluição

Tem se especulado a função do dilapiol como um composto que induz a produção de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria promovendo a perda de função da organela e ativando várias rotas envolvidas na defesa vegetal a estresses (FERREIRA et al., 2013). Assim os maiores níveis destes compostos no sistema radicular das plantas que se desenvolveram sob 100% de irradiância pode indica a presença de um sistema de defesa eficiente em resposta a uma situação ambiental desfavorável.

O aumento nos teores de fenilpropanoides nos tratamentos com 100% de irradiância e na malha azul pode está associado ao aumento da expressão da enzima chalcona sintase considerada uma das enzimas-chave da rota de síntese dos fenilpropanoides (BHARTI; KHURANA, 1997). Segundo, FRANÇA et al. (2001) as raízes, quando comparada as folhas, apresentam maior expressão de genes relacionado a esta enzima.

Estudo realizado em raiz de *Piper hispidum* desenvolvida em ambiente natural também apresentou como compostos majoritários o dilapiol e o apiol (FACUNDO et al., 2008). Além disso, o dilapiol e outros derivados metilenodioxidos como apiol, safrol e a miristicina são frequentemente encontrados como componentes majoritários em óleos essenciais de folhas do gênero *Piper* (GUERRINI et al., 2009; FERRAZ et al., 2010; SAUTER et al., 2012, PARISE-FILHO et al., 2012). A presença destes compostos no óleo essencial das raízes de *Piper aduncum*, pode despertar o interesse da indústria química e farmacêutica pelo uso do órgão nesta espécie. Visto que o dilapiol e seus isômeros tem apresentado importantes propriedades que o tornam um possível candidato no desenvolvimento de drogas para o tratamento da Leishmaniose (PARISE-FILHO et al., 2012) e no combate ao câncer (TITOV et al., 2011). Além disto, este é o primeiro relato da presença destes fenilpropanoides nas raízes da espécie e o perfil químico observado é bem

diferente do relatado para as folhas sugerindo a existência de uma quimiodiversidade intraespecífica.

Os fenilpropanoides dilapiol e seu isômero apiol são responsáveis por grande parte das atividades biológicas atribuídas a *Piper aduncum* (ALMEIDA, 2009). O dilapiol e apiol são importantes compostos que apresentam propriedades inseticidas, acaricida e moluscicida (ESTRELA et al., 2006; ARAÚJO et al., 2012). Além disso, a mistura de fenilpropanoides desempenha importante função antioxidante auxiliando a planta no combate a radicais livres e como agentes antimutagênicos (BAKKALI et al., 2008). Assim os maiores níveis destes compostos no sistema radicular das plantas que se desenvolveram sob 100% de irradiância e no ambiente enriquecido com comprimentos de onda azuis pode indica a presença de um sistema de defesa eficiente em situações desfavoráveis.

As substâncias bulnesol e elemicina tiveram uma variação em relação as irradiância enriquecidas com determinados comprimentos de onda. O bulnesol não foi considerado um majoritário secundário na malha azul e a elimicina não foi na malha vermelha (Tabela 3). Tal fato indica que essas substâncias apresentam rotas de síntese específicas, já que possuem natureza diferenciada. Além disso, a elimicina é considerada um precursor de diferentes fenilpropanoides o que pode está ligado ao aumento destas substancias no tratamento com malha azul e a 100% de irradiância (Tabela 3).

#### 4 CONCLUSÃO

Diferentes condições de irradiância afetam a produção e constituição química do óleo essencial de *Piper aduncum*. Em relação a produção de óleo essencial este efeito foi mais pronunciado nas folhas onde foi observado a maior produção nos tratamentos com baixa irradiância e em condições que recebiam maior quantidade de radiação de comprimento de onda na região do azul. Contudo, a raiz foi o órgão que apresentou maior produção de óleo (0,115-0,172%).

Nas folhas houve o predomínio de compostos de natureza sesquiterpênica e nas raízes de natureza fenilpropanoica. Dentre os compostos majoritários, das folhas foram encontrados o *E*-neurolidol, linalol (14,28-16,65%);  $\alpha$ -humuleno (8,45-10,62%); *cis*-cadin-4-en-7-ol (7,48-12,24%) e o cariofileno (7,93-12,24%). Todos esses compostos tiveram sua produção estimulada na condição de alta irradiância e no ambiente enriquecido com espectros de luz azul. Na raiz o apiol apresentou-se como constituinte majoritário primário em todos os tratamentos (50% -21,73%; 70%-21,35%; 100%- 16,27%; malha vermelha- 22,61% e na malha azul 29,51%). Neste órgão também foi observado dentre os compostos o dilapiol (13,0-18,36%),  $\beta$ -selineno (14,11-16,47%) e o butanoato-2-metil-geranila (8,92-13,6%). A maioria dos compostos teve sua quantidade aumentada a 100% de irradiância e sob condições enriquecidas com comprimento de onda azul.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Illinois: Allured Publish Corporation, 2007.
- ALMEIDA, R. R. P. et al. Chemical Variation in Piper aduncum and Biological Properties of Its Dillapiole-Rich Essential Oil. **Chemistry & Biodiversity**, n.9, v. 6, p.1427-1434, 2009.
- ARAÚJO, M. J. et al. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, n.2, v.57, p.139-155, 2012.
- AZUMA, H. et al. Distribution and differential expression of (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene in leaf and floral volatiles of *Magnolia* and *Liriodendron* taxa. **Journal of Chemical Ecology**, v.23, n.11, p.2467-2478, 1997.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, n.2, v.46, p.446-475, 2008.
- BHARTI, A. K.; KRURANA, J. P. Mutants of Arabidopsis as tools to understand the regulation of Phenylpropanoid pathway and UVB protection mechanisms. **Photochemistry and Photobiology**, n.5, v.65, p.765-776, 1997.
- BRANT, R. S. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, n.5, v.39, p.1401-1407, 2009.
- CINEGE, G. Regulation of isoprene synthase promoter by environmental and internal factors. **Plant Molecular Biology**, n.5, v.69, p. 593–604.

DAVIES, N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. **Journal of Chromatography**, v. 503, p. 1-24, 1990.

DEGENHARDT, J.; GERSHENZON, J. Demonstration and characterization of (E)-nerolidol synthase from maize: a herbivore-inducible terpene synthase participating in (3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene biosynthesis. **Planta**, n.5, v.210, p.815-822, 2000.

DICKE, M. Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids: their role in plant-carnivore mutualism. **Journal of Plant Physiology**, n.4, v.143, p.465-472, 1994.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, n.2, v.97, p.305-311, 2005.

DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v.198, p.16-32, 2013.

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

FACUNDO, V. A. et al. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. **Acta Amazônica**, n.4, v.38, p.733-742, 2008.

FAZOLIN, M. et al. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p.485-489, 2005.

FERRAZ, A. B. F. et al. Acaricidal activity and chemical composition of the essential oil from three *Piper* species. **Parasitology Research**, n.1, v.107, p.243-248, 2010.

FERREIRA, A. K. et al. Cytotoxic effects of dillapiole on MDA-MB-231 cells involve the induction of apoptosis through the mitochondrial pathway by inducing an oxidative stress while altering the cytoskeleton network. **Biochimie**, n.12, v.95, p.1-13, 2013.

FIDALGO, L. M. et al. Propriedades antiprotozoárias de aceites essenciais extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana Medicina Tropical**, n.3, v. 56, p. 230-233, 2004.

FRANÇA, S. C. et al. Biosynthesis of secondary metabolites in sugarcane. **Genetics and Molecular Biology**, v.24, p.243-250, 2001.

GHASEMZADEH, A. Synthesis of Phenolics and Flavonoids in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and their Effects on Photosynthesis Rate. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p.4539-4555, 2010.

GHASEMZADEH, A.; GHASEMZADEH, N. Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human. **Journal of Medicinal Plants Research**, n.5, v.31, p. 6697-6703, 2011.

GLOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Mediciniais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, n.2, v.30, p.374-381, 2007.

GUERRINI, A. et al. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n.1, v.27, p.39-48, 2009.

HADRI, A. et al. Cytotoxic activity of  $\alpha$ -humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. **Anales de la Real Academia Nacional de Farmácia**, n.3, v.76, p.343-356, 2010.

HONG, G. et al. Increased Accumulation of Artemisinin and Anthocyanins in *Artemisia annua* Expressing the *Arabidopsis* Blue Light Receptor CRY1. **Plant Molecular Biology Reporter**, n.3, v.27, p.334-341, 2009.

HONG, G. et al. *Arabidopsis* MYC2 Interacts with DELLA Proteins in Regulating Sesquiterpene Synthase Gene Expression. **The Plant Cell**, n.6, v.24, p.2635-2648, 2012.

IRMISCH, S. The organ-specific expression of terpene synthase genes contributes to the terpene hydrocarbon composition of chamomile essential oils. **BMC Plant Biology**, n.12, v.84, 2012.

JAAFAR, H.; RAHMAT, A. Accumulation of partitioning of total phenols in two varieties of *Labisia pumila* benth under manipulation of greenhouse irradiance. **Acta Horticulturae**, v.797, p.387-392, 2008.

JANNUZZI, H. et al. Avaliação agronômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, n.4, v.28, p.412-417, 2010.

KARIMI, E. et al. Light intensity effects on production and antioxidant activity of flavonoids and phenolic compounds in leaves, stems and roots of three varieties of *Labisia pumila* Benth. **Australian Journal of Crop Science**, n.7, v.7, p.1016-1023, 2013.

LARA-JÚNIOR, C. R. et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, n.6, v.21, p.3800-3805, 2012.

LI, Q.; KUBOTA, C. Effects of Supplemental Light Quality on Growth and Phytochemicals of Baby Leaf Lettuce. **Environmental and Experimental Botany**, n.1, v.67, p.59-64, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 512 p.

MAIA, J. G. S. et al. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavour Fragrance Journal**, v.13, p.269-272, 1998.

MARTINS, J. R. et al. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, n.1, v.39, p.82-87, 2009.

MESQUITA, J. M. O. et al. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.1, v.15, p.6-12, 2005.

MING, L. C. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: Unesp, 1998. v. 2.

MISNI, N.; OTHMAN, H.; SULAIMAN, S. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. **Tropical Biomedicine**, n.2, v.28, p.249-258, 2011.

NASCIMENTO, L. B. S. et al. Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. **Photochemistry and Photobiology**, n.2, v.89, p.391-399, 2013.

NIST SPEECH GROUP WEBSITE. Topic detection and tracking evaluation. 2008. Disponível em: <<http://www.nist.gov/speech/test/tdt/>> Acesso em: 16/10/2013.

OLIVEIRA, M. I. et al. Características biométricas, anatômicas e fisiológicas de *Artemisia vulgaris* L. cultivada sob telas coloridas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, n.1, v.11, p.56-62, 2009.

OLIVEIRA, G. L. et al. Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.5, v.23, p.743-753, 2013.

ORJALA, J. et al. Cytotoxic and Antibacterial Dihydrochalcones from *Piper aduncum*. **Journal of Natural Products**, v.57, n.1, p.18-26, 1994.

PARISE-FILHO, R. et al. Dillapiole as Antileishmanial Agent: Discovery, Cytotoxic Activity and Preliminary SAR Studies of Dillapiole Analogues. **Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences**, n.7, v.345, p.934-944, 2012.

PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, n.4, v.46, p.597-673, 1997.

PICHETTE, A. et al. Composition and Antibacterial Activity of *Abies balsamea* Essential Oil. **Phytotherapy Research**, n.5, v.20, p.371-373, 2006.

PINTO, J. E. B. P. et al. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, n.2, v.25, p.210-214, 2007.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. 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**, n.2, v.16, p.246-251, 2006.

RALLI, T. Volatile Chemical Constituents of *Piper aduncum* L and *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae) from Papua New Guinea. **Molecules**, v.12, p.389-394, 2007.

ROCHA, S. F. R. et al. Role of Light and Phytochrome on *Piper aduncum* L. Germination: An Adaptive and Environmental Approach. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v.11, n.3, p.85-96, 2008.

SAEG: **Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

SANGWAN, N. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, n.3, v.34, p.3-21, 2001.

SAUTER, I. P. et al. Chemical composition and amoebicidal activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. **Industrial Crops and Products**, v.40, p.292-295, 2012.

SOUSA, P. J. C. et al. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.217-221, 2008.

SOUZA, G. S. et al. Estrutura foliar e de cloroplastídeos de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, n.1, v. 5, p. 78-80, 2007.

SOUZA, G. S. et al. Características biométricas e fisiológicas de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. **Revista Brasileira de Biociências**, n.4, v.8, p.330-335, 2010.

THOLL, D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, n.3, v.9, p.297-304, 2006.

TITOV, I. Y. et al. Application of plant allylpolyalkoxybenzenes in synthesis of antimetabolic phenstatin analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n.6, v.21, p. 1578-1581, 2011.

VANDENDOOL, H., KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, p.463-471, 1963.

VIEIRA, S. C. H. et al. Antifungal activity of *Piper diospyrifolium* Kunth (Piperaceae) essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n.3, v.42, p.1001-1006, 2011.

WANG, R.; GUO, Z. H. Photosynthetic responses of *Schima superba* grown in different light regimes of subtropical evergreen broadleaf forest. **Forest Research**, v.20, p.688-693, 2007.

WU, H.; LIN, C. Red light-emitting diode light irradiation improves root and leaf formation in difficult-to-propagate *Protea cynaroides* L. plantlets *in vitro*. **HortScience**, n.10, v.47, p.1490-1494, 2012.

YAN, J. X.; LU, Y. F.; YAN, S. C. The effects of irradiance on the production of phenolic compounds and condensed tannins in *Larix gmelinii* needles. **Biologia Plantarum**, n.10, v.20, p.1-5, 2013.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos, o entendimento sobre a regulação do metabolismo secundário das plantas medicinais tem se intensificado, contudo, os aspectos da fisiologia envolvendo a produção e acúmulo destes compostos ainda são incipientes, pois sua regulação depende de uma série de fatores. Além disso, quando se considera plantas medicinais, deve ser levado em conta aspectos de produtividade, sempre buscando um equilíbrio entre produção de compostos bioativos e o crescimento. Assim, a avaliação do efeito das condições de irradiância nos aspectos fisiológicos de plantas produtoras de moléculas bioativas é importante para a adequação de tecnologias de produção.

O crescimento de *Piper aduncum*, espécie objeto deste estudo, foi afetado pelas diferentes condições de radiação, sendo que as plantas cultivadas sob malha azul foram as que apresentaram maior crescimento e produção de matéria seca. Contudo, a espécie também mostrou respostas de crescimento que possibilitam sua sobrevivência sob 100% de irradiância, havendo maior investimento em raiz e espessura de folha.

Os diferentes ambientes também apresentaram efeito sobre a produção dos compostos secundários analisados, sendo observados maiores concentrações de fenóis totais e lignina nas plantas cultivadas sob malha azul e menor no tratamento com 100% de irradiância. A maior concentração de fenóis totais e lignina na irradiância rica em comprimentos de onda na região do azul está associada ao aumento da atividade da fenilalanina amônio liase. Além disso, o aumento dos teores de lignina pode ter favorecido as mudanças anatômicas normalmente induzidas em condições adversas que proporcionam a proteção das células e a manutenção dos processos fisiológicos.

O desempenho fotossintético de *Piper aduncum*, foi maior no tratamento a 100% de irradiância, onde foi observada maior fotossíntese líquida, maior condutância estomática e maior eficiência de carboxilação. Todavia, a 100% de irradiância, também foi observado maior transpiração, maior déficit de pressão de vapor, maior temperatura foliar, maior produção de carotenoides e menor eficiência do uso da água, demonstrando maior gasto de moléculas de água por molécula de gás carbônico assimilado e um esforço para a adaptação da espécie a altas irradiâncias.

A anatomia foliar mostrou o desenvolvimento de respostas que beneficiam a sobrevivência da espécie em condições de altas irradiâncias. Assim, como constatado pelos dados ecofisiológicos e de produção de compostos secundários, pode se inferir que, sob 100% irradiância, ocorre um maior investimento em adaptações que comprometem o crescimento e a síntese destas moléculas. Este fato não é observado nas plantas que se desenvolveram na condição enriquecida com comprimentos de onda na região do azul. Portanto, a maior produção das moléculas bioativas de *Piper aduncum* quando cultivada nesta condição pode estar ligada ao estresse induzido pela diminuição da irradiância e pela qualidade da radiação e não pela estimulação do metabolismo primário.

A composição do óleo essencial também mostrou-se diferente entre as folhas e raízes da espécie. Contudo, o efeito das diferentes condições de radiação na sua produção somente foi significativo nas folhas. As plantas cultivadas sob malha azul e a 50% de irradiância foram as que apresentaram maiores teores de óleo essencial, corroborando com os dados obtidos para a produção de massa seca da parte aérea. Em relação a composição química do óleo essencial foi constatado o efeito das diferentes irradiâncias nos dois órgãos. Nas folhas foram verificados a predominância de compostos de natureza sesquiterpenica, tendo como constituinte majoritário o *E*-neurolidol (14,28-16,65) e como componentes

secundários o linalol (9,33-13,44%);  $\alpha$ -humuleno (8,45-10,62%); *cis*-cadin-4-en-7-ol (7,48-12,24%) e o cariofileno (7,93-12,24%). Todos os constituintes foliares majoritários tiveram seus teores aumentados quando as plantas foram cultivadas sob 100% de irradiância e na malha azul. Nas raízes foi identificado um predomínio de compostos de natureza fenilpropanoica, tendo como composto majoritário o apiol (16,51-29,51%) e como componentes secundários o dilapiol (13,0-18,36%),  $\beta$ -selineno (14,11-16,47%) e o butanoato-2-metilgeranila (8,92-13,6%). A maioria, dos compostos encontrados na raiz teve seu teor aumentado em condições ricas em comprimento de onda azul, com exceção do dilapiol que teve sua produção aumentada em 100% de irradiância.

A partir dos dados obtidos pode-se observar que a espécie *Piper aduncum* desenvolve mecanismos distintos de adaptação a diferentes condições de radiação. Todavia, para a produção de mudas de maior qualidade e produção de moléculas bioativas, seu cultivo é mais indicado em condições que proporcionem o recebimento de maior quantidade de luz na região azul do espectro ou em altas irradiâncias dependendo do composto de interesse.