

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**TROCAS GASOSAS, BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE FOLHAS E RAÍZES DE *Piper aduncum* L. SOB
DIFERENTES NÍVEIS DE LUMINOSIDADE**

MARIA IZABELA FERREIRA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de mestre em Agronomia
(Horticultura).

BOTUCATU-SP

Outubro – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**TROCAS GASOSAS, BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE FOLHAS E RAÍZES DE *Piper aduncum* L. SOB
DIFERENTES NÍVEIS DE LUMINOSIDADE**

MARIA IZABELA FERREIRA

Orientador: Prof. Dr. Lin Chau Ming

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de mestre em Agronomia
(Horticultura)

BOTUCATU-SP

Outubro– 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

F383t Ferreira, Maria Izabela, 1982-
Trocas gasosas, biomassa, teor e composição do óleo essencial de folhas e raízes de *Piper aduncum* L. sob diferentes níveis de luminosidade / Maria Izabela Ferreira.
- Botucatu : [s.n.], 2011
viii, 74 f. : il., color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011
Orientador: Lin Chau Ming
Inclui bibliografia

1. Óleo essencial. 2. *Piperaceae*. 3. Luz. 4. *Piper aduncum* L. 5. Metabolismo secundário. I. Ming, Lin Chau. II. Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

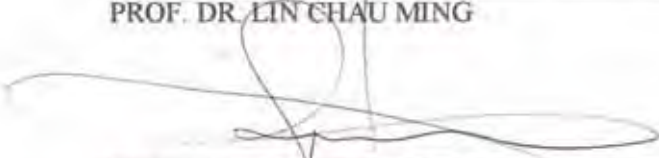
TÍTULO: "TROCAS GASOSAS, BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE FOLHAS E RAÍZES DE *Piper aduncum* L. SOB
DIFERENTES NÍVEIS DE LUMINOSIDADE"

ALUNA: MARIA IZABELA FERREIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. LIN CHAU MING

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. LIN CHAU MING

PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA

Data da Realização: 13 de outubro de 2011.

DEDICO

Aos meus pais, José Ferreira e Suely Ferreira, que sempre estiveram ao meu lado, compreendendo, apoiando as minhas decisões e oferecendo todas as condições para que eu pudesse continuar os estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar saúde, coragem e garra para enfrentar os desafios deste trabalho e principalmente da vida. Por me dar uma família unida no seu amor.

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Lin Chau Ming, meu orientador, pelas infinitas oportunidades de aprendizado e crescimento, profissional e pessoal, desde a graduação. Obrigada por oferecer condições para o meu desenvolvimento e amadurecimento, por confiar em mim e pela amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa de estudo durante a realização deste curso.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – área de Concentração Horticultura – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

A todos os funcionários da Faculdade de Ciências Agrônômicas, da manutenção, da fazenda, do Departamento de Produção Vegetal Setor Horticultura, que sempre estiveram prontos a me ajudar, em especial o Sr. Lima e o Sr. Amauri. Aos funcionários da Biblioteca que sempre foram tão prestativos, a Solange, Janaina, Nilson e especialmente a Denise.

Ao Instituto Agronômico de Campinas/IAC, pela concessão do Laboratório de Fitoquímica. À Dra. Marcia Ortiz Maio Marques e às meninas do laboratório, em especial Lenita e Mônica, obrigada pela ajuda nas análises químicas do óleo essencial, pela amizade e pela acolhida calorosa em Campinas.

A todos os colegas da pós-graduação, em especial a Mel, Gabi, Amanda Corrado, Maria Augusta, Camila, Jamile, Manoel, Felipe, Edvar, Humberto, João Paulo, Renê e a todos que estiveram presentes nos momentos de descontração que jamais esquecerei!

Aos meus pais Suely e José, por estarem sempre dispostos a me ajudar em tudo, pelo amor incondicional, compreensão, respeito e orgulho. Vocês são meus espelhos! De mãe dedicada, amorosa e divertida, de esposa, tia, irmã, sogra e avó sempre preocupada e empenhada pelo bem de todos. Exemplo de pai amigo e conselheiro, que nunca me faltou e sempre colocou me pé no chão, no caminho do bem e do amor, exemplo de homem honesto, trabalhador e justo.

Ao meu amado irmão Caio e sua esposa Elaine, obrigada por toda ajuda, conselhos e incentivos. Às sobrinhas mais lindas do mundo, Larissa e Alice, ao querido tio Wlad e sua família, Sinara, Geovana, Mariana, às minhas primas e confidentes eternas, Gaia Thaia e Marcela obrigada pelo incentivo e finais de semana calorosos, divertidos e barulhentos, que me dão forças, sempre.

A minha família de Botucatu, Creusa, Monize e Paula Larissa, que me acolheram com muito amor e carinho, fazendo os meus dias mais felizes, especialmente ao Murilo, pelo amor,

carinho, disposição e ajuda, compreensão, apoio, paciência, risadas e cuidados. Te amo muito coração!

Agradeço a Thamy Lee, minha companheira de todas as horas durante essa caminhada, nas madrugadas no computador, nas horas de lazer na Lageado, nas cachoeiras, nos matos que andamos juntas... nos momentos menos felizes e difíceis...sempre me fez companhia, nunca me senti sozinha, me deu muita alegria e amor, até o fim.

À minhas amiga e irmã Gabi, pois somos parecidas em tudo, por isso foi tão bom ter você como minha companheira de trabalho braçal e intelectual, de madrugadas de trabalho, de comilanças mil, congressos e risadas.

À minha amiga e prima Mel, por ser uma companheira muito forte, na qual me espelho por sua garra, coragem de enfrentar os desafios, por ser uma amiga tão doce, que sempre me ajudou com suas palavras, e tão animada que torna sua companhia especial! Nunca esquecerei a nossa viagem ao Congresso Internacional de Horticultura em Lisboa. Uma experiência que mudou minha vida!

À Glaucia Aiaiaiauiuiui pela amizade, ajuda nas extrações de óleo essencial nas férias, as colheitas e as mil coisas que agilizou!

Ao Renê pela ajuda nas análises estatísticas, conversas intermináveis e momentos de descontração.

Ao Eduardo e a Renata pela ajuda nas leituras com o IRGA, pela troca de experiências e idéias.

Aos amigos da biologia, Dade, Budega, Camioneira, Toninho, Central e Mussum pela companhia e ajuda em várias etapas deste trabalho, pelos dias que ficamos até tarde no laboratório fazendo experimentos, e todas as bobearias que nos fizeram rir muito.

Especialmente ao Ariovaldo, pela ajuda nos trabalho de campo, desde o plantio até a colheita, pela ajuda, companheirismo, aprendizado, experiências e momentos de descontração. Como passaríamos sem as cocadas, mandiocas, milho verde, broa de fubá e churrascos maravilhosos??

Obrigada a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	1
SUMMARY	3
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
2.1. A família Piperaceae.....	8
2.2. Aspectos gerais de <i>P.aduncum</i>	10
2.3. Aspectos botânicos de <i>P. aduncum</i>	12
2.4. Aspectos ecofisiológicos.....	16
2.5. Aspectos fitoquímicos.....	20
2.6. Aspectos da atividade biológica de <i>P. aduncum</i>	25
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1. Coleta do material botânico.....	28
3.2. Local do experimento.....	29
3.3. Tratamentos.....	30
3.4. Delineamento experimental.....	32
3.5. Condução do experimento.....	32
3.5.1. Material Botânico.....	32
3.5.2. Produção de mudas.....	32
3.5.3. Plantio.....	33
3.5.4. Colheita, pesagem e armazenamento do material vegetal.....	33
3.6. Variáveis avaliadas.....	34
3.6.1. Trocas gasosas.....	34
3.6.2. Variáveis biométricas.....	35
3.6.2.1. Área foliar.....	35
3.6.2.2. Biomassa foliar.....	35
3.6.2.3. Biomassa caulinar.....	35
3.6.2.4. Biomassa radicular.....	36
3.6.2.5. Altura de plantas.....	36

3.6.2.6. Número de folhas.....	36
3.6.3. Teor e composição química do óleo essencial.....	46
3.6.3.1. Extração, teor e produtividade do óleo essencial.....	36
3.6.3.2. Análise da composição química do óleo essencial.....	38
3.7. Análise estatística.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1. Trocas gasosas.....	39
4.2. Variáveis biométricas.....	45
4.3. Teor e produtividade do óleo essencial de folhas e raízes.....	48
4.4. Composição química do óleo essencial de folhas e raízes.....	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
6. CONCLUSÕES.....	65
7. REFERÊNCIAS.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Valores médios da temperatura (Tmin, Tmax, Tmed), precipitação, umidade relativa (UR) e estimativa da radiação fotossinteticamente ativa (PAR), registradas na Fazenda Experimental Lageado durante o período dos experimentos. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	29
2	Características químicas do solo utilizado na condução do experimento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	30
3	Radiação fotossinteticamente ativa e sombreamento efetivo (%) das telas de sombreamento a 50% e 70% e a pleno sol. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	31
4	Valores médios e desvio padrão das trocas gasosas em plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. (A): assimilação líquida de CO ₂ (μmol m ² s ⁻¹) e (E): transpiração (mmol m ² s ⁻¹). UNESP/Botucatu-SP, 2010.	39
5	Valores médios e desvio padrão da condutância estomática, concentração interna de CO ₂ e atividade da enzima Rubisco em plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. (gs): condutância estomática (mmol m ² s ⁻¹), (Ci): concentração interna de CO ₂ (mmol m ² s ⁻¹), e (A/Ci): atividade da enzima Rubisco. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	42
6	Valores médios e desvio padrão da temperatura da folha (T) e umidade relativa (UR) da folha em plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	44
7	Dados biométricos de plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento, (Alt): altura da planta, (AF): área foliar, (MFT): massa fresca total, (MST): massa seca total, (NF): número de folhas. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	45
8	Biomassa fresca e seca de caule, folha e raiz das plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. (MFC): massa fresca de caule, (MSC): massa seca de caule, (MFF): massa fresca de folha, (MSF): massa seca de folha, (MFR): massa fresca de raiz, (MSR): massa seca de raiz, UNESP/Botucatu-SP, 2010.	47
9	Teor de óleo essencial (%) e produtividade (g planta ⁻¹) de folhas e raízes de plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	49

- 10 Média da porcentagem relativa dos principais componentes ($\geq 0,5\%$) do 55
óleo essencial das folhas de *P. aduncum* nos diferentes níveis de
sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento).
UNESP/Botucatu-SP, 2010.
- 11 Média da porcentagem relativa dos principais componentes ($\geq 0,5\%$) do 56
óleo essencial das raízes de *P. aduncum* nos diferentes níveis de
sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento).
UNESP/Botucatu-SP, 2010.
- 12 Médias das porcentagens relativas (%) dos principais componentes do óleo 59
essencial das folhas de *P. aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento
em cada tratamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.
- 13 Médias das porcentagens relativas (%) dos principais componentes do óleo 60
essencial das raízes de *P. aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento
em cada tratamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Plantas de <i>P. aduncum</i> submetidas a diferentes níveis de irradiância no viveiro. A: plantas a pleno sol, B: plantas submetidas a 50% de sombreamento e C: plantas submetidas a 70% de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	31
2	Medição da PAR com analisador de gás infravermelho (IRGA-Li 6400) em plantas de <i>P. aduncum</i> . UNESP/Botucatu-SP, 2010.	31
3	Mudas de <i>P. aduncum</i> 90 dias após a semeadura. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	33
4	Limpeza das raízes das plantas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.	34
5	Extração de óleo essencial de folhas e raízes de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/ Botucatu-SP, 2010.	37
6	Análise de componentes principais dos óleos essenciais de folhas de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento). UNESP/Botucatu-SP, 2010.	57
7	Análise de componentes principais do óleo essencial de raízes de <i>P. aduncum</i> sob diferentes níveis de sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento). UNESP/Botucatu-SP, 2010.	58

RESUMO

Piper aduncum é conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, aperta-ruão, jaborandi do mato, pimenta-do-fruto-ganchoso, falso-jaborandi, jaguarandi, matico e pimenta-longa. Seu uso na medicina popular é amplamente relatado para doenças ginecológicas, desordens intestinais, diurético, carminativo, digestivo, para males do fígado, no combate a erisipela e tratamento de úlceras crônicas. A espécie é rica em óleo essencial, e este apresenta atividade inseticida, larvicida, antimicrobiana, antifúngica, antitumoral e apresenta baixa toxicidade. Porém na área agronômica os estudos com a espécie são bastante escassos. Modificações nos níveis de luminosidade a que uma espécie está submetida podem acarretar diferentes respostas em suas características fisiológicas, bioquímicas, anatômicas e de crescimento e, conseqüentemente, podem alterar a sua composição química e atividade biológica. Desse modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar o desempenho ecofisiológico e a produção de biomassa, além da produtividade e qualidade do óleo essencial de folhas e raízes de *Piper aduncum* sob diferentes condições de intensidade luminosa, contribuindo para o conhecimento e conservação das plantas com potencial medicinal e para o

desenvolvimento de futuras pesquisas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e sete repetições, sendo que cada parcela constou de cinco plantas. Os tratamentos consistiram em três níveis de luminosidade: 0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento, tendo sido avaliados aos 177 dias. As plantas apresentaram melhor desempenho ecofisiológico sob sombreamento de 50% e 70%, considerando-se as maiores taxas de concentração interna de CO₂ e condutância estomática, porém a assimilação de CO₂ não apresentou diferença estatística e a transpiração apresentou menor valor a pleno sol. Em relação aos parâmetros biométricos observou-se maior massa seca de caule, altura e área foliar a 70%, sendo que a massa seca total e a massa seca de folhas não foram influenciadas pelos tratamentos. A pleno sol as plantas apresentaram maior massa seca de raiz, menor massa seca de folhas, altura e área foliar, indicando que o ambiente a pleno sol não proporcionou condições adequadas para o bom desempenho ecofisiológico e crescimento da espécie. Em relação à composição química do óleo essencial pode-se dizer, em linhas gerais, que os componentes do óleo essencial das folhas com maior porcentagem relativa, os fenilpropanóides, aumentam com o sombreamento e os sesquiterpenos, presentes em menor porcentagem relativa, diminuem. Já para as raízes de plantas sombreadas e não sombreadas os resultados são inversos, a porcentagem relativa dos fenilpropanóides diminui com o aumento do sombreamento e os sesquiterpenos aumentam. Embora o teor e a produtividade de óleo essencial das folhas não tenham apresentado diferenças estatísticas, observou-se maior valor a 70% de sombreamento. Nas raízes também não foi verificada influência dos tratamentos no teor, mas a maior produtividade de óleo essencial foi observada nas plantas a pleno sol, resultados que podem estar relacionados com a disponibilidade de carbono fixado fotossinteticamente em cada órgão, pois a sua disponibilidade é um componente importante do mecanismo fisiológico de produção de óleo essencial.

Palavras-chave: Piperaceae, luz, ecofisiologia, metabolismo secundário

GAS EXCHANGE, BIOMASS, YIELD AND COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF LEAVES AND ROOTS OF *Piper aduncum* L. UNDER DIFFERENT SHADE LEVELS. Botucatu, 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: MARIA IZABELA FERREIRA

Adviser: LIN CHAU MING

SUMMARY

Piper aduncum is popularly known as the “pimenta-de-macaco, apertaruão, jaborandi do mato, pimenta-do-fruto-ganchoso, falso-jaborandi, jaguarandi, matico e pimenta-longa”. Its use in folk medicine is widely reported to gynecological diseases, intestinal disorders, diuretic, carminative, digestive, for ailments of the liver, in fighting to erysipelas and treatment of chronic ulcers. The species is rich in essential oil, this activity presents insecticide, larvicide, antimicrobial, antifungal, antitumor and has low toxicity. But agronomy studies with the species are scarce. Changes in light levels to which a species is subjected may cause different responses in their physiological, biochemical, anatomical and growth and hence may alter the chemical composition and biological activity. Thus, this study aims to evaluate the ecophysiological and biomass production, as well as productivity and quality of essential oil of leaves and roots of *Piper aduncum* under different light intensity, contributing to the knowledge and conservation of plants with potential medicine and the development of future research. The experimental design was completely randomized design with three treatments and seven replicates, each plot consisted of five plants. The treatments

consisted of three levels of lightness: 0% (full sun), 50% and 70%, having been assessed at 177 days. The results allowed to say that the plants showed better ecophysiological performance under 50% and 70% of shade, considering the higher rates of internal CO₂ concentration and stomatal conductance, but showed no statistical difference in CO₂ assimilation, and showed lowest transpiration in full sun. In relation to biometric parameters, the plants showed higher dry mass of stem, height and leaf area to 70%, and the total dry mass and dry mass of leaves were not affected by treatments. The full sun plants had a lower height, dry mass of leaves and leaf area, and this did not differ by 50%, and higher root dry mass, so the environment in full sun did not provide adequate conditions for good ecophysiological performance and growth of the species. Regarding the chemical composition of essential oil, in general, the components of the essential oil of the leaves with a higher relative percentage, the phenylpropanoids, increase with the shading and the sesquiterpenes, present in lower relative percentage, decrease. As for the roots of shaded and not shaded plants, the relative percentage of phenylpropanoids decreases with increasing shading and sesquiterpenes increase. Although the content and productivity of essential oil of the leaves have not shown statistical differences, there was greater value to 70% shade. It was not observed influence of the treatments in content of essential oil of roots, but was observed high levels of yield in the plants in full sun, results that may be related to the availability of photosynthetically fixed carbon in each organ, because its availability is a important component of physiological mechanism of production of essential oil.

Keywords: Piperaceae, light, ecophysiology, secondary metabolism

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, com sua riqueza florística, apresenta um grande potencial para a produção de substâncias ativas derivadas de plantas. Bizzo e Rezende (2009) afirmam que há um crescente interesse dos consumidores sobre os processos de obtenção das matérias-primas dos produtos que consomem. Segundo estes autores, apelos de políticas de preservação ambiental são instrumentos de “marketing” muito eficientes, particularmente no mercado europeu, e esta é uma ótima oportunidade para o desenvolvimento de processos sustentáveis de exploração da biodiversidade. Assim, o uso de fontes renováveis para a produção de óleo essencial toma lugar de destaque.

Paralelamente ao crescimento do mercado consumidor e do interesse pelo uso, observa-se um ritmo acelerado das pesquisas na área de biologia molecular e fitoquímica, por parcerias entre instituições públicas e empresas privadas farmacêuticas, de perfumaria e cosméticos, em busca de informações sobre a química, a bioquímica e a farmacologia de produtos naturais (VIEIRA et al., 2002).

Em consequência das descobertas científicas do potencial medicinal de diversas espécies vegetais, sobretudo as nativas, e do aumento do uso e comercialização do material vegetal, os recursos genéticos dessas espécies encontram-se ameaçados pelo

extrativismo elevado, cuja atividade predatória tem comprometido a perpetuação e dificultado estudos relacionados à conservação e preservação dessas espécies (VIEIRA et al., 2002).

Neste cenário, os estudos agronômicos e ecofisiológicos de plantas medicinais nativas ganham grande importância, pois propiciam o acesso ao material vegetal em quantidade adequada para suprir as demandas de mercado e com qualidade.

A qualidade se refere à composição química dessas plantas, que possuem substâncias biologicamente ativas produzidas pelo metabolismo secundário vegetal. Apesar de a biossíntese dos metabólitos secundários ser controlada geneticamente a expressão dos genes pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos, evolutivos e genéticos (TRAPP, CROTEAU, 2001; GOBBO-NETO, LOPES, 2007). Assim, as rotas metabólicas representam uma interface química entre as plantas e o ambiente, por isso a sua síntese é frequentemente afetada pelas condições ambientais.

Dentre os fatores ambientais podem se destacar a luz (intensidade e fotoperíodo), a latitude, a altitude, a temperatura (mínima, máxima e média), o solo (propriedades químicas e físicas), os ventos e a disponibilidade de água. Porém, alguns destes fatores apresentam correlações entre si e não atuam isoladamente, podendo influir em conjunto no metabolismo secundário, como por exemplo o índice pluviométrico e a sazonalidade, temperatura e altitude entre outros (PALEVITCH, 1987; GOBBO-NETO, LOPES, 2007).

Segundo Portes (2010) a disponibilidade de luz tem influência sobre a fotossíntese, a qual está entre os processos mais sensíveis e responsivos a estresses e, por ter papel central no metabolismo vegetal, é esperado que os mecanismos fisiológicos envolvidos nos padrões de respostas a variações de luz possam ajudar a entender a significância funcional dessas variações, além de elucidar os limites de tolerância e aclimação das espécies. Em adição, o processo fotossintético apresenta alto nível de integração metabólica podendo influenciar vários outros processos, uma vez que seu produto é utilizado em praticamente todas as vias que compõem o metabolismo vegetal. Na literatura muitos trabalhos indicam que a luz atua também de forma significativa e complexa no teor e na composição química das plantas (LI, CRAKER, 1996; ZAVALA, RAVETTA, 2001; JUN-LING et al., 2010) indicando que pode haver alterações nas rotas biossintéticas de alguns metabólitos secundários.

O estudo da influência da luz no metabolismo secundário mostra respostas fisiológicas diferenciadas em cada espécie, devendo-se estabelecer as condições adequadas de cultivo para a produção de cada uma. A avaliação decorrente das condições de cultivo é um fator importante para o estabelecimento de manejo eficiente para a condução de sistemas de produção comercialmente viáveis (SANTIAGO et al., 2001).

O gênero *Piper* fornece um sistema modelo atrativo para o estudo dos efeitos da disponibilidade luminosa nos processos produtivos vegetais (FREDEEN, FIELD, 1991). Dentre as espécies deste gênero, *Piper aduncum* L. vem sendo pesquisada por apresentar múltiplas atividades biológicas. É uma espécie passível de cultivo, considerada de grande potencialidade para o desenvolvimento regional por ser uma fonte sustentável de matéria prima química, podendo ser industrializada tanto em pequena quanto em grande escala (FAZOLIN et al., 2006).

A espécie é rica em óleo essencial (FAZOLIN, 2006), apresentando atividade inseticida (FAZOLIN et al., 2005; LING, SULAIMAN, OTHMAN, 2009), larvicida (FAZOLIN et al., 2007), antimicrobiana (NAIR, BURKE, 1990; ORJALA et al., 1994; CÁCERES et al., 1995), antifúngica (BASTOS, 1997), antitumoral (ORJALA et al., 2011; CALDERON et al., 2006 apud ALONSO-CASTRO et al., 2011) e baixa toxicidade do óleo essencial (SOUSA et al., 2008). Muitos trabalhos podem ser citados em relação às atividades biológicas de *P. aduncum*, já as pesquisas relacionadas à área agrônômica são escassas.

Diante do potencial medicinal atribuído à espécie e do interesse das indústrias em desenvolver produtos de origem vegetal e da flora nativa, é necessário que se desenvolvam estudos direcionados às condições adequadas para a produção de seu óleo essencial, já que pouco se conhece sobre as respostas fisiológicas de plantas medicinais nativas aos diferentes fatores do ambiente, especialmente a luz.

Desse modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar o desempenho ecofisiológico e a produção de biomassa, além da produtividade e qualidade do óleo essencial de folhas e raízes de *Piper aduncum* sob diferentes condições de intensidade luminosa, contribuindo para o conhecimento e conservação das plantas com potencial medicinal e para o desenvolvimento de futuras pesquisas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A família Piperaceae

A família Piperaceae inclui de cinco a oito gêneros e aproximadamente 2.000 espécies (SOUZA, 2005). No Brasil a família é representada por cinco gêneros, e um total aproximado de 460 espécies (BARROSO, 1978; SOUZA, 2005), muitas delas extremamente comuns na Mata Atlântica, onde ocorrem em abundância e diversidade. Geralmente as plantas são arbustos, lianas, epífitas, ervas e pequenas arvores sempre aromáticas, normalmente com células de óleos essenciais (DI STASI, 2002).

O caule é articulado e nodoso, as folhas são inteiras, dorsiventrais, alternas, raramente opostas ou verticiladas, pecioladas com estípulas (HUTCHINSON, 1973 apud VIANNA, AKISUE, 1997).

Piperaceae é uma família predominantemente tropical, bastante comum nas formações florestais brasileiras, particularmente na Mata Atlântica. Pertencem a esta família algumas plantas utilizadas como medicinais como a pariparoba ou caapeba (*Pothomorphe umbellata*) e o falso jaborandi (*Piper* spp.), além de plantas condimentares, como a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) (SOUZA, 2005).

A posição filogenética da família Piperaceae está entre um conjunto diversificado de dicotiledôneas denominado “paleoervas”, são plantas que se assemelham a monocotiledôneas, em certas características vegetativas, por exemplo, estípula adaxial e feixes vasculares dispersos (DONOGHUE, DOYLE, 1989; LOCONTE, STEVENSON, 1991 apud JARAMILLO, MANOS, 2001)

Característica singular nestas dicotiledôneas é o arranjo dos feixes vasculares que apresentam-se dispersos em dois ou mais círculos, distribuídos como monocotiledôneas (HUTCHINSON, 1973 apud VIANNA e AKISUE, 1997). Em algumas espécies as folhas são carnosas e de base assimétrica (VIANNA e AKISUE, 1997).

Em Piperaceae encontram-se células secretoras com óleo translúcido, que ocorrem tanto nas folhas como nas demais partes aéreas de todos os membros desta família. Os elementos secretores são também representados por canais ou células de mucilagem nos tecidos das espécies de *Piper* (DASGUPTA, DATTA, 1985 apud VIANNA, AKISUE, 1997).

A família é muito importante como fonte de substâncias com atividade farmacológica, especialmente do gênero *Piper*, o mais estudado e conhecido do ponto de vista químico (DI STASI et al., 2002) e pode ser considerado o de maior importância, tanto do ponto de vista científico quanto econômico (FAZOLIN et al., 2006).

2.2. Aspectos gerais de *P. aduncum*

O gênero *Piper* tem mais de 700 espécies distribuídas em ambos os hemisférios, tem alta importância comercial, econômica e medicinal. Economicamente é importante fonte de pimenta nos mercados de especiarias em todo o mundo, sendo que a mais conhecida é a pimenta-do-reino, *Piper. Nigrum*. (PARMAR, 1997).

Na Mata Atlântica, espécies de *Piper* são pequenos arbustos ou árvores, sublenhosos, comuns no subosque, principalmente em áreas relativamente alteradas. São facilmente reconhecidas mesmo em estado vegetativo pela presença de nós foliares geniculados e folhas geralmente com base bastante assimétrica; possui espigas opostas às folhas e são geralmente plantas lenhosas ou sublenhosas (SOUZA, 2005)

Piper aduncum é conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, aperta-ruão (SOUZA et al., 2008), aperta-joão, jaborandi do mato, pimenta-do-fruto-ganchoso (VIANNA, AKISUE, 1997), falso-jaborandi, jaguarandi, matico, e pimenta-longa (LORENZI, MATOS, 2008).

A espécie está listada 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)

No nordeste brasileiro é conhecida como pimenta-de-fruto ganchoso, tapa-buraco, falso-jaborandi e aperta-ruão (PEREIRA, 1929 apud GUIMARÃES, GIORDANO, 2004). Nos estados do Amazonas e Acre, os indivíduos desta espécie são denominados popularmente de pimenta-de-macaco ou pimenta-longa (FAZOLIN, 2006). Na região Amazônica suas folhas são utilizadas sob a forma de chá contra apatia intestinal e males estomacais, (VAN DEN BERG, 1993 apud GUIMARÃES, GIORDANO, 2004). em doenças ginecológicas e desordens intestinais (VAN DEN BERG, 1993 apud SOUSA et al., 2008), como diurético, antiblenorrágico, carminativo, excitante digestivo, para males do fígado, no combate a erisipela e tratamento de úlceras crônicas (COIMBRA, 1999 apud SOUSA et al., 2008).

Na região Sudeste é conhecida por aperta-ruão, principalmente em São Paulo, por suas propriedades medicinais (PEREIRA, 1929 apud GUIMARÃES, GIORDANO, 2004). Essa planta é de uso de populações locais do Vale do Ribeira, sendo que seu uso

popular se faz através de chá ou “banhos medicinais” com o fervido das folhas, sendo usada para corrimento dos órgãos sexuais (MING et al., 2006).

A espécie é conhecida em Cuba como “platanillo-de-Cuba”; “canilha de ruerto” e “condoncillo” no México; “higuillo” e “higuillo oloroso” em Porto Rico; “cordoncillo blanco” na Venezuela; “oijú-yú” em Trinidad. Neste país, existe medicamento patenteado com o nome de Cannagina, cujas partes usadas são as folhas, frutos e raiz (ROIG, MESA, 1945; 1988 apud GUIMARÃES, GIORDANO, 2004)

O uso popular da espécie está relacionado a problemas dermatológicos, urológicos, diabetes e tumores de pele (MARTINEZ, 1989 apud ALONSO-CASTRO, 2011). Às folhas são atribuídas propriedades tônica, estomáquica e antiespasmódica e às raízes ação eficaz contra picada de cobra e ação estimulante e colagoga; externamente é usada contra erisipela (MORS, RIZZINI, PEREIRA, 2000 apud LORENZI, MATOS, 2008). O chá ou a infusão alcoólica de suas folhas, raízes e frutos é empregado como tônico, carminativo, antiespasmódico, contra blenorragia e para afecções do fígado, vesícula e baço (VAN DEN BERG, 1993 apud LORENZI, MATOS, 2008).

Os moradores das áreas costeiras da província de Morobe, Papua Nova Guiné, fazem uso das folhas frescas de *P. aduncum* como antisséptico. O pó das folhas frescas é aplicado diretamente em feridas e as folhas não trituradas são utilizadas como atadura (HOLDSWORTH, DAMASC, 1986; HOLDSWORTH, 1991 apud ORJALA et al., 1994). No Peru, a decocção das folhas é usada para o tratamento de diarreias (MACEDO, OVIEDO, 1987 apud ORJALA, et al., 1994).

De acordo com Guimarães e Giordano (2004) a identificação correta e a divulgação das espécies da família Piperaceae permitirão aos estudiosos e pesquisadores em fitoquímica e aos interessados no desenvolvimento regional a utilização e a conservação destas plantas que, provavelmente, constituirão alternativas para as populações carentes.

A espécie é rica em óleo essencial, (FAZOLIN, 2006) e apresenta atividade inseticida (FAZOLIN et al., 2005; LING, SULAIMAN, OTHMAN, 2009), larvicida (FAZOLIN et al., 2007), antimicrobiana (NAIR, BURKE, 1990; ORJALA et al., 1994; CÁCERES et al., 1995), antifúngica (BASTOS, 1997), antitumoral (ORJALA et al., 2011; CALDERON et al., 2006 apud ALONSO-CASTRO et al., 2011) e baixa toxicidade do óleo

essencial (SOUSA et al., 2008). Muitos trabalhos podem ser citados em relação às atividades biológicas de *P. aduncum*, já as pesquisas relacionadas à área agrônômica são escassas.

2.3. Aspectos botânicos de *P. aduncum*

Yuncker (1972) descreveu duas variedades para a espécie, *P. aduncum* L. var. *aduncum* e *P. aduncum* var. *cordulatum* (C.DC.) Yuncker, sendo que esta última apresenta pecíolos menores, pedúnculos maiores e espigas regularmente e fortemente curvadas, representando uma forma densamente pubescente, embora alguns dos espécimes observados apresentassem características intermediárias entre var. *aduncum*. De acordo com a sua descrição botânica, a espécie *P. aduncum* L. var. *aduncum* é uma planta nodosa, arbustiva ou uma pequena árvore, com 3 a 6 m de altura, entrenós superiores delgados, de 1 a 4 cm de comprimento, moderadamente a finamente pubérulo glabrescente, a maioria dos tricomas são menores que 0,5 mm.

As folhas são elípticas ou lanceoladas, ápice bastante longo e nitidamente acuminado, base inequilateralmente arredondada ou cordulada, 4 a 7 cm de largura e 12 a 20 cm de comprimento, áspera e mais ou menos pubescente na superfície adaxial, a nervura é pubescente e dotada de poucas glândulas. Folhas velhas mais ou menos ásperas, com nervuras paralelas a partir do meio, de 6 a 8 de cada lado, são nitidamente ascendentes e aproximam-se gradualmente. O pecíolo tem entre 3 e 8 mm de largura e 2 a 4 mm de comprimento, com um lado mais curto (2 a 4 mm), também pubescente e vaginado na base. As espigas tem de 2 a 3 mm de espessura por 8 a 15 mm de comprimento, regularmente curvas, pedúnculo delgado, 10 a 15 mm de comprimento; brácteas arredondadas ou triangular subpeltada, marginalmente franjada; 4 estames; o fruto é uma drupa ovóide pequena, mais ou menos tri ou tetralocular, glabro, e estigma séssil (YUNKER, 1972).

Segundo Vianna e Akisue (1997), os caules são perfilhados, cilíndricos tem 2,5 a 3,5 cm de diâmetro na base, de aspecto áspero devido ao grande número de lenticelas muito protuberantes. As folhas possuem disposição alterna, a cor da lâmina foliar é verde escura na face superior e verde mais claro na face inferior, a consistência é membranácea e flexível.

As características anatômicas foram estudadas pelos mesmos autores, os quais relatam tricomas abundantes nas duas epidermes foliares, denotando à superfície inferior aparência sedosa, pubescente e esbranquiçada. As folhas são hipostomáticas, podendo apresentar pontuações e tricomas glandulares. No parênquima fundamental da folha estão dispostas células oleíferas, além de células contendo grãos de amido e inclusões de oxalato de cálcio, tais como cristais aciculares e prismáticos em abundância. É possível observar células oleíferas também no floema dos feixes fibro-vasculares colaterais presentes nos pecíolos das folhas e na região cortical das raízes jovens, onde essas células oleíferas exibem contorno arredondado e conteúdo pardo amarelado.

Dousseau (2009) identificou a presença de idioblastos oleíferos unicelulares, já descritos por Vianna e Akisue (1997) como células oleíferas presentes no mesofilo, porém a primeira autora descreveu a presença destas estruturas também nas camadas subcelulares e epidermes. A autora observou ainda que a folha é hipostomática, com estômatos tetracíticos e salientes, tricomas tectores unicelulares curtos de extremidades afiladas, pluricelulares de extremidade afilada e captado, tricomas glandulares saculiformes e glândulas peroladas também foram observados. Nos estudos histoquímicos foi observada nos idioblastos oleíferos a presença de lipídeos totais, ortodihidroxifenóis, lactonas sesquiterpênicas e terpenóides com grupo carbonilo, ao passo que nos tricomas saculiformes foi verificada reação positiva para proteína, lipídeos totais e ortodihidroxifenóis.

P. aduncum pode ser encontrada desde o nível do mar até altitudes consideráveis. Sua distribuição geográfica se dá na América Central, Antilhas e América do Sul. No Brasil é encontrada nos estados do Acre, Pará, Mato Grosso, Ceará, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (FAZOLIN, 2006).

De acordo com Lorenzi (2008) é uma espécie típica de subosque de várias formações florestais, preferencialmente em solos com elevado teor de matéria orgânica e umidade. Porém, Sousa et al. (2008) relatam a sua ocorrência em solos areno-argilosos, sendo considerada uma planta oportunista que invade áreas desflorestadas após exploração de madeira, de alta rusticidade e elevada resistência às mudanças climáticas, corroborando com Lorenzi e Matos (2008), que afirmam que a espécie é de ocorrência espontânea em pastagens e beiras de matas do Sudeste, onde é considerada “planta daninha”.

É possível que a espécie apresente grande habilidade de aclimação às diferentes condições ambientais a que está sujeita, pois foi observado na população coletada que as folhas dos indivíduos sob maior sombreamento apresentaram-se maiores, com maior área e mais escuras do que aquelas dos indivíduos sob maior intensidade luminosa. De acordo com Portes (2010) a capacidade modulativa do fenótipo frente a condições ambientais distintas, promovida por ajustes na expressão do genótipo, é conhecida como plasticidade fenotípica e a habilidade de expressá-la é característica da espécie.

Segundo Rocha et al. (2005) a espécie pode ser classificada ecofisiologicamente como planta pioneira, devido a sua ocorrência em campos e barrancos abertos, com incidência de luz solar direta e abundante, condição essencial para a germinação de suas sementes. Estas observações estão de acordo com Alvarenga, Botelho e Pereira (2006), que afirmam que a espécie apresenta potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas, pois é colonizadora de áreas alteradas, promovendo a maior regeneração natural e densidade relativa alcançada ao longo do tempo.

Suas sementes são muito pequenas e na sua maioria são dispersas pelo vento, por morcegos e aves (HARTEMINK, 2001). Em um estudo sobre a ecologia da polinização de Piperaceae em mata semidecídua do Sudeste brasileiro, Figueiredo (1997) encontrou para *P. aduncum* alta densidade absoluta e frequência relativa, além de apresentar elevados índices de autopolinização espontânea, indicando que a taxa de autofecundação nesta espécie deve ser alta, concordando com os resultados obtidos por Wadt (2001).

A formação de populações com altas taxas de autofecundação pode aumentar o fluxo gênico relacionado com determinadas características, fazendo com que as plantas apresentem diferenças genéticas entre populações distantes, podendo implicar na ocorrência de diferenças morfológicas, anatômicas e químicas. Algumas diferenças morfológicas puderam ser observadas na população onde foi coletado o material vegetal deste trabalho, como folhas com coloração mais clara do que a observada em outras localidades e ramos com coloração vermelha acentuada, características que podem estar relacionadas a fatores nutricionais, ambientais ou genéticos.

Rocha et al. (2005) observaram diferentes padrões de germinação em dois ecotipos de *P. aduncum*, coletados no estado de São Paulo (SP) e Paraná (PR), o ecotipo PR se mostrou dependente de luz solar direta para a germinação e o ecotipo SP apresentou

germinação limitada sob luz verde. Essas diferenças indicam que o ecotipo SP pode ser mais adaptado a ambientes semi sombreados do que o ecotipo PR.

Resultados em todo o mundo forneceram evidências que diferenças genéticas em plantas estão relacionadas com diferenças químicas. Estes estudos abrem grandes perspectivas para a criação de novos quimiocultivares, de alta produtividade para plantas medicinais, aromáticas e condimentares (TÉTÉNYI, 2002).

O interesse pelo cultivo de *P. aduncum* está relacionado com suas propriedades medicinais e a produção de compostos químicos de alto valor para as indústrias farmacêuticas e químicas, sendo importante avaliar a produtividade da espécie em diferentes condições de cultivo, o que constitui um foco importante das pesquisas agronômicas.

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), e no caso das espécies nativas, cujas pesquisas básicas são incipientes, os aspectos ecofisiológicos, principalmente os relacionados com a luz são de suma importância.

Assim, a avaliação da capacidade de aclimação é fundamental diante das mudanças climáticas globais, da necessidade imediata de conservação dos ambientes florestais e dos recursos genéticos vegetais. Deste modo, estudos ecofisiológicos com espécies nativas que apresentam potencial de exploração biológica, química e econômica, como é o caso de *P. aduncum*, assumem importância especial no panorama atual de processos sustentáveis de exploração da biodiversidade, principalmente em relação à produção de óleo essencial.

2.4. Aspectos ecofisiológicos

A fotossíntese está entre os processos mais sensíveis e responsivos a estresses e, por ter papel central no metabolismo vegetal, é esperado que o aparato fotossintético apresente elevada capacidade de resposta, ajuste e acoplamento ao ambiente. Assim, os mecanismos fisiológicos envolvidos nos padrões de respostas a variações ambientais podem ajudar a entender a significância funcional dessas variações, além de elucidar os limites de tolerância e aclimação das espécies (PORTES, 2010).

Portanto, a disponibilidade de luz tem sido largamente estudada, por apresentar ação direta na fotossíntese. Segundo Boardmann (1977) e Givinish (1988) plantas cultivadas sob elevados níveis de radiação solar possuem características morfofisiológicas em comum, quando comparadas com as plantas cultivadas sob sombra, como menor área foliar, aumento da espessura foliar e menor área foliar específica, maior alocação de biomassa para as raízes, maiores teores de clorofila por área foliar, maiores razões entre clorofilas *a* e *b* e maior densidade estomática. Lima-Jr et al., (2005) também relatam que alterações do ambiente luminoso provocam mudanças anatômicas e morfofisiológicas nas plantas, as quais afetam a condutância estomática e, portanto, a assimilação líquida de CO₂ e a transpiração

Assim, o estudo do funcionamento da maquinaria fotossintética é um campo atraente e fundamental da Ecofisiologia Vegetal, que possibilita analisar a dinâmica da interação planta-ambiente. Nas últimas décadas, foi obtido um importante e acentuado avanço na instrumentação e nas técnicas utilizadas em Ecofisiologia, especialmente para acessar as respostas fotossintéticas, avaliando tanto a etapa fotoquímica quanto a bioquímica. Os analisadores de gases por infravermelho (IRGAs) e os fluorômetros merecem destaque, uma vez que possibilitam estimar prontamente as oscilações do aparato fotossintético sob condições experimentais controladas ou no campo (PORTES, 2010).

Lima-Jr et al., 2006 estudaram o efeito de diferentes níveis de sombreamento (pleno sol, 30%, 50% e 70%) sobre a anatomia foliar e trocas gasosas de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. (Sapindaceae), uma espécie medicinal conhecida popularmente com o nome de camboatã ou camboatá, que habita tanto o interior de matas primárias quanto todos os estádios de formações secundárias; os resultados obtidos indicaram maior taxa fotossintética e incrementos na condutância estomática, espessura do limbo,

número de estômatos por área e espessura de parede celular em folhas de plantas crescidas sob pleno sol e 30% de sombreamento, sendo que foram observadas correlações positivas entre as características de trocas gasosas e de anatomia foliar.

Marchese et al. (2008) avaliaram o crescimento e desenvolvimento de pariparoba, *Pothomorphe umbellata* L., uma espécie medicinal da família Piperaceae, sob diferentes níveis de sombreamento (pleno sol e 30, 50 e 70% de sombra) no município de Botucatu-SP e obtiveram máxima condutância estomática, taxa fotossintética líquida, transpiração e conteúdo relativo de clorofila em plantas a 30% de sombreamento. Foi possível observar também que as plantas cultivadas sob pleno sol produziram folhas com menor teor de clorofila, além de sinais de clorose e necrose. Estes resultados corroboram com Mattana (2005), que observou também em pariparoba maior massa seca das folhas a 30% de sombreamento na primeira colheita, não apresentando diferença estatística na segunda colheita, embora a maior altura e área foliar tenham sido obtidas nas plantas submetidas a 70% de sombreamento.

Kim et al. (2011) investigaram o crescimento e as características fotossintéticas de blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) cultivadas sob 31, 60, 73 e 83% da radiação solar, em Seoul, na República da Coreia, com o objetivo de entender a aclimação das plantas em condições de sombra e determinar as melhores condições de luz para fins agrícolas. Os autores concluíram que os níveis de sombra acima de 60% de luz solar total devem ser evitados para a ótima fotossíntese (assimilação de CO₂) e crescimento da espécie.

Alguns trabalhos indicam que a luz atua também de forma significativa e complexa no teor e na composição química das plantas, indicando que pode haver alterações nas rotas biossintéticas de alguns metabólitos secundários. Em *Grindelia chiloensis* (Asteraceae) um arbusto nativo da Patagônia, Argentina, a disponibilidade de radiação foi positivamente correlacionada com acúmulo de biomassa da parte aérea e metabólitos secundários a base de carbono (resina). Os autores afirmam que essa correlação positiva entre crescimento à base de carbono e o metabolismo secundário foi estimulada pelo aumento da taxa de assimilação de CO₂ encontrada nas plantas sob sol pleno (ZAVALA, RAVETTA, 2001).

Já o estudo sobre os efeitos da baixa intensidade luminosa (200, 100 e 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no crescimento e acúmulo de metabólitos secundários em alcaçuz [*Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (Fabaceae)] mostrou que o estresse a baixa intensidade de luz diminuiu a espessura da folha, a fotossíntese e a biomassa, aumenta a área foliar e a concentração de clorofila, além de proporcionar maior acúmulo de ácido glicirrízico e liquiritina na raiz. Porém as concentrações de ambos os metabólitos secundários foi negativamente correlacionada com a biomassa da raiz (JUN-LING et al., 2010).

O papel da luz na síntese de óleo essencial tem sido estudado recentemente em espécies condimentares medicinais e aromáticas (LI, CRAKER, POTTER, 1996; VENTRELLA, 2000; GONÇALVES, et al., 2003; MATTANA, 2005; SOUZA et al., 2007; PINTO et al., 2007; DOUSSEAU, 2009) demonstrando que a intensidade luminosa que promove maior ou menor produção de óleo essencial depende da espécie, pois respondem de maneira diferenciada, sugerindo que a expressão de genes e/ou a atividade de enzimas que catalisam reações de biossíntese dos componentes do óleo essencial podem ser afetadas pela luz.

O tomilho (*Thymus vulgaris*) apresentou maiores teores de óleo essencial, timol e mircenol a pleno sol, já sálvia (*Salvia officinalis*) apresentou maior concentração de óleo essencial a 45% da radiação total e neste nível de luz apresentou também maior porcentagem de (+) tujanona e menor acúmulo de cânfora no óleo essencial (LI, CRAKER, POTTER, 1996). Elevação no teor de óleo essencial também foi observado em plantas de erva-cidreira (*Lippia alba*) quando cultivadas a pleno sol (VENTRELLA, 2000).

Para alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham. - Verbenaceae) as plantas sob luz plena apresentaram tendência de maiores médias para massa seca de raiz e massa seca da parte aérea, sendo que nesta condição o teor e o rendimento de óleo essencial foram significativamente superiores aos demais tratamentos (SOUZA et al., 2007). Plantas de Alfazema-do-Brasil (*Aloysia gratissima* [Gilles & Hook.] Tronc. - Verbenaceae) crescidas a pleno sol e com 40 e 80% de redução da radiação solar incidente não apresentaram efeito significativo do sombreamento sobre o teor do óleo essencial, embora o rendimento de óleo essencial tenha sido significativamente superior nas plantas crescidas em plena luz e a 40% de sombreamento, em relação àquelas crescidas a 80% de sombreamento (PINTO et al., 2007).

Mattana (2005) observou que o teor de óleo essencial em plantas de pariparoba (*Pothomorphe umbellata* - Piperaceae) não foi influenciado pelos níveis de luminosidade na primeira colheita, porém na segunda colheita o maior teor foi alcançado a pleno sol e 30%, contudo não houve diferença entre os teores encontrados nas plantas submetidas a 50 e 70% de sombreamento. A autora ainda observou que a composição química dos óleos essenciais não foi influenciada pelos tratamentos, diferente da proporção relativa dos componentes do óleo. Gonçalves et al. (2003) também não observaram diferença no teor de óleo essencial, assim como na percentagem relativa de estragol e anetol, compostos majoritários em alfavaquinha (*Ocimum selloi*), em plantas cultivadas a pleno sol e a 50% de sombreamento.

Os resultados obtidos em *P. aduncum* por Dousseau (2009) mostram maior teor de óleo essencial das folhas em plantas a 70% de sombreamento e menor teor em plantas a pleno sol, porém sem diferirem estatisticamente de 50%. Também constatou maior altura e área foliar, além de maior número de folhas, massa seca de folha e total a 70% de sombreamento, concluindo que este tratamento também proporcionou a maior produtividade de óleo essencial das folhas.

De maneira geral, pode-se notar que o aumento da biomassa está relacionado com o aumento do teor de óleo essencial, sendo que a análise da assimilação líquida de CO₂ pode ser uma ferramenta interessante de correlação entre a produção do metabolismo primário e secundário, como já mencionado por Zavala e Ravetta (2001) e Kim et al. (2011), além de dar subsídios para se avaliar a capacidade de aclimação do aparelho fotossintético a diferentes condições ambientais, especialmente em relação à luz (PORTES, 2010).

Por ser uma espécie que ocorre tanto em bordas de matas e clareiras como em pastagens e ambientes degradados, aparentemente, *P. aduncum* apresenta características que indicam alta capacidade de aclimação em diferentes condições de luz, não tendo sido encontrado na literatura estudos sobre a influência da condição de luminosidade no perfil químico do óleo essencial de suas folhas e raízes.

2.5. Aspectos fitoquímicos

O processo fotossintético, através do qual as espécies vegetais assimilam CO₂ e o fixam em moléculas orgânicas fundamentais para o seu crescimento e desenvolvimento, é caracterizado por apresentar alto nível de integração metabólica, podendo assim, influenciar vários outros processos, uma vez que seu produto é utilizado em praticamente todas as vias que compõem o metabolismo vegetal (PORTES, 2010).

Em contraste com as principais vias metabólicas que sintetizam, degradam e interconvertem compostos comumente encontradas em todos os organismos, existem vias metabólicas que envolvem compostos com distribuição muito limitada na natureza. Tais compostos, chamados metabólitos secundários são encontrados em organismos específicos ou grupos de organismos e são uma expressão da individualidade das espécies (DEWICK, 2009).

O metabolismo secundário da família Piperaceae apresenta-se como um dos mais versáteis das famílias botânicas conhecidas. Os metabólitos acumulados pelas espécies desta família de plantas caracterizam-se por serem oriundos da biossíntese mista (chiquimato/mevalonato), resultando na produção de amidas ou de compostos aromáticos essencialmente fenilpropanoídicos do tipo lignanas e neolignanas. Também se caracterizam pela ocorrência de terpenos, flavonóides e outras classes de produtos naturais (FAZOLIN et al., 2006). De acordo com Bernard et al. (1995) espécies do gênero *Piper* produzem nas suas folhas diversos tipos de produtos biologicamente ativos, incluindo fenilpropanóides, lignóides e flavonóides.

Alguns metabólitos secundários atuam na defesa contra predadores, como atrativos voláteis para a mesma espécie ou para outra, ou como corantes para atrair ou repelir outras espécies, e é lógico supor que todos desempenham algum papel vital para o bem-estar do produtor, embora a função da maioria dos compostos e seus benefícios ainda não serem conhecidos (DEWICK, 2009).

Dentre os metabólitos secundários, os compostos voláteis estão presentes em muitas espécies e merecem especial atenção, devido à sua grande atividade biológica e aplicação na indústria. De acordo com Bizzo et al. (2009) os óleos essenciais são extraídos de plantas através da técnica de arraste a vapor e também pela prensagem do

pericarpo de frutos cítricos. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanóides, metabólitos que conferem suas características organolépticas.

É bem estabelecido que os terpenóides são sintetizados a partir de cinco unidades de carbono, denominadas isoprenos, como o isopentenil fosfato (IPP) e seu isômero, dimetil alil fosfato (DMAPP). Tais isoprenos podem ser derivados de duas vias metabólicas independentes, via do ácido mevalônico (MVA), que ocorre no citoplasma das células, ou a via metileritritol fosfato (MEP), também conhecida como 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DOXP), que ocorre no cloroplasto com a participação da enzima DXP sintase. O IPP formado no citoplasma serve como precursor de sesquiterpenos, esteróides e triterpenos, enquanto a maioria dos outros terpenóides, monoterprenos, diterpenos e tetraterpenos são derivados da via MEP, formados nos cloroplastos (SANGWAN et al., 2001; DEWICK, 2009).

A síntese de fenilpropanóides ocorre a partir da produção de aminoácidos aromáticos pela via do ácido chiquímico. O aminoácido fenilalanina, e com menos frequência a tirosina, são utilizados como substrato numa reação catalisada pela enzima fenilalanina amônio liase (PAL) (SANGWAN et al., 2001; DEWICK, 2009). A PAL que se destaca como uma enzima chave e regulatória dessa rota, catalisando a transformação da fenilalanina em ácido trans-cinâmico, sendo este o primeiro passo para a biossíntese dos fenólicos vegetais (CHENG et al., 2001; BIASI, DESCHAMPS, 2009).

Os óleos essenciais são importantes matérias primas industriais, utilizadas, por exemplo, na manufatura de produtos dos setores de perfumaria, cosmética, farmacêutica, alimentos e polímeros, em nível mundial (SILVA-SANTOS et al., 2006). Os países mais desenvolvidos importam estes óleos essenciais como matérias primas baratas e lhes agregam valor através de purificação, destilação, preparação de derivados, isolamento de constituintes e modificações químicas. Neste último aspecto, apresentam os óleos essenciais uma particularidade importante e pouco explorada no Brasil, ou seja, são fontes de produtos naturais puros, que são utilizados como matérias primas para a síntese de compostos de alto valor comercial (CRAVEIRO, QUEIROZ, 1993).

Assim, os óleos essenciais podem ser comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (SILVA-SANTOS et al., 2006). O safrol, um dos componentes

químicos encontrados no óleo essencial de *P. aduncum*, é um alilbenzeno (BARREIRO, FRAGA, 1999) utilizado como matéria-prima da heliotropina, um importante fixador de fragrâncias e do butóxido de piperonila, agente sinérgico de inseticidas piretróides. Também tem aplicação como fragrância em muitos produtos, como ceras de assoalho, pomadas, sabões, detergentes e produtos de limpeza (ROCHA, MING, 1999). Ainda é utilizado como matéria-prima na preparação de fármacos de natureza catecólica como a dopamina, a dopa, a α -metil dopa, o isoproterenol, entre outros (COSTA, 2000).

Algumas características químicas do óleo essencial de *P. aduncum* têm sido estudadas por diversos pesquisadores em diferentes regiões. De acordo com Smith e Kassim (1979), o óleo essencial contido nas folhas da *P. aduncum* em Fiji, apresentaram dilapiol e piperitona como constituintes majoritários. ORJALA et al. (1993) encontraram no óleo essencial, obtido de folhas da espécie coletada em Nova Guiné, o dilapiol e a miristicina. Em outro trabalho, realizado na Costa Rica, Ciccio e Ballesterio (1997) verificaram um teor de 0,4 a 1,3% de óleo essencial nas folhas e inflorescências da espécie e os principais constituintes encontrados foram dilapiol, piperitona e cineol. Maia et al. (1998), analisando o óleo essencial de *P. aduncum* da região amazônica, verificaram a presença de safrol, além de dilapiol, piperitona e terpineol.

Em coleta realizada em indivíduos de *P. aduncum* ocorrentes no estado de São Paulo, Navickiene et al. (2006) encontraram o linalol (31,7%) como composto majoritário do óleo essencial das folhas, além de biciclogermacreno (11,2%), nerolidol (10,4%) e α -humuleno (5,5%).

Rocha e Ming (1999) verificaram a presença de safrol no óleo essencial extraído das folhas da espécie, sendo que a porcentagem encontrada do componente foi de 12,4 a 17,4%, em ensaio realizado com indivíduos da mesma espécie coletada no estado de São Paulo. Martinez, et al. (2003) encontraram no óleo essencial das folhas de *P. aduncum* cultivados em Botucatu-SP obtido por hidrotdestilação a asaricina (6,74%), α -humuleno (3,88%), cariofileno (3,33%) e espatulenol (3,15%).

Vila et al. (2004) coletaram folhas de *P. aduncum* em Cochabamba, Bolívia, em novembro de 1997 e no Panamá, em janeiro de 1999; relataram a composição inusitada dos óleos essenciais das folhas. No indivíduo coletado no Panamá o óleo foi caracterizado por uma alta porcentagem de sesquiterpenos hidrocarbonetos (38,9%), sendo os

principais β -cariofileno (17,4%) e aromadendreno (13,4%). Já no espécime coletado na Bolívia o óleo essencial mostrou um alto conteúdo de monoterpenos (76%), sendo o principal constituinte 1,8-cineol (40,5%). De acordo com o autor, foi identificada uma substância não relatada anteriormente para espécie na literatura, a asaricina, também conhecida como Sarisan, (1-alil-2-metoxi-4,5 metilenodioxibenzeno) um fenilpropanóide que chegou ao teor de 12,9 %.

A asaricina, composto incomum na composição química de *P. aduncum* também já foi encontrado em outras espécies do gênero *Piper*, como *P. hostmanianum*, com 27,37%, seguido da miristicina (20,26%) e dilapiol (7,66%), e em *P. permucranatum*, encontrou-se dilapiol (54,70%), miristicina (25,61%), elemicina (9,92%) e asaricina (8,55%) (MORAIS et al., 2007). Em *P. affinis hispidinervum* C.DC coletado na região Amazônica, o maior componente do óleo essencial das folhas foi identificado como asaricina, com 74,3% seguido pelo safrol (18,4%) (BIZZO et al., 2001).

As variadas composições químicas observadas nos trabalhos acima citados podem ser explicadas pelas características do ambiente de desenvolvimento, relacionados aos fatores ambientais, edafoclimáticos e pela diversidade genética possivelmente existente entre as populações de plantas coletadas em regiões geográficas diferentes. Essas diferenças entre as populações podem ter propiciado o estabelecimento de diversos quimiotipos de *P. aduncum*, distribuídos em todo o mundo, possivelmente isolados geograficamente e geneticamente.

Gaia et al. (2004) evidenciaram por meio de locos de DNA, gerados por análise RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) a existência de real diversidade entre as populações de *P. aduncum* examinadas, um total de dezoito acessos provenientes de quatro procedências da Amazônia Brasileira, sendo provável que dentro das localidades investigadas, os padrões da diversidade genética acompanhem os padrões de distribuição geográfica.

Este resultado confirma a hipótese de que existem diferenças genéticas entre as populações distantes geograficamente, sendo importante salientar que segundo Kato e Furlan, (2007) a taxonomia de Piperaceae é bem complexa. Ainda é importante citar a alta taxa de auto-fecundação observada por Figueiredo (1997) e Wadt (2001), que pode promover diferenças na estrutura genética de populações ao longo do tempo. Assim, é importante salientar que estes fatores aumentam a complexidade de se analisar a composição química da espécie, sendo possível supor que resultados diferenciados também podem ter sido gerados

por equívocos em relação às identificações no nível de espécie, uma vez que algumas espécies deste gênero apresentam muitas características semelhantes.

A diversidade genética de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* foi investigada por Wadt et al. (2001) que observaram que as espécies são muito diferentes geneticamente, pois a diversidade genética representada na Coleção de Germoplasma de Pimenta Longa da Embrapa Acre foi elevada. Entretanto, contrariando esses resultados, Nunes et al. (2007), verificaram pela análise de cariótipos, que não há diferença entre as duas espécies, também pertencentes à Coleção de Germoplasma da Embrapa Acre. Concluíram assim, que se trata de uma única espécie, sendo *P. hispidinervum* uma variedade de *P. aduncum*, com distribuição geográfica restrita.

Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição química, caracteres físico-químicos e odores podem ser bem distintos e variar segundo a localização. (SIMÕES, SPITZER, 1999).

Poucos trabalhos estão relacionados com os óleos essenciais das raízes de espécies de *Piper*, mas, pode-se citar as raízes de *P. marginatum*, das quais foram isolados aril-propanóides, monoterpenos, sesquiterpenos, ácidos graxos, flavonóides, a croweacina e vários aril-propanóides no óleo essencial (TILLEQUIN et al. 1978; LIMA et al. 1982; RAMOS et al. 1982; DE OLIVEIRA SANTOS et al. 1997 apud DI STASI, 2002) e raízes de *P. auritum* na Jamaica, nas quais Nair, Sommerville e Burke, (1989) encontraram miristicina, asaricina, dilapiol e safrol, quatro fenilpropanóides.

A asaricina foi identificada também por Ekundayo et al. (1988), que relatam a composição do óleo volátil dos frutos de *P. guineense* (pimenta Ashanti), uma espécie herbácea comumente encontrada nas zonas de floresta tropical da África, como rico em fenilpropanóides, composto por miristicina, sarisan (asaricina), safrol e elemicina.

Não foram encontrados na literatura relatos sobre a composição química das raízes de *P. aduncum*, bem como do efeito da disponibilidade de luz na produção e composição de óleo essencial das raízes, que foi um dos focos deste trabalho.

2.6. Aspectos da atividade biológica de *P. aduncum*

O metabolismo secundário vegetal fornece a maioria dos produtos naturais farmacologicamente ativos (DEWICK, 2009) e dentre as espécies de Piperaceae, *Piper aduncum* L. vem sendo pesquisada por apresentar múltiplas atividades biológicas.

A espécie é rica em óleo essencial, apresenta atividade inseticida, larvicida, antimicrobiana e antitumoral, relatadas em muitos trabalhos relacionados as suas atividades biológicas. Nair e Burke (1990) verificaram atividade antimicrobiana em *Erysiphe graminis*, com excelentes resultados a 100 ppm. Orjala et al. (1992) em ensaio com extrato etéreo de folhas da espécie, verificaram grande atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata* e antimicrobiana em *Bacillus subtilis*.

Extrato etanólico com folhas desta espécie foi utilizado por Cáceres et al. (1995) em ensaio contra a bactéria da gonorréia (*Neisseria gonorrhoeae*), com resultados satisfatórios. Bastos (1997) verificou ação antifúngica do óleo essencial obtido de folhas da espécie sobre *Crinipellis pernicioso*.

Para se avaliar o controle a larvas de quinto instar de *Tenebrio molitor* L., Fazolin et al. (2007) usaram óleo essencial das espécies *P. aduncum* e *P. hispidinervum* C. DC. constatando-se que a taxa de mortalidade foi elevada, tanto para a exposição por contato em papel filtro, quanto para a aplicação tópica, para os óleos essenciais de *P. hispidinervum* e *P. aduncum*, respectivamente, mostrando resultados promissores para o emprego desses óleos essenciais como inseticidas, utilizando-se concentrações acima de 3,0% para *P. hispidinervum* e 2,5% para *P. aduncum*.

De acordo com Rafael et al. (2008) o óleo essencial das folhas de *P. aduncum* apresenta um componente químico chamado dilapiol, um fenilpropanóide que isolado tem atividade inseticida, fungicida e antimicrobiana.

A atividade inseticida do dilapiol foi testada *in vivo*, sobre as larvas e pupas de *Aedes aegypti*, o mosquito vetor da dengue e causou maior mortalidade em todas as gerações, tanto para as larvas quanto para as pupas. Seus efeitos genotóxicos sugerem que este produto natural pode ser uma alternativa útil para o controle do *A. aegypti*.

Bernard et al. (1995) compararam o extrato etanólico das folhas de dezesseis espécies de *Piper*, apontando *P. aduncum* como o de maior atividade inseticida para

larvas de segundo instar do mosquito *Aedes atropalpus*. Nesse ensaio, o extrato etanólico das folhas frescas aplicado na água, na concentração de 10 ppm, causou a mortalidade de 50% (CL50) das larvas de segundo instar. Testou-se também um composto isolado e purificado do seu óleo essencial, o dilapiol, nas mesmas condições experimentais, mostrando 92% de eficiência no controle das larvas, na concentração de 1 ppm.

Fazolin et al. (2005) obtiveram resultados promissores utilizando o óleo essencial de *P. aduncum* no controle de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné, importante desfolhador de leguminosas da Amazônia. Nesse estudo, foi avaliada a intoxicação por contato e por superfície contaminada, sendo que o valor da dose letal (DL50) foi de 0,002 mL de óleo mg de inseto⁻¹, por aplicação tópica e a concentração letal (CL50) foi de 0,003 mL de óleo cm⁻² em superfície contaminada.

Ling; Sulaiman e Othman (2009) comprovaram a eficácia do óleo essencial de *P. aduncum* contra adultos e ninfas de *Periplaneta americana* (barata) em laboratório, sendo que, na mesma dose, as ninfas e os machos foram mais suscetíveis que as fêmeas, em concentrações que variaram entre 10.000 a 80.000 ppm.

Ensaio bioguiados do extrato clorofórmico das folhas de *P. aduncum* indicaram que atividade antibacteriana significativa para *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* e *Escherichia. coli*, além de ser citotóxico para células carcinoma nasofaringe KB. Esse estudo levou ao isolamento e caracterização de três dihidrochalconas, além de cinco conhecidos produtos naturais: 2', 6'-Dihydroxy-4'-methoxidiidrochalcona; 2', 6', 4-Trihidroxi 4'methoxidiidrochalcona; Piperaduncina A, Piperaduncina B e Piperaduncina C (ORJALA et al., 1994).

A atividade do extrato etanólico das folhas de *P. aduncum* foi positiva para linhagens de tumores específicos, como carcinoma de pulmão humano de grandes células (H-460), glioma (SF268) e carcinoma de mama humano (MCF-7) (CALDERON et al., 2006 apud ALONSO-CASTRO et al., 2011).

Devido ao seu uso popular, Sousa et al. (2008) avaliaram a toxicidade aguda e subaguda do óleo essencial de *P. aduncum* em camundongos. A dose letal (DL50) foi de $2,400 \pm 191,7$ mg/kg e não houve alterações significativas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, no tratamento subagudo, exceto a redução da creatinina, sugerindo que o óleo essencial da espécie apresenta toxicidade baixa.

Tais informações confirmam o grande potencial de uso do óleo essencial e dos estratos foliares da espécie, para uso industrial. Porém, de acordo com Fazolin (2006) algumas etapas importantes deverão ser cumpridas até que a produção e a utilização dos produtos derivados de *P. aduncum* se tornem econômica e seguramente viáveis em escala comercial. Entre elas, a domesticação da espécie e adaptação de tecnologias visando diminuir os custos de implantação da cultura para produção em larga escala e a seleção de cultivares com elevados teores de dilapiol são alguns dos desafios que podem ser apontados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta do material botânico

A coleta do material vegetal foi realizada em Janeiro de 2010, em uma população natural localizada em propriedade particular, no município de Torre de Pedra-SP. Foram confeccionadas exsicatas com amostras representativas do material vegetal fértil, as quais foram identificadas por Daniele Monteiro Ferraira, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. As exsicatas estão depositadas no Herbário RB (Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro) sob o número RB 518646 com cópia no Herbário BOTU (Herbário Irina Delanova Gemtchujnicov) sob o número BOTU 027574.

Os frutos maduros foram colhidos e acondicionados em sacos plásticos para serem levados ao Laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Produção Vegetal, setor Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), onde foram processados para se obter as sementes.

3.2. Local do experimento

O experimento foi implantado na área Experimental do Departamento de Produção Vegetal, setor Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), localizada na Fazenda Experimental Lageado - UNESP/ Botucatu-SP, que apresenta as seguintes coordenadas geográficas 22°51' de latitude sul, 48°26' de longitude Oeste, com altitude de 786 metros.

Conforme os critérios adotados por Koeppen, baseado nas observações mensais pluviométricas e termométricas, o clima da região é o Cwa, caracterizado pelo clima tropical de altitude, com chuvas no verão e seca no inverno, com a temperatura média do mês mais quente superior a 22°C (MIRANDA et al., 1996)

Os dados de temperatura máxima, mínima e média, precipitação, umidade relativa e radiação fotossinteticamente ativa dos meses em que o experimento foi conduzido, estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores médios da temperatura (Tmin, Tmax, Tmed), precipitação, umidade relativa (UR) e estimativa da radiação fotossinteticamente ativa (PAR), registradas na Fazenda Experimental Lageado durante o período dos experimentos. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Meses	Tmin (°C)	Tmax (°C)	Tmed (°C)	Precipitação (mm)	UR (%)	PAR (MJ/m²)
Junho	12,4	25,5	18,6	7,60	38,5	6,2
Julho	13,7	26,3	20,0	18,42	48,2	5,8
Agosto	12,3	27,6	20,0	0,00	40,1	8,0
Setembro	13,6	27,6	20,6	7,00	49,5	7,5
Outubro	13,4	27,7	20,6	8,00	52,1	9,4
Novembro	16,3	25,5	20,9	11,60	48,2	9,7

As amostras do solo utilizado no experimento foram enviadas ao Departamento de Recursos Naturais – setor Ciência do Solo para análise química, cujos resultados são expostos na Tabela 2. Em função destes resultados foi realizada a correção do solo utilizado para conduzir o experimento.

Tabela 2: Características químicas do solo utilizado na condução do experimento com *Piper aduncum* L. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----mmol/dm ³ -----			-----			-----			mg/dm ³	-----mg/dm ³ -----			
4,0	26	2	16	62	0,3	2	2	4	66	6	15	0,10	1,1	67	0,3	0,2

M.O: matéria orgânica; SB: soma de bases; H+Al: acidez potencial; CTC: capacidade de troca catiônica; V%: saturação de bases.

3.3. Tratamentos

Os tratamentos consistiram em três níveis de luminosidade, 50% de sombreamento, 70% de sombreamento e pleno sol (Figura 1). Os níveis de sombreamento foram alcançados com o uso de telados de sombrite®, conforme recomendação comercial.

A radiação fotossinteticamente ativa (PAR) sob cada nível de sombreamento foi determinada com analisador de gás infravermelho portátil (IRGA-LI 6400) (Figura 2) e para verificar a porcentagem de sombreamento da PAR, foi utilizada uma regra de três, cujos resultados são apresentados na Tabela 4, sendo que o CO₂ foi padronizado para 380 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.



Figura 1: Plantas de *Piper aduncum* submetidas a diferentes níveis de irradiância no viveiro. A: plantas a pleno sol, B: plantas submetidas a 50% de sombreamento e C: plantas submetidas a 70% de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.



Figura 2: Medição da PAR com analisador de gás infravermelho (IRGA-Li 6400) em plantas de *Piper aduncum*. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Tabela 3: Radiação fotossinteticamente ativa e sombreamento efetivo (%) das telas de sombreamento a 50% e 70% e a pleno sol. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Tratamentos	PAR medida ($\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	% de irradiância
Pleno sol	1661 $\pm$ 180	100
50%	1089 $\pm$ 118	65,56
70%	598 $\pm$ 52	36,00

3.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e sete repetições, sendo cada parcela constituída de cinco plantas.

3.5. Condução do experimento

3.5.1. Material Botânico

As sementes de *P. aduncum* utilizadas para a produção das mudas foram coletadas em janeiro de 2010 em uma população silvestre localizada em propriedade particular no município de Torre de Pedra-SP.

As espigas colhidas foram colocadas em sacos plásticos, levadas ao Laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Produção Vegetal, setor Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) onde foram mantidas úmidas em bandejas plásticas cobertas para promover a decomposição dos frutos e facilitar a separação das sementes. Os frutos foram lavados, as sementes separadas por decantação e postas a secar sobre papel filtro à sombra, por 72 horas.

3.5.2. Produção de mudas

A semeadura ocorreu no dia 18 de janeiro de 2010 em bandejas de polietileno de 72 células (Figura 3) contendo substrato comercial (Mec plant®- Florestal 3) constituído por 86% de casca de pinus; 14% de vermiculita expandida e adubação de base contendo: 2 kg m⁻³ de superfosfato simples e 2 kg m⁻³ de formulação NPK: 4:14:7.

As mudas foram cultivadas sob telado com 50% de sombreamento e irrigadas diariamente através de sistema automático de aspersão, a cada 1 hora, durante 1 minuto; foram repicadas 90 dias após a semeadura e mantidas nas bandejas por mais 83 dias, até o transplântio.



Figura 3: Mudas de *Piper aduncum* 90 dias após a semeadura. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

3.5.3. Plantio

O plantio foi realizado no dia 01 de junho de 2010 em vasos de plástico com capacidade para 12 L contendo solo, que recebeu 3 g L⁻¹ de calcário e 25 g L⁻¹ de composto orgânico. Para a adubação foi utilizado o fertilizante orgânico comercial (Provaso[®]), cujas características químicas são PH 6,0; 1% de nitrogênio; 15% de carbono orgânico e CTC 180. Os vasos foram mantidos sob os diferentes tratamentos por aproximadamente seis meses (177 dias).

3.5.4. Colheita, pesagem e armazenamento do material vegetal

A colheita foi realizada aos 177 dias, em novembro de 2010, no período da manhã, de maneira a se preservar as raízes das plantas. Os vasos foram lavados em água corrente, sobre uma peneira acoplada a um tripé de sustentação, retirando-se o excesso de terra das raízes, conforme a Figura 4.

Depois de lavadas, as plantas foram levadas em bandejas plásticas até o laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Produção Vegetal, setor Horticultura da FCA UNESP/ Botucatu-SP para proceder a análise das variáveis biométricas, que serão descritas adiante.

A secagem das diferentes partes das plantas (folhas, caules e raízes) foi feita em sacos de papel kraft, a 40°C, em estufa de circulação forçada de ar até a estabilização da massa, tendo sido consideradas secas após a massa se manter constante após três pesagens consecutivas. Depois de secas foram mantidas em sacos plásticos bem fechados, ao abrigo da luz e umidade até a extração do óleo essencial.



Figura 4: Limpeza das raízes das plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

3.6. Variáveis avaliadas

3.6.1. Trocas gasosas

As características fisiológicas de assimilação líquida de CO₂ (A) ($\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs) ($\text{mmol m}^2 \text{s}^{-1}$), concentração interna de CO₂ (Ci) ($\text{mmol m}^2 \text{s}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol m}^2 \text{s}^{-1}$) e atividade da enzima Rubisco (A/Ci), assim como as físicas, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) ($\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$), umidade relativa da folha

(UR) (%) e temperatura da folha (T) (°C) foram determinadas com analisador de gás infravermelho portátil (IRGA-LI 6400) (Figura 2).

Para determinar as características citadas acima foram escolhidas folhas totalmente expandidas, expostas a luz solar e sem sinais de senescência, localizadas no terço mediano das plantas.

As medidas foram realizadas em onze plantas por tratamento (uma folha/planta), em quatro dias diferentes, sem nuvens, entre as 9:00 e as 10:30 h, em intervalos de aproximadamente sete dias, um mês antes da colheita. Os valores das características fisiológicas e físicas são expressos pela média de todas as medidas.

3.6.2. Variáveis biométricas

3.6.2.1. Área foliar

A área foliar de cada repetição, composta por todas as folhas expandidas de cinco plantas, foi calculada em aparelho de medição de área foliar modelo LI 3100 da LI-COR, que expressa a área em cm^2 . A área foliar medida não inclui o pecíolo e foi expressa pela média das cinco plantas da cada parcela ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$).

3.6.2.2. Biomassa foliar

Para a determinação da biomassa foliar de cada parcela todas as folhas expandidas e sem pecíolo das cinco plantas foram separadas, secas e pesadas. A massa seca de folhas é expressa pela média das cinco plantas da cada parcela (g planta^{-1}).

3.6.2.3. Biomassa caulinar

Para a determinação da biomassa caulinar de cada parcela os caules das cinco plantas foram separados, secos e pesados. A massa seca dos caules é expressa pela média das cinco plantas da cada parcela (g planta^{-1}).

3.6.2.4. Biomassa radicular

Para a determinação da biomassa radicular de cada parcela, as raízes de cinco plantas foram separadas, secas e pesadas. A massa seca das raízes é expressa pela média das cinco plantas de cada parcela (g planta^{-1}).

3.6.2.5. Altura de plantas

A altura das plantas de cada parcela foi tomada com o auxílio de uma fita métrica, do colo até o ponto mais alto da planta. O valor da altura é expresso pela média das cinco plantas da cada parcela (cm planta^{-1}).

3.6.2.6. Número de folhas

O número de folhas de cada parcela foi obtido pela contagem das mesmas durante a separação do material, tendo sido calculado pela média do número de folhas das cinco plantas da cada parcela ($\text{folhas planta}^{-1}$).

3.6.3. Teor e composição química do óleo essencial

3.6.3.1. Extração, teor e produtividade do óleo essencial

A extração do óleo essencial das folhas e raízes de *P. aduncum* foi realizada no Laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Produção Vegetal, setor Horticultura, da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA)-Botucatu/SP (Figura 5).

O óleo essencial de cada parcela (composta por cinco plantas) foi extraído pelo método de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, utilizando-se as folhas e raízes secas, previamente pesadas, as quais foram rasuradas manualmente e colocadas

separadamente em balões de 2000 mL que foram posteriormente preenchidos com água deionizada até a metade do seu volume e mantidos sobre manta aquecedora por três horas.

Após o término da hidrodestilação, as amostras de óleo essencial foram recolhidas em frascos de vidro âmbar, previamente pesados.



Figura 5: Extração de óleo essencial de folhas e raízes de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/ Botucatu-SP, 2010.

O teor de óleo essencial foi obtido, em cada repetição, com base na massa de matéria seca de folhas ou de raízes utilizada, através do cálculo:

$$\text{Teor} = \frac{(\text{massa do frasco com óleo} - \text{massa do frasco vazio}) \times 100 \%}{\text{massa seca de material vegetal}}$$

Posteriormente os frascos contendo o óleo essencial foram armazenados em freezer para a análise da composição química.

A produtividade do óleo essencial foi obtida relacionando-se o teor de óleo essencial de cada parcela com a média de biomassa produzida em cada parcela, obtendo-se a produtividade de óleo essencial, expresso em g planta⁻¹.

3.6.3.2. Análise da composição química do óleo

A análise da composição química do óleo essencial de cada parcela foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Campinas/SP, sob supervisão da Prof^a Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques.

Esta análise foi conduzida em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu, QP-5000), operando a 70 eV, dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste (1,7 mL/min), injetor a 240°C, detector a 230°C e o seguinte programa de temperatura: 60°C - 170°C, 3°C/min; 60°C - 135°C, 5°C/min; 135°C - 240°C, 8°C/min; 170°C - 240°C, 8°C/min e split 1/20.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada por meio da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62. lib), literatura (MCLAFFERTY; STAUFFER, 1989) e índice de retenção (ADAMS, 1995). Os índices de retenção de Kovat's (IR) das substâncias foram obtidos com uma mistura padrão de n-alcanos (C₉H₂₀ - C₂₅H₅₂ Sigma Aldrich, 99%), aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

3.7. Análise estatística

Os dados referentes a trocas gasosas (A e E), variáveis biométricas, teor e produtividade de óleo essencial foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância $p < 0,05$.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) foi aplicada às substâncias presentes no óleo essencial de *P. aduncum* que apresentaram porcentagem relativa maior do que 0,5%. Para essa análise foi utilizado o *software* XLSTAT - versão 2010 (Addinsoft, França).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Trocas gasosas

Os resultados médios da assimilação líquida de CO₂ (A) e da transpiração (E) para cada tratamento, medidos no mês que antecedeu a colheita, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Valores médios e desvio padrão das trocas gasosas em plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. (A): assimilação líquida de CO₂ (μmol m² s⁻¹) e (E): transpiração (mmol m² s⁻¹). UNESP/Botucatu-SP, 2010².

Níveis de Sombreamento	(A)	(E)
0%	13,11 ± 3,55 a	4,44 ± 1,60 b
50%	13,49 ± 3,09 a	5,46 ± 1,73 a
70%	12,87 ± 1,49 a	5,87 ± 1,83 a
CV%	21,67	32,86

Médias de mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

A assimilação de CO₂ ou fotossíntese líquida não foi influenciada significativamente pelos níveis de sombreamento estudados, porém pode ser observado maior valor no tratamento a 50% de sombreamento, comparando-se com a assimilação líquida de CO₂ das plantas a pleno sol e a 70%, que apresentaram menores valores, respectivamente.

A fotossíntese líquida é definida como a diferença entre a fixação de CO₂ fotossintética e as perdas respiratórias de CO₂, sendo que o balanço positivo de carbono é alcançado quando o ganho de carbono fotossintético excede a perda de carbono pela respiração mitocondrial e a fotorrespiração (FREEDEN, FIELD, 1991). Plantas do subosque de florestas tropicais são fortemente limitadas pela luz, já que a reduzida irradiância gera uma resposta geralmente comum, a respiração reduzida (BJÖRKMAN, 1972 apud FREEDEN, FIELD, 1991)

De acordo com Marenco e Lopes (2009) a fotorrespiração depende da luz, pois a formação de ATP e NADPH utilizados no Ciclo de Calvin para formar RubP são produzidos mais rapidamente na luz do que no escuro; o O₂ cloroplastídico é mais abundante na luz do que no escuro e a enzima Rubisco é ativada pela luz, permanecendo inativa no escuro, não havendo assim a fixação de CO₂ ou O₂ por esta enzima nestas condições. No caso de *P. aduncum*, mesmo com a possível redução da respiração sob 70% de sombreamento, a assimilação de CO₂ foi ligeiramente menor, podendo estar relacionada com a menor quantidade de energia luminosa (fótons) disponível para gerar ATP e NADPH, durante a etapa fotoquímica da fotossíntese. Segundo Larcher (2006) as trocas gasosas dependem das condições internas e externas da planta, que dependem do clima. Sempre que um fator se apresenta em nível mínimo pode se tornar limitante para a absorção do CO₂ por certo tempo.

As plantas a pleno sol apresentaram valor intermediário na assimilação de CO₂, sendo possível afirmar que houve maior fotorrespiração, devida à maior temperatura foliar (Tabela 3) e consequente maior difusão de O₂ nos tecidos da folha, pois, de acordo com Marenco e Lopes (2009) o calor eleva a relação O₂/CO₂ dissolvido no cloroplasto e o oxigênio inibe a fixação de CO₂ pela Rubisco, pelo fato de esta enzima também catalisar a oxigenação da RubP.

Boardman (1997) afirma que as respostas das plantas às variações na irradiância ocorrem rapidamente até atingirem o estado de saturação por luz, em que aumento

na luminosidade não causa aumento na taxa de fotossíntese. Pode ser observado neste experimento que as plantas a pleno sol não apresentaram maior assimilação de CO₂ do que as plantas a 50% de sombreamento, indicando que este tratamento forneceu melhores condições para a máxima assimilação de CO₂. Além disso, também foi observada menor condutância estomática nestas plantas (Tabela 5), fato que será discutido posteriormente.

Assim, pode-se inferir que as plantas desenvolveram mecanismos para se aclimatar ao ambiente de luz, promovendo alterações no metabolismo para manter a taxa fotossintética. As alterações geradas estão relacionadas com as exigências ecológicas de cada espécie e a capacidade de aclimação ao ambiente. Foi observado por Alvarenga et al. (2003) em sangra-d'água (*Croton urucurana* Baill.), espécie pioneira pertencente à família Euphorbiaceae que ocorre em matas ciliares, resultados com tendência semelhante a observada em *P. aduncum*, a taxa fotossintética foi aproximadamente constante, apresentando pequena queda com o aumento do sombreamento. Assim como Lima-Jr et al. (2006), que trabalhando com *Cupania vernalis* Camb. (Sapindaceae), uma espécie medicinal que habita o interior de matas primárias e todos os estádios de formações secundárias, observaram uma pequena queda na assimilação de CO₂ com aumento no nível de sombreamento.

Em relação à transpiração (Tabela 4) os resultados apresentaram maiores valores a 70% e 50% de sombreamento, não diferindo entre si, sendo que o menor valor foi observado nas plantas a pleno sol. Estes resultados seguiram o mesmo perfil da condutância estomática (gs) e da concentração interna de CO₂ (Ci) (Tabela 5) que certamente estão relacionados com o mecanismo de fechamento estomático acionado de maneira mais acentuada nas plantas a pleno sol.

Tabela 5: Valores médios e desvio padrão da condutância estomática, concentração interna de CO₂ e atividade da enzima Rubisco em plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. (gs): condutância estomática (mmol m² s⁻¹), (Ci): concentração interna de CO₂ (mmol m² s⁻¹), e (A/Ci): atividade da enzima Rubisco. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de Sombreamento	(gs)	(Ci)	A/Ci
0%	0,21 ± 0,10	246,66 ± 29,92	0,046 ± 0,008
50%	0,27 ± 0,09	270,77 ± 18,46	0,045 ± 0,008
70%	0,30 ± 0,06	278,24 ± 15,16	0,045 ± 0,005
CV%	35,32	8,33	17,46

De modo geral, os dados de condutância estomática, concentração interna de CO₂ e atividade da Rubisco (Tabela 5) apresentaram valores muito próximos, porém, maior valor pode ser observado nas plantas do tratamento a 70% de sombreamento, para a condutância estomática e a concentração interna de CO₂.

A atividade da enzima Rubisco foi semelhante em todos os tratamentos, indicando que a eficiência da enzima não foi alterada pelas condições de luz, apesar de um ligeiro aumento encontrado nas plantas a pleno sol, podendo estar relacionado a maior ativação da Rubisco pela luz.

Maior condutância estomática e concentração interna de CO₂ podem estar relacionados com a frequência estomática e de acordo com Boardman (1977) a máxima condutância estomática correlaciona-se com o aumento da frequência estomática por unidade de área foliar. Porém, Santiago et al. (2001) observaram em *P. hispidinervum* submetida ao sombreamento em subosque, maior número de células, diminuição do diâmetro polar e equatorial dos estômatos e menor número de estômatos por folha.

O maior nível de sombreamento proporcionou condições para que as folhas apresentassem menor temperatura e umidade relativa (Tabela 6), podendo ter promovido a abertura estomática por maior tempo, ou maior abertura estomática, refletindo em incremento na condutância estomática, concentração interna de CO₂ (Tabela 5) e na transpiração (Tabela 4).

Alguns autores relatam correlação entre a condutância estomática e a fotossíntese (assimilação líquida de CO₂), como Marchese et al. (2008) e Lima Jr. et al. (2006) que observaram aumento na condutância estomática e incremento concomitante na fotossíntese líquida, diferente do observado neste trabalho.

Em relação à menor condutância estomática observada no tratamento a pleno sol, é possível sugerir que esta esteja relacionada com o mecanismo de fechamento estomático, acionado pela baixa turgescência das células guardas, para prevenir a perda excessiva de água, uma vez que as plantas a pleno sol apresentaram maior temperatura foliar (Tabela 6).

De acordo com Marengo (2009) em plantas sob radiação solar intensa a quantidade de água transpirada pelas folhas excede a capacidade de absorção pelas raízes e de transporte pelo xilema, provocando um estresse hídrico temporário, mesmo quando há água disponível no solo. O estresse hídrico diminui a fotossíntese porque causa o fechamento dos estômatos, restringindo a entrada de CO₂ nas folhas. O autor diz ainda que nestas condições, o aumento da temperatura da folha aumenta o risco da fotoinibição, ou seja, uma redução na fotossíntese, lentamente reversível, causada pelo excesso de luz e comumente associada a fotodanificação do aparelho fotossintético.

A fotodestruição foi observada por Marchese et al. (2008) em plantas de *Pothomorphe umbellata* cultivadas a pleno sol, pois as folhas apresentaram-se encarquilhadas e com sintomas de clorose e necrose, provavelmente, devido a destruição dos pigmentos fotossintéticos e das estruturas dos tilacóides nos cloroplastos, que ficou evidenciada nos resultados obtidos para teor de clorofila do tratamento pleno sol, que apresentou o menor conteúdo da molécula nas folhas entre todos os tratamentos.

Em *P. aduncum*, foi possível observar diferenças na coloração das folhas a pleno sol, que apresentaram tons mais claros do que as folhas das plantas submetidas aos outros tratamentos, além de estarem mais ásperas e com menor ângulo de inserção no caule. É importante ressaltar que as medidas realizadas com IRGA são medidas pontuais, que refletem o *status* momentâneo da planta, e em alguns casos pode não ser representativo da condição geral do experimento.

Tabela 6: Valores médios e desvio padrão da temperatura da folha (T) e umidade relativa (UR) da folha em plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de sombreamento	T	UR
0%	28,74±1,69	52,89±11,31
50%	28,50±1,34	50,37±9,52
70%	27,60±1,33	49,58±11,58

As plantas submetidas a 70% de sombreamento apresentaram menor temperatura e umidade relativa foliar, enquanto que as plantas do tratamento 50% apresentaram valores intermediários e as sob sol pleno apresentaram a maior temperatura e umidade relativa foliar. A maior umidade relativa e temperatura foliar correlaciona-se com a menor condutância estomática observada nas plantas a pleno sol, indicando que neste ambiente as plantas apresentaram diminuição na abertura estomática. Observou-se também que estas plantas apresentaram um discreto aumento na atividade da enzima Rubisco, como mostrado anteriormente.

Marchese et al. (2008) trabalhando com *Pothomorphe umbellata*, (Piperaceae) uma espécie que cresce em bordas de mata, capoeiras e capoeirões da Mata Atlântica, observaram maior taxa de assimilação de CO₂, condutância estomática, transpiração e teor de clorofila em plantas sob sombreamento de 30% (835,7 mmol m⁻² s⁻¹), indicando que a espécie é esciófita. Assim, pode-se supor que neste experimento, as condições de pleno sol não foram favoráveis ao desempenho fisiológico de *P. aduncum*.

Ainda é importante observar que o ambiente que promoveu as melhores condições para a manutenção dos processos fisiológicos, no qual a planta apresentou os maiores valores de assimilação líquida de CO₂, não é o mesmo ambiente que proporcionou a maior produção de biomassa, como será discutido adiante.

4.2. Variáveis biométricas

Os resultados obtidos revelam através do teste Tukey a 5% de probabilidade que entre os parâmetros biométricos avaliados, a altura das plantas, área foliar, massa seca de caule e de raiz apresentaram diferenças significativas, sob diferentes níveis de sombreamento. Porém, outros parâmetros como número de folhas, massa seca total e massa seca de folhas não foram influenciados pelos níveis de sombreamento testados (Tabela 7 e 8).

Os resultados de altura da planta, número de folhas, área foliar, massa fresca total e massa seca total são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Dados biométricos de plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento, (Alt): altura da planta, (AF): área foliar, (MST): massa seca total, (NF): número de folhas. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de sombreamento	Alt (cm)	AF (cm ²)	MST (g)	NF
0%	6,47 c	816,30 b	16,49 a	24,17 a
50%	7,63 b	870,57 b	14,58 a	23,00 a
70%	9,78 a	1206,83 a	16,99 a	21,86 a
CV%	6,89	11,38	11,60	8,78

Médias de mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O sombreamento a 70% propiciou médias superiores de altura, área foliar e massa fresca total. A altura das plantas submetidas ao sombreamento de 70% foi significativamente maior à observada nas plantas sob sombreamento de 50% e a pleno sol.

Maiores alturas também foram observadas por Mattana (2005) em *Pothomorphe umbellata* e por Dousseau (2009) em *P. aduncum* sob 70% de sombreamento. A maior altura das plantas sob baixa luminosidade também é observada em algumas espécies lenhosas heliófitas que, quando jovens, apresentam seu crescimento prejudicado a pleno sol. Atroch et al. (2001) observaram maior altura em plantas de *Bauhinia forficata* Link cultivadas sob condições de 30% e 50% de interceptação da radiação solar, ao passo que, a pleno sol, as

plantas foram significativamente mais baixas. Em plantas de *Croton urucurana* Baill. cultivadas em condições de sombreamento foram encontrados maiores valores de altura, quando comparadas com pleno sol (ALVARENGA et al., 2003).

Já a menor altura das plantas sob alta luminosidade poderá estar associada com a maior proporção de tecidos radiculares produzidos e reduzida alocação para os tecidos do caule, já que a assimilação líquida de CO₂ foi menor neste tratamento.

Em relação à área foliar foi observado um aumento significativo no tratamento a 70% de sombreamento, já as plantas a 50% e pleno sol não apresentaram diferença significativa. O aumento da área foliar com o aumento do sombreamento também foi observado por Alvarenga et al. (2003) em mudas de *Croton urucurana* Baill e por Dousseau (2009) em *P. aduncum*, que constatarem um aumento na área foliar das plantas submetidas a níveis mais elevados de sombreamento em relação às plantas a pleno sol. Este ajustamento fenotípico em condições limitantes de luz condiz com a expectativa ecofisiológica das plantas de tornar maior a captura de luz e manter a eficiência fotossintética, na busca por energia.

O número de folhas e a massa seca total não foram influenciados pelos tratamentos. A produção de biomassa total reflete a capacidade de aclimação das plantas, indicando que a espécie apresentou bom desempenho ecofisiológico nos diferentes níveis de sombreamento, mantendo as taxas de assimilação de CO₂ muito próximas, como discutido anteriormente e apresentado na Tabela 4.

Porém, ao analisar os componentes da massa seca total, observa-se que houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à massa seca de caule e a massa seca de raiz, de acordo com Tabela 8.

Tabela 8: Biomassa seca de caule, folha e raiz das plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. (MSC): massa seca de caule, (MSF): massa seca de folha, (MSR): massa seca de raiz, UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de sombreamento	MSC (g)	MSF (g)	MSR (g)
0%	3,09 b	6,56 a	6,84 a
50%	2,71 b	6,16 a	5,71 b
70%	4,32 a	6,85 a	5,82 b
CV%	22,34	11,47	10,39

Médias de mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey,

A massa seca de caule foi superior no tratamento 70% de sombreamento, sendo que entre as plantas submetidas ao tratamento pleno sol e 50% não houve diferença estatística. Este resultado está relacionado com a altura das plantas, que também foi maior neste tratamento, havendo um incremento em biomassa caulinar.

A análise de variância não revelou diferenças significativas entre os tratamentos para a massa seca de folhas, porém, produção numericamente maior foi observada nas plantas sob sombreamento de 70%.

Resultados semelhantes foram obtidos em *P. aduncum* por Douseau (2009), que observou maior biomassa de folhas em 70% e 50% de sombreamento, com menor biomassa a pleno sol; também em plantas de *Croton urucurana* Baill. submetidas a 70% de sombreamento, que apresentaram maior biomassa seca de folhas e caule do que as cultivadas sob pleno sol (ALVARENGA et al., 2003). Em *Bauhinia forficata* Link. a massa seca das folhas não apresentou diferença entre os tratamentos, entretanto, para massa seca do caule, houve diferenças, sendo o nível de 30% o que proporcionou maior acúmulo de massa seca, não diferindo de 50% (ATROCH, 2001).

Estes resultados indicam que para *P. aduncum* a produtividade de folhas se relaciona com o sombreamento, condição que poderá levar a um incremento em produtividade levando-se em consideração uma maior área de cultivo, como em plantios comerciais. É importante ressaltar que foi verificado maior valor para o teor de óleo essencial

das folhas em plantas a 70% de sombreamento, embora não significativo, corroborando com a maior biomassa foliar, como será visto adiante, na Tabela 9.

Já a massa seca de raiz apresentou aumento significativo a pleno sol, seguido do tratamento 70% e 50% que apresentaram resultados intermediários, indicando que houve maior acúmulo de fotoassimilados nas raízes das plantas submetidas ao tratamento pleno sol. Sendo que a maior biomassa radicular das plantas a pleno sol também relaciona-se com o maior teor de óleo essencial das raízes (Tabela 9).

Resultados semelhantes foram citados para *Croton urucurana* (ALVARENGA et al., 2003), *Lippia sidoides* Cham. (SOUZA et al., 2007), *Pothomorphe umbellata* (MATTANA, 2005) e *Lippia citriodora* Lam. (GOMES et al., 2009) indicando que plantas menos sombreadas tendem a concentrar a massa seca nas raízes em relação a plantas mais sombreadas. Resultados diferentes foram observados em *P. aduncum* por Dousseau (2009), que constatou que as plantas apresentaram maior biomassa radicular a 50% de sombreamento e menor biomassa a pleno sol, não diferindo de 70%.

Segundo Marchese et al. (2008) não há consenso na literatura se *Pothomorphe umbellata* é uma espécie heliófita ou esciófita, porém o tratamento com 30% de sombreamento foi superior aos tratamentos a pleno sol, com 50% e 70% de sombra, apresentando as maiores taxas de assimilação de CO₂, condutância estomática e transpiração, permitindo aos autores afirmar que a espécie é uma planta de sombra obrigatória ou esciófita, corroborando com os resultados de Mattana et al. (2005), que encontraram redução significativa na área foliar e na altura das plantas da mesma espécie cultivadas em pleno sol, quando comparadas àquelas cultivadas na sombra.

Para *P. aduncum* os resultados obtidos possibilitam dizer que as plantas apresentaram melhor desempenho ecofisiológico sob sombreamento, levando-se em consideração as maiores taxas de concentração interna de CO₂, condutância estomática e transpiração a 70%, porém a assimilação de CO₂ não apresentou diferença estatística, mas foi maior a 50%. Em relação aos parâmetros biométricos observou-se maior massa seca de caule, altura e área foliar a 70%, sendo que a massa seca total e a massa seca de folhas não foram influenciadas pelos tratamentos. A pleno sol as plantas apresentaram menor altura, massa seca de folhas e área foliar, bem como maior massa seca de raiz, sendo possível afirmar que o

ambiente a pleno sol não proporcionou condições adequadas para o bom desempenho ecofisiológico e crescimento da espécie.

Segundo Larcher (2006) muitos fatores interferem na produtividade de uma planta, assim esta não depende somente do ganho de CO₂ e do incremento de biomassa, mas também do controle hormonal relacionado a partição dos assimilados e ao padrão específico de crescimento da planta. O autor afirma ainda que para o desenvolvimento harmônico da planta como um todo é essencial que cada órgão e tecido receba a quantidade necessária de assimilados e que esse abastecimento seja efetuado no tempo correto.

4.3. Teor e produtividade de óleo essencial das folhas e raízes

Os resultados obtidos em relação ao teor e produtividade de óleo essencial das folhas e das raízes estão expostos na Tabela 9.

Tabela 9: Teor de óleo essencial (%) e produtividade (g planta⁻¹) de folhas e raízes de plantas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de sombreamento	Teor Folha (%)	Prod. Folha (g planta ⁻¹)	Teor Raíz (%)	Prod. Raíz (g planta ⁻¹)
0%	0,13 a	0,86 a	1,72 a	11,76 a
50%	0,15 a	0,96 a	1,45 a	8,21 b
70%	0,16 a	1,15 a	1,34 a	7,54 b
CV%	49,41	54,07	25,43	21,77

Médias de mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey,

O teor de óleo essencial das folhas e das raízes não foi influenciado pelos níveis de sombreamento estudados. Porém, ao analisar os resultados nota-se que o teor de óleo essencial das folhas apresentou resultados crescentes conforme o aumento do sombreamento, sendo ligeiramente maior a 70% de sombreamento.

Este resultado pode estar relacionado com um possível aumento no número de células do mesofilo foliar, incluindo as células oleíferas (idioblastos) e os tricomas, juntamente com o aumento da área foliar. Dousseau (2009) relata a presença das células oleíferas, denominadas idioblastos, também na camada epidérmica da folha, reforçando a hipótese de que o aumento da área foliar pode ter promovido maior produção e acúmulo de óleo essencial nas folhas das plantas submetidas a 70% de sombreamento.

Os resultados obtidos na mesma espécie por Dousseau (2009) apresentaram a mesma tendência, sendo que o maior teor de óleo essencial das folhas (0,7%) foi significativo a 70% de sombreamento, comparando-se com as plantas a pleno sol. Já Mattana (2005) observou em *Pothomorphe umbellata* maior teor nas plantas a 30% de sombreamento, embora não tenha apresentado diferença estatística em relação aos maiores níveis de sombreamento, corroborando com a maior assimilação de CO₂.

Zavala e Ravetta (2001) afirmam que houve correlação positiva entre o crescimento e o metabolismo secundário à base de carbono em *Grindelia chiloensis* (Asteraceae), estimulados pelo aumento da taxa de assimilação de CO₂ encontrada nas plantas sob sol pleno. Nas plantas de *P. aduncum* constatou-se que a assimilação de CO₂ não diferiu estatisticamente, assim como a biomassa foliar e o teor de óleo essencial das folhas, mas o teor e a biomassa foliar apresentaram um pequeno aumento a 70% de sombreamento, diferentemente da assimilação líquida de CO₂, que foi sutilmente maior a 50% de sombreamento, como já discutido anteriormente.

Assim foi possível verificar que a produtividade de óleo essencial das folhas não foi influenciada pelos tratamentos, mas apresentou incremento nas plantas a 70% de sombreamento, pois foi o tratamento com maior produção de biomassa foliar e teor de óleo essencial, embora não tenham apresentado diferenças significativas. A mesma tendência foi observada por Dousseau (2009), maior produtividade de óleo essencial das folhas de *P. aduncum* no tratamento 70% de sombreamento, o qual proporcionou aumento no teor de óleo essencial e acúmulo de biomassa foliar. Já em plantas de Alfazema-do-Brasil (*Aloysia gratissima* [Gilles & Hook.] Tronc.) (Verbenaceae) crescidas a pleno sol e com 40% e 80% de redução da radiação solar incidente não houve efeito significativo do sombreamento sobre o teor do óleo essencial, embora a produtividade de óleo essencial tenha sido significativamente

superior nas plantas crescidas em plena luz e a 40% de sombreamento, em relação àquelas crescidas a 80% de sombreamento (PINTO et al., 2007).

Ao verificar os valores do teor de óleo essencial das folhas, constata-se que estes foram muito baixos, comparando-se a outros trabalhos com a mesma espécie. Plantas de *P. aduncum* coletadas por Mesquita et al. (2005) no estado de Minas Gerais apresentaram teor de óleo essencial de 0,7%. No estado de Pernambuco, foram encontradas plantas com rendimento entre 1,2 e 2,5% (Oliveira et al., 2006). Esta discrepância entre os resultados pode estar relacionada a muitos fatores, entre eles o genótipo de cada espécie, a idade das plantas na colheita e os fatores ambientais, como já citado por Gobbo-Neto e Lopes (2007).

Ming et al. (2002) estudando a produção sazonal de óleo essencial numa população natural de *P. aduncum* localizada em Adrianópolis – PR, observaram maiores teores de óleo essencial nos meses mais quentes e chuvosos do período estudado, com valores de 1,15 a 1,24%, sendo importante salientar que também nestes meses as plantas estavam na fase reprodutiva, com inflorescências. Assim, é possível supor que o baixo teor observado no óleo essencial das folhas neste trabalho esteja relacionado, entre outros fatores, com a época do ano em que as plantas estiveram sob cultivo e foram colhidas, podendo também ser relacionada a características genéticas e a idade da planta, já que foram colhidas seis meses após o plantio.

Já em relação ao teor do óleo essencial da raiz, este apresentou padrão inverso ao observado para as folhas, resultados decrescentes com o aumento do sombreamento, alcançando maior valor nas plantas a pleno sol. Este resultado está de acordo com a produção de biomassa, que também foi maior a pleno sol. Portanto, o aumento na biomassa e no teor de óleo essencial verificado nas raízes apresenta relação direta com o aumento da luminosidade.

Relacionando-se o teor de óleo essencial de cada parcela com a média de biomassa produzida em cada parcela, obtém-se a produtividade de óleo essencial, expresso em g planta⁻¹. Com o aumento do teor de óleo das raízes e da biomassa radicular, constatou-se um aumento significativo na produtividade de óleo essencial nas plantas a pleno sol, não observada nos outros tratamentos.

O aumento na biomassa de raízes pode ter sido promovido pelo maior número ou tamanho de células e, conseqüentemente, maior teor de óleo essencial, pois de

acordo com Vianna e Akisue, (1997) é possível observar células oleíferas no floema dos feixes fibro-vasculares colaterais presentes na região cortical das raízes jovens de *P. aduncum*, onde essas células oleíferas exibem contorno arredondado e conteúdo pardo amarelado.

Para muitas outras espécies, a exposição a pleno sol promove o aumento de biomassa radicular, como em *Croton urucurana* (ALVARENGA et al., 2003), *Lippia sidoides* Cham. (SOUZA et al., 2007), *Pothomorphe umbellata* (MATTANA, 2006) e *Lippia citriodora* Lam. (GOMES et al., 2009), porém em nenhum destes estudos as análises de teor e de composição química do óleo essencial das raízes foram realizadas.

Observou-se maior produtividade de óleo essencial de folhas a 70% de sombreamento, porém, nas raízes observou-se maior produtividade de óleo essencial a pleno sol, resultados que podem estar relacionados com a disponibilidade de carbono em cada órgão, pois de acordo com Sangwan et al. (2001) o particionamento final do carbono fixado fotossinteticamente é um componente importante do mecanismo fisiológico de produção de óleo essencial. Portanto, as características fotossintéticas e o desempenho dos tecidos fotossintetizantes, entre outros fatores, são responsáveis pela disponibilidade de carbono compartilháveis ou de reserva para o anabolismo dos componentes do óleo.

Ainda de acordo com os autores supracitados a produção de óleos essenciais e aromáticos está sujeita a diversas regulações fisiológicas, bioquímicas, metabólicas e genéticas. A regulação fisiológica é altamente suscetível a modulação através das alterações ambientais e os processos bioquímicos e metabólicos regulam o fluxo de carbono através das rotas biossintéticas, bem como a taxa de produtividade de metabólitos relevantes como os terpenóides e/ou fenilpropanóides. Por fim, a relação genótipo-natureza e a magnitude das respostas desta interação compõem os controles genéticos, aos quais todas as espécies estão submetidas.

4.4. Composição química do óleo essencial de folhas e raízes

A separação, identificação e quantificação por cromatografia gasosa e espectrometria de massas do óleo essencial das folhas de *P. aduncum* permitiu constatar a presença de 40 constituintes de diferentes classes químicas, sendo que 72,97% das substâncias identificadas são sesquiterpenos, 18,91% monoterpenos e 8,10% fenilpropanóides. No óleo essencial das raízes identificou-se 29 substâncias, sendo 46,42% da classe dos monoterpenos, 39,28% sesquiterpenos e 17,85% fenilpropanóides.

Embora o óleo essencial das folhas tenha apresentado predominância de sesquiterpenos e o da raiz de monoterpenos, o componente majoritário do óleo da folha e da raiz é um fenilpropanóide chamado asaricina, com porcentagem relativa média de 49,05% na folha (Tabela 10) e 63,92% na raiz (Tabela 11).

A asaricina (1-alil-2-metoxi-4,5-metilenedioxibenzeno), também conhecida como sarisan é um componente incomum no óleo essencial das folhas de *P. aduncum*, tendo sido relatada por Martínez et al. (2003) com teor de 6,74%, em indivíduos localizados no estado do Paraná, e por Villa et al. (2004) com teor de 12,9 % em indivíduos coletados na Bolívia. Neste trabalho identificou-se a presença da asaricina com maior teor do que encontrado pelos autores acima citados (49,05), fato que pode estar relacionado com a idade das plantas e/ou com suas características genéticas.

A asaricina também já foi encontrada em outras espécies do gênero *Piper*, como *P. hostmanianum*, com 27,37%, seguido da miristicina (20,26%) e dilapiol (7,66%), e em *P. permucranatum*, encontrou-se dilapiol (54,70%), miristicina (25,61%), elemicina (9,92%) e asaricina (8,55%) (MORAIS et al., 2007). Em *P. affinis hispidinervum* C.DC coletado na região Amazônica, o maior componente do óleo essencial das folhas foi identificado como asaricina, com 74,3% seguido pelo safrol (18,4%) (BIZZO et al., 2001).

Este composto apresenta atividade biológica, como testado por Masuda et al., (1991), que relatam a atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* e segundo Moreira et al., (2001), o óleo essencial das folhas de *Piper solmsianum* e seu composto principal, sarisan (39,23%), um análogo da miristicina, mostraram influências sobre o comportamento de camundongos, apresentando efeito excitante e depressor nos animais testados.

Não foi encontrado na literatura registros da composição química das raízes de *P. aduncum*, sendo que as informações apresentadas neste trabalho são inéditas, porém a asaricina e outros componentes já foram identificados no óleo essencial das raízes frescas de outras espécie do gênero *Piper*, como a espécie *Piper sarmentosum*, na Korea (TUNTIWACHWUTTIKUL, 2006) e *P. auritum* na Jamaica, na qual Nair, Sommerville e Burke, (1989) encontraram quatro fenilpropanóides nas raízes, miristicina, asaricina, dilapiol e safrol.

Analisando-se as porcentagens relativas médias de cada substância no óleo essencial das folhas a asaricina (49,05%) vem seguida de um sesquiterpeno, o espatulenol (9,62%), outro fenilpropanóide muito conhecido, o safrol (6,89%) e novamente um sesquiterpeno, α -humuleno (5,43%), conforme a Tabela 10, mostrando maior porcentagem relativa de fenilpropanóides nas folhas. No óleo essencial das raízes a porcentagem relativa de asaricina (63,92%) e safrol (15,64%), é maior do que no óleo das folhas, seguidos do sesquiterpeno guaiol (6,09%), conforme a Tabela 11.

A fim de se avaliar pela Análise de Componentes Principais (ACP), a relação dos componentes do óleo essencial de folhas e raízes com os níveis de sombreamento estudados, foram selecionados os constituintes que apresentaram porcentagem relativa média igual ou superior a 0,5%, como pode ser observado nas Tabelas 10 e 11. De acordo com Moita Neto e Moita (1998) a extração de informações dos resultados de um experimento químico envolve a análise de grande número de variáveis e, muitas vezes, um pequeno número destas variáveis contém as informações químicas mais relevantes, enquanto que a maioria das variáveis adiciona pouco ou nada à interpretação dos resultados em termos químicos, sendo que a análise de componentes principais é uma técnica de estatística multivariada que tem grande aceitação na análise de dados químicos.

Tabela 10: Média da porcentagem relativa dos principais componentes ($\geq 0,5\%$) do óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* nos diferentes níveis de sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento). UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Classe de metabólitos	Componentes	0%	50%	70%	Média (%)
Monoterpeno	trans- β -ocimeno	0,89	0,52	0,32	0,58
Monoterpeno	linalol	1,62	3,08	3,81	2,84
Fenilpropanóide	Safrol	5,50	7,25	7,92	6,89
Sesquiterpeno	δ -elemeno	0,70	0,67	0,62	0,66
Sesquiterpeno	α -cubebeno	0,46	0,62	7,13	2,74
Sesquiterpeno	β -cubebeno	0,68	1,02	0,74	0,81
Sesquiterpeno	trans-cariofileno	3,11	2,86	3,35	3,10
Sesquiterpeno	aromadendreno	0,88	0,70	0,77	0,78
Sesquiterpeno	α-humuleno	5,68	5,12	5,49	5,43
Sesquiterpeno	β -selineno	0,65	0,56	0,54	0,58
Fenilpropanóide	asaricina	47,19	47,66	52,30	49,05
Sesquiterpeno	γ -cadineno	1,28	1,86	1,47	1,54
Sesquiterpeno	δ -cadineno	2,75	2,46	2,31	2,51
Sesquiterpeno	trans-nerolidol	0,81	0,70	0,66	0,72
Sesquiterpeno	espatulenol	10,33	10,59	7,94	9,62
Sesquiterpeno	óxido de cariofileno	2,13	1,64	1,25	1,67
Sesquiterpeno	epóxido II humuleno	1,79	1,32	0,70	1,27
Sesquiterpeno	1-epi-cubenol	1,10	0,86	0,78	0,91
Sesquiterpeno	alo-epóxi aromadendreno	1,06	0,79	0,37	0,74
Sesquiterpeno	epi- α -cadinol	1,70	1,31	1,05	1,36
Sesquiterpeno	α -muurolo	0,92	0,89	0,73	0,84
Sesquiterpeno	α -cadinol	0,82	0,64	0,49	0,65

Tabela 11: Média da porcentagem relativa dos principais componentes ($\geq 0,5\%$) do óleo essencial das raízes de *Piper aduncum* nos diferentes níveis de sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento). UNESP/Botucatu-SP, 2010.

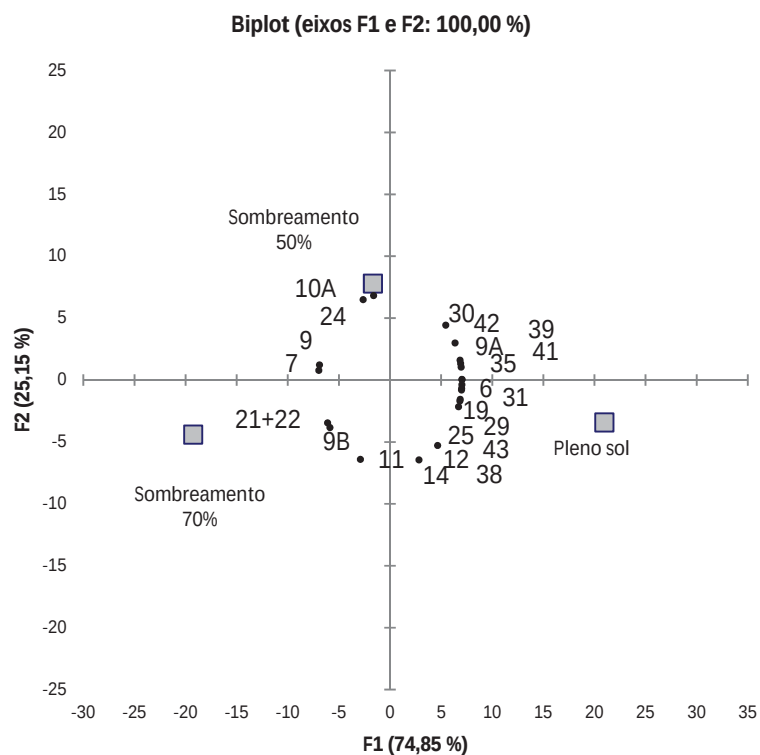
Classe de metabólitos	Componente	0%	50%	70%	Média (%)
Monoterpeno	δ -3-careno	1,63	1,50	1,65	1,59
Monoterpeno	cânfora	0,71	0,80	0,88	0,80
Fenilpropanóide	safrol	17,23	15,90	13,79	15,64
Fenilpropanóide	asaricina	62,82	65,16	63,78	63,92
Fenilpropanóide	miristicina	1,44	1,16	1,77	1,46
Fenilpropanóide	elemicina	0,66	0,76	0,75	0,72
Sesquiterpeno	guaiol	5,48	5,61	7,19	6,09
-----	*nd	0,58	0,54	0,56	0,56
Sesquiterpeno	β -eudesmol	1,21	0,88	1,22	1,10
Sesquiterpeno	α -eudesmol	1,68	1,35	1,44	1,49
Sesquiterpeno	bulnesol	2,56	2,75	3,45	2,92

*Substâncias em fase de identificação

Na ACP o número de variáveis originais gera, através de suas combinações lineares, n-componentes principais, cuja principal característica, além da ortogonalidade, é que são obtidos em ordem decrescente de máxima variância, sendo comum obter em apenas duas ou três das primeiras componentes principais mais de 90% da informação estatística (MOITA NETO, MOITA, 1998)

A relação destes componentes (Tabela 10 e 11) com os tratamentos estudados foi avaliada através da ACP, a qual revelou grande correlação entre alguns componentes do óleo das folhas (Figura 6) e das raízes (Figura 7) com os níveis de sombreamento. As Figuras 6 e 7 mostram a posição relativa de cada componente em espaço discriminante em relação a um sistema diaxial, originado na ACP.

Figura 6: Análise de componentes principais dos óleos essenciais de folhas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento). UNESP/Botucatu-SP, 2010.

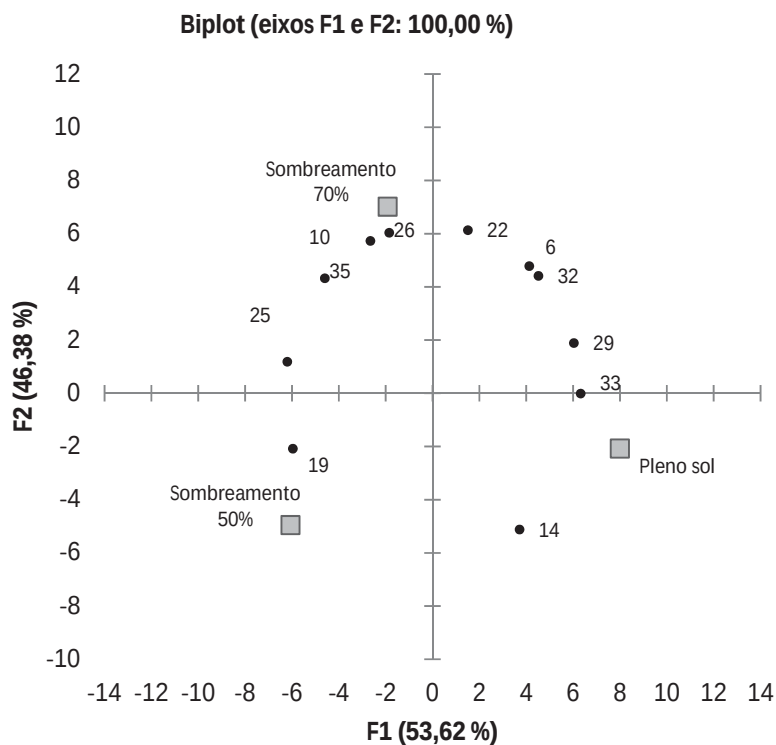


A ACP aplicada ao óleo essencial das folhas exprimiu 100% da variação total nos dois componentes (eixos), sendo 74,85% no primeiro e 25,15% no segundo. Pela análise do óleo essencial de folhas foi possível observar que os sesquiterpenos α -cubebeno (9B) e trans-cariofileno (11) além do fenilpropanóide asaricina (21) estão fortemente correlacionados com o nível de sombreamento de 70%. No sombreamento de 50% foi verificada forte correlação com os sesquiterpenos β -cubebeno (10A) e γ -cadineno (24), além do monoterpene linalol (7) e do fenilpropanóide safrol (9).

A pleno sol nove substâncias apresentaram correlação com o tratamento, sendo o monoterpene trans- β -ocimeno (6), os sesquiterpenos aromadendreno (12), α -humuleno (14), β -selineno (19), δ -cadineno (25), trans-nerolidol (29), óxido de cariofileno (31), 1-epi-cubenol (38) e α -cadinol (43). Já os sesquiterpenos δ -elemeno (9A), espatulenol

(30), epóxido-II-humuleno (35), alo-epóxi-aromadendreno (39), epi- α -cadinol (41) e α -muurolo (42) não apresentaram correlação com os tratamentos de sombreamento estudados.

Figura 7: Análise de componentes principais do óleo essencial de raízes de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento (0% (pleno sol), 50% e 70% de sombreamento). UNESP/Botucatu-SP, 2010.



Para o óleo essencial de raízes a ACP mostra que o tratamento 70% de sombreamento apresentou forte relação com os sesquiterpenos guaiol (26) e bulnesol (35), com o monoterpeno cânfora (10) e com o fenilpropanóide elemicina (25); o tratamento 50% apresentou correlação apenas com o fenilpropanóide asaricina (19) e a pleno sol apenas com fenilpropanóide safrol (14). Algumas substâncias não apresentaram correlação com os tratamentos de sombreamento estudados, indicando que não foram afetadas pela disponibilidade de luz, como o monoterpeno δ -3-careno (6), o fenilpropanóide miristicina (22), os sesquiterpenos β -eudesmol (32) e α -eudesmol (33), além da substância*nd (29).

A fim de se avaliar a influência dos tratamentos sobre o teor das substâncias abordados na ACP do óleo de folhas e raízes, com porcentagem relativa maior do

que 5%, realizou-se a análise de variância e a comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, conforme as Tabelas 12 e 13.

Tabela 12: Médias das porcentagens relativas (%) dos principais componentes do óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento em cada tratamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de sombreamento	asaricina (%)	espatulenol (%)	safrol (%)	α -humuleno (%)
0%	47,18 a	10,33 a	5,50 b	5,68 a
50%	47,65 a	10,59 a	7,24 ab	5,12 a
70%	52,29 a	7,94 b	7,92 a	5,49 a
CV%	9,00	14,16	25,53	19,12

Médias de mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey,

Para os principais componentes do óleo essencial das folhas a análise de variância e o teste Tukey a 5% de probabilidade mostraram que o espatulenol apresentou maior teor a pleno sol e a 50% de sombreamento, com menor teor nas plantas com 70% de sombreamento. O teor de safrol foi superior a 70% de sombreamento e apresentou menor valor a pleno sol, mas, ambos não diferiram de 50%. Já o teor de α -humuleno e asaricina não apresentaram diferenças em função do sombreamento, mas, analisando-se os valores das porcentagens relativas, nota-se que o teor de asaricina apresenta um incremento conforme aumenta o nível de sombreamento.

A relação que se pode observar entre a ACP e o teste de Tukey a 5% de probabilidade é que asaricina e α -humuleno apresentam resultados que se complementam, pois embora não tenham apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, apresentaram maior porcentagem relativa a 70% e a pleno sol, respectivamente, tratamentos que também apresentaram forte correlação pela ACP. Já o safrol apresentou na ACP forte correlação com o tratamento 50%, mas a maior porcentagem relativa foi observada a 70% de sombreamento, embora não tenha diferido do tratamento 50% e este do tratamento pleno sol,

que apresentou valor inferior. E por fim, o espatulenol que não apresentou relação com os tratamentos pela ACP também não apresentou diferença significativa a pleno sol e 50% de sombreamento, com menor valor de porcentagem relativa a 70% de sombreamento.

Tabela 13: Médias das porcentagens relativas (%) dos principais componentes do óleo essencial das raízes de *Piper aduncum* sob diferentes níveis de sombreamento em cada tratamento. UNESP/Botucatu-SP, 2010.

Níveis de sombreamento	asaricina (%)	safrol (%)	guaiol (%)
0%	62,82 a	17,23 a	5,48 b
50%	65,16 a	15,89 a	5,60 b
70%	63,78 a	13,79 a	7,19 a
CV%	5,28	24,13	13,93

Médias de mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Dentre os principais componentes das raízes, apenas o guaicol apresentou diferenças em relação aos níveis de sombreamento, atingindo maior teor nas plantas cultivadas sob 70% de sombreamento, sendo que entre as plantas cultivadas a 50% e a pleno sol não houve diferença estatística. A asaricina se manteve constante, assim como nas folhas, porém é possível notar um aumento no teor desta substância a 50% de sombreamento. O safrol também não apresentou diferenças entre os tratamentos, mas pode ser observado maior teor a pleno sol, resultado inverso ao observado para as folhas, nas quais a maior porcentagem relativa é a 70% de sombreamento.

Foi observada relação direta entre a ACP e o teste de Tukey a 5% de probabilidade, para os três principais constituintes do óleo essencial da raiz, guaicol, asaricina e safrol, pois a maior porcentagem relativa destas substâncias foi observada nos mesmos tratamentos que apresentaram forte correlação pela ACP.

Assim, pode-se dizer em linhas gerais, que os componentes do óleo essencial das folhas com maior porcentagem relativa, os fenilpropanóides, aumentam com o

sombreamento e os sesquiterpenos, presentes em menor porcentagem relativa, diminuem. Já para as raízes a porcentagem relativa dos fenilpropanóides diminui com o aumento do sombreamento e os sesquiterpenos aumentam.

A recente descoberta do envolvimento do gliceraldeído-3-fosfato e do piruvato na biossíntese de terpenóides do óleo essencial nos plastídios pela via MEP sublinhou a relevância direta da fotossíntese, ao contrário da relação distante ou indireta da clássica, mas agora irrelevante via do mevalonato, que ocorre no citoplasma (SANGWAN et al., 2001). Estudos da via MEP em plantas e em bactérias têm demonstrado que o aumento na expressão da enzima DXP sintase aumenta a produção de vários terpenóides (BIASE, DESCHAMPS, 2009). Dessa forma, podemos considerar que a abundância de sesquiterpenos nas folhas das plantas a pleno sol podem estar relacionadas com aumento na atividade da enzima DXP sintase, causada por estresse luminoso ou altas temperaturas foliares.

Os terpenóides, em especial mono e sesquiterpenóides, apresentam diversas funções nos vegetais. As mais conhecidas dizem respeito aos efeitos de proteção contra herbívoros e agentes microbianos, bem como atração de polinizadores. Outras funções, ainda pouco estabelecidas para a maioria dos derivados isoprênicos, envolvem efeitos de termo-proteção, proteção a danos oxidativos, foto-respiração a altas temperaturas e baixas concentrações de O₂, alelopatia e foto-proteção (OWEN, PEÑUELAS, 2005 apud BARROS et al., 2009). A síntese de isoprenos também é uma forma de proteção contra os danos à fotossíntese, causados por temperaturas elevadas, derivadas de radiação solar intensa. Portanto, a planta pode aumentar a síntese e emissão de isoprenos para reduzir os efeitos dos picos de temperaturas altas (SHARKEI; YEH, 2001 apud MARENCO 2009).

A síntese de fenilpropanóides ocorre a partir da produção de aminoácidos aromáticos pela via do ácido chiquímico. O aminoácido fenilalanina, e em menos frequência a tirosina, são utilizados como substrato numa reação catalisada pela enzima fenilalanina amônio liase (PAL) (SANGWAN et al., 2001; DEWICK, 2009). A PAL que se destaca como uma enzima chave e regulatória dessa rota, catalisando a transformação da fenilalanina, em ácido trans-cinâmico, sendo este o primeiro passo para a biossíntese dos fenólicos vegetais (CHENG et al., 2001; BIASI, DESCHAMPS, 2009).

Lavola et al. (2000) afirmam que a atividade da PAL determina a quantidade de fenilalanina que é retirada do metabolismo primário e entra na rota biossintética

dos fenilpropanóides. Em adição, os mesmos autores ressaltam que o aumento da sua atividade e o acúmulo de ácidos fenólicos e flavonóides nesta via ocorrem como consequência de estresses causados pela luz UV-B. Em adição, de acordo com Santos (2007) a atividade da PAL está sobre controle de vários fatores internos e externos, tais como hormônios, níveis de nutrientes, luz, infecção por fungos e lesões sendo assim, é possível supor que nos tratamentos 70% e 50% de sombreamento o predomínio de fenilpropanóides pode estar relacionado a um possível aumento na atividade da enzima PAL, causada por um possível estresse relacionado com a baixa intensidade de radiação fotossinteticamente ativa recebida pelas plantas de *P. aduncum*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa científica com plantas medicinais é imprescindível no cenário brasileiro e mundial, no qual o aumento da demanda por produtos naturais e sustentáveis ganha cada vez mais espaço.

Para garantir o fornecimento destas plantas ao mercado comprador, entre eles indústrias farmacêuticas, químicas e de alimentos, bem como para o mercado local, é necessário que o conhecimento científico gerado nas universidades alcance os produtores rurais, para que eles possam produzi-las com a qualidade exigida pelo mercado. Esta, por sua vez, está diretamente relacionada aos parâmetros fitotécnicos empregados na produção, que vão desde a propagação, a época e a forma de plantio, tratos culturais, até a idade e época de colheita e condições de pós-colheita.

Porém, as pesquisas fitotécnicas com espécies nativas do Brasil são um desafio para os pesquisadores devido à carência de literatura básica sobre as espécies; estudos taxonômicos, ecológicos, fisiológicos, anatômicos, fitoquímicos, bioquímicos e de diversidade genética das populações nativas são escassos, dificultando o aprofundamento dos estudos.

Assim, a pesquisa com plantas medicinais, por seu caráter multidisciplinar, tem papel fundamental no desenvolvimento das pesquisas básicas, pois tem

interface com as áreas de botânica, genética e química, possibilitando a geração de conhecimento científico sobre as plantas medicinais nativas e sua conservação, as quais têm sofrido grande pressão no seu ambiente natural, pelo desmatamento e extrativismo predatório em formações florestais ainda pouco estudadas, diante da grande diversidade da flora brasileira e do potencial de descoberta de novas moléculas para o desenvolvimento de fármacos e produtos.

Este trabalho buscou fornecer informações sobre a fisiologia, a produtividade de folhas, raízes e óleos essenciais, além da qualidade do mesmo para a espécie *P. aduncum* sob diferentes condições ambientais de luminosidade, uma vez que foi possível verificar diferenças morfológicas no tamanho e coloração das folhas expostas a luz e a sombra no ambiente de coleta do material vegetal utilizado neste trabalho, supondo-se assim que a condição de luminosidade pudesse interferir na produtividade e qualidade do material vegetal. Assim, o experimento realizado foi concebido com o intuito de fornecer informações iniciais sobre as condições mais adequadas para o cultivo da espécie, para posteriores estudos, visando à sustentabilidade da produção de óleo essencial.

Com base nos objetivos propostos e de acordo com os resultados obtidos é possível salientar algumas questões importantes. Embora a produtividade de óleo essencial das raízes tenha sido maior do que a das folhas é preciso analisar a viabilidade de colheita das raízes em um cultivo comercial. Outro aspecto está relacionado com a estrutura necessária para prover a luminosidade adequada no ambiente de cultivo, visando a produção de biomassa e óleo essencial, sendo necessário realizar estudos mais aprofundados sobre produtividade e qualidade do óleo essencial da cultura em sistemas de consórcio, plantios mistos, sistemas agroflorestais ou manejo em áreas florestadas, que parecem ser mais apropriados do que a monocultura da espécie.

Além destes aspectos o perfil químico do óleo essencial apresentado neste trabalho ainda não foi estudado em relação a sua atividade biológica. Assim é de grande relevância a continuidade das pesquisas com este genótipo, a fim de se descobrir suas potencialidades biológicas e químicas além de preservar este recurso genético, que pode ser promissor para um futuro melhoramento genético de *P. aduncum*.

6. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados e discutidos neste trabalho mostram que as condições de luminosidade a que as plantas de *P. aduncum* foram submetidas proporcionaram alterações nas suas respostas fisiológicas relacionadas às trocas gasosas. A condutância estomática (gs), transpiração (E) e concentração interna de CO₂ (Ci) foram favorecidas pelo tratamento 70% de sombreamento e a assimilação de CO₂ (A) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, mas foi possível verificar um incremento a 50% de sombreamento. Sendo assim é possível afirmar que a espécie apresentou melhor desempenho ecofisiológico em ambientes sombreados do que em ambiente de pleno sol.

A produção de massa seca total e de folhas não foi influenciada pelos níveis de sombreamento, já a massa seca da raiz foi significativamente superior nas plantas submetidas a pleno sol, e a massa seca de caule foi superior nas plantas a 70% de sombreamento.

Alterações morfológicas como altura e área foliar também foram observadas, sendo que estas e os valores de massa fresca total, massa fresca de caule e massa fresca de folhas foram maiores no tratamento 70% de sombreamento, sendo que

para a massa fresca da raiz os maiores valores foram observados nas plantas a pleno sol. Esses dados suportam os resultados obtidos nas trocas gasosas, confirmando que ambientes sombreados são mais apropriados para a espécie.

Em relação à composição química do óleo essencial pode-se dizer, em linhas gerais, que os componentes do óleo essencial das folhas com maior porcentagem relativa, os fenilpropanóides, aumentam com o sombreamento e os sesquiterpenos, presentes em menor porcentagem relativa, diminuem. Já para as raízes a porcentagem relativa dos fenilpropanóides diminui com o aumento do sombreamento e os sesquiterpenos aumentam.

Embora o teor e a produtividade de óleo essencial das folhas não tenham apresentado diferenças estatísticas, observou-se maior valor a 70% de sombreamento. Já nas raízes não foi verificada influência dos tratamentos no teor, mas a maior produtividade de óleo essencial foi observada nas plantas a pleno sol, resultados que podem estar relacionados com a disponibilidade de carbono fixado fotossinteticamente em cada órgão, pois a sua disponibilidade é um componente importante do mecanismo fisiológico de produção de óleo essencial.

Dessa forma, pode-se considerar que o tratamento 50% de sombreamento ofereceu melhores condições para o crescimento harmônico das plantas pois apresentou maior assimilação de CO₂, não proporcionou estresse às mesmas, como o estiolamento e aumento da área foliar a 70% de sombreamento, bem como o acúmulo de biomassa radicular e redução da altura das plantas a pleno sol, além de ter proporcionado bom rendimento e produtividade de óleo essencial de folhas.

7. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 69 p.

ALONSO CASTRO, A. J. et al. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 133, p. 945–972, 2011.

ALONSO-CASTRO, A. J. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 133, p. 945–972, 2011.

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.

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 Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853-862, jul./ago. 2001.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. A utilização do safrol, principal componente químico do óleo essencial de sassafráz na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: anti-inflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 5, p. 744-759, 1999.

BARROS, F. M. C. et al. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown (Verbenaceae) **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1978. v. 1, 255 p.

BASTOS, C. N. The effect of *Piper aduncum* oil on *Crinipellis perniciosus* and other fungal pathogens. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.

BERNARD, C. B. et al. Insecticidal defenses of piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 21, n. 6, p. 801-814, 1995.

BIASE, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico, 2009. 160 p.

BIZZO, H. R. et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas **Química Nova**, São Paulo v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BIZZO, H. R. et al. Sarisan from leaves of *Piper affinis ispidinervum* C. DC (long pepper). **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 16, p. 113-115, 2001.

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

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**, São Paulo, v. 18, p. 127-134, 2008.

CÁCERES, A. et al. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 48, n. 2, p. 85-88, Oct. 1995.

CHENG, S. H. Molecular identification of phenylalanine ammonia-lyase as a substrate of a specific constitutively active Arabidopsis CDPK expressed in maize protoplasts **Federation of European Biochemical Societies Letters**, Amsterdam, v. 503, p. 185-188, 2001.

CICCIO, J. F.; BALLESTERO, C. M. Volatile constituents in leaves and spikes of *Piper aduncum* from Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v. 45, n. 2, p.783-790, 1997.

COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 357-369, 2000.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 224-228, 1993.

DEWICK P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3rd Ed. Chippingham, Wiltshire, Grã-Bretanha: John Wiley, 2009. 546 p.

DI STASI, L. C. et al Piperales medicinais. In: DI STASI, L.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002. p.120-138.

DOUSSEAU, S. **Propagação, características fotossintéticas, estruturais, fitoquímicas e crescimento inicial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae)**. 2009. 129 p. Dissertação (Mestrado)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

EKUNDAYO, O. et al. Essential oil constituents of Ashanti pepper (*Piper guineense*) fruit berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 36, p. 880-882, 1988.

FAZOLIN, M. et al. Insecticidal properties of essential oils of *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum against *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, jan./fev. 2007

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.

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

FIGUEIREDO, R. A. **Fenologia e ecologia da polinização de espécies de Piperaceae em mata semidecídua do sudeste brasileiro**. 1997. 145 p. Tese (Doutorado)- Universidade de Campinas, Campinas, 1997. 145 p.

FREDEEN, A. L.; FIELD, C. B. Leaf respiration in Piper species native to a Mexican rainforest. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 82, p. 85-92, 1991.

GAIA, J. M. D. et al. Similaridade genética de populações naturais de pimenta-de-macaco por análise RAPD. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 686-689, 2004.

GIVINISH, T. J. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 15, p. 63-92, 1988.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

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**, Florianópolis, v. 22 n. 4, p. 9-14, 2009.

GONÇALVES, L. A. et al. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 8-14, 2003.

GUIMARAES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do Nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 84, p. 21-46, 2004.

HARTEMINK, A. E. Biomass and nutrient accumulation of *Piper aduncum* and *Imperata cylindrica* fallows in the humid lowlands of Papua New Guinea. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 144, p. 19-32, 2001.

JARAMILLO, M. A.; MANOS, P. S Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 88, n. 4, p. 706–716, 2001.

JUN-LING, H. et al Effect of low light intensity on growth and accumulation of secondary metabolites in roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, p. 160–168, 2010

KATO, M. J.; FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 79, n. 4, p. 529–538, 2007.

KIM, S. J. et al. Growth and photosynthetic characteristics of blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) under various shade levels. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 4, n. 22, p. 1-7, 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2006. 636 p.

LI, Y.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) ISHS. **Acta Horticulturae**, Amherst, USA, v. 426, p. 419-426, 1996.

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

LIMA JUNIOR, E. C. et al. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1092-1097, set/out. 2005.

LING, I.A.; SULAIMAN, S.; OTHMAN, H. Evaluation of *Piper aduncum* Linn. Essential Oil (Fam:Piperaceae) against *Periplaneta americana* (L.). **Iranian Journal of Arthropod-Borne Disease**, Tehran, v. 3, n. 2, p.1-6, 2009.

MAIA, J. G. S. et al. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 13, p. 269-72, 1998.

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

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal**: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2009. 486 p.

MARTÍNEZ, J. et al. Extraction of volatile oil from *Piper aduncum* L. leaves with supercritical carbon dioxide. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, 6., 2003, Versailles. v. 1, p. 65-70. Disponível em: <<http://www.isasf.net/fileadmin/files/Docs/Versailles/Papers/N10.pdf>>. Acesso em: 03 jun. 2011.

MASUDA, T. A. et al. Antimicrobial phenylpropanoids from *Piper sarmentosum*. **Phytochemistry**, New York, v. 30, n. 10, p. 3227-3228, 1991.

MATTANA, R. S. **Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial e plasticidade foliar em plantas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento**. 2005. 108 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Horticultura)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

McLAFFERTY, F. W.; STAUFFER, D. **The wile/NBS registry of mass spectral data**. New York: John Wiley, 1989.

MING, L.C. **Floresta do Petar**: árvores úteis na trilha do Betari. Botucatu: FAPESP, 2006. 36 p.

MING, L. C. et al. Produção sazonal do óleo essencial em uma população natural de *Piper aduncum* L. em Adrianópolis – PR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, 2002. Suplemento. 1 CD-ROM.

MIRANDA, M. J. **A classificação climática de Koeppen para o estado de São Paulo**. Clima dos municípios paulistas. Disponível em: <<http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>>. Acesso em: 05 dez. 2011.

MOITA NETO, J. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 467-469, 1998.

- MORAIS, S. M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 35, p. 670-675, 2007.
- MOREIRA, D. L. et al. Effect of leaf essential oil from *Piper solmsianum* C.DC. in mice behavior. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 73, n. 1, 2001.
- NAIR, M. G.; BURKE, B. A. Antimicrobial *Piper* metabolite and related compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 4, p. 1093-1096, 1990.
- NAIR, M. G.; SOMMERVILLE, J.; BURKE, B. A. Phenylpropenoids from roots of *Piper auritum*. **Phytochemistry**, New York, v. 28, n. 2, p. 654-655, 1989.
- NAVICKIENE, H. M. D. et al. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 467-470, 2006.
- NUNES, J. D. et al. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 7, p. 1049-1052, 2007.
- ORJALA, J. et al. Cytotoxic and antibacterial dinydrochalcones from *Piper aduncum*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 57, p. 18-26, 1994.
- ORJALA, J. et al. Two chromenes and prenylated benzoic-acid derivative from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, New York, v. 34, p. 813-818, 1993.
- PALEVITCH, D. Recent advances in the cultivation of medicinal plants. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 208, p. 29-34, 1987.
- PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, New York, v. 46, n. 4, p. 591-673, 1997.
- 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**, Brasília, DF, v. 25, p. 210-214, 2007.
- PORTES, M. T. **A interação ecofisiológica planta-ambiente: o papel da aclimação fotossintética na resposta a fatores ambientais em espécies arbóreas**. 2010. 152 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas / Biologia Vegetal)- Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2010. 152 p.
- RAFAEL, M. S. et al. Potential control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) with *Piper aduncum* L. (Piperaceae) extracts demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 3, p. 772-781, 2008.

- 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**, Birmingham, v. 11, n. 3, p. 85-96, 2005.
- ROCHA, S. F. R., MING, L. C. **Óleos essenciais de *Piper aduncum* do estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, 1999. 15 p. Relatório de pesquisa.
- SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation: an International Journal on Natural and Synthrtic Regulators**, Dordrecht, 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 Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1035-1042, set./out. 2001.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007. p. 403-434.
- SILVA SANTOS, A. et al. A participação da indústria de óleo citrícola na balança comercial brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 8-13, 2006.
- SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da Planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007. p. 467-496.
- SMITH, R. M.; KASSIM, H. The essential oil of *Piper aduncum* from Fiji. **New Zealand Journal Science**, Wellington, n. 22, n. 2, p. 127-128, 1979.
- SOUSA, P. J. C. et al. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 217-221, abr./jun. 2008.
- SOUZA, M. F. et al. Influência do Sombreamento na Produção de Fitomassa e Óleo Essencial em Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 108-110, jul. 2007.
- SOUZA, V. C. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 89 p.
- TÉTÉNYI, P. Chemical variation (chemodifferentiation) in medicinal and aromatic plants. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 576, p. 15-23, 2002.
- TRAPP, S. C.; CROTEAU, R. D. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. **Genetics**, Bethesda, v. 158, p. 811-32, 2001.

TUNTIWACHWUTTIKUL, P. et al. Chemical Constituents of the Roots of *Piper Sarmentosum*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 54, n. 2, p. 149-151, 2006.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the relation index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-467, 1963.

VENTRELLA, M. C. **Produção de folhas, óleo essencial e anatomia quantitativa foliar de Lippia Alba (Mill.) N.E.Br. (Verbenaceae) em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita**. 2000. 86 p. Tese (Doutorado em Agronomia / Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

VIANNA, W. O.; AKISUE, G.; OLIVEIRA VIANNA, W. Morphological characterization of *Piper aduncum* L. **Lecta**: revista de farmácia e biologia da Universidade São Francisco, Bragança Paulista, v. 15, n. 1/2, p. 11-62, 1997.

VIEIRA, R. F. et al. **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas**: resultados da 1ª Reunião Técnica. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002. 184 p.

VILA, R. Unusual composition of the essential oils from the leaves of *Piper aduncum* **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 20, p. 67-69, 2005.

WADT, L. H. O. **Estrutura genética de populações naturais de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC.) visando seu uso e conservação**. 2001. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2001.

YUNCKER, T. G. The piperaceae of Brazil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 2, p. 19-366, 1972.

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.