



ISSN 2446-5666

Arrudea

Revista do Jardim Botânico do Recife



Piper marginatum



ISSN 2446-5666

Arrudea

Revista do Jardim Botânico do Recife



Vol. 01(1): 001 - 027/2015

Prefeito

Geraldo Júlio de Mello Filho

Vice-prefeito

Luciano Roberto Rosas de Siqueira

Secretária de Meio Ambiente e Sustentabilidade

Maria Aparecida Pedrosa Bezerra

Secretário Executivo de Unidades Protegidas

Romero Pereira Teixeira

Gerente Geral de Unidades Protegidas e Jardim Botânico do Recife

Zenaide Nunes Magalhães de Araújo

**Comissão Editorial da Arrudea****Revista do Jardim Botânico do Recife****Editor-Chefe**

Jefferson Rodrigues Maciel, Jardim Botânico do Recife, PE

Editores Assistentes

Zenaide Nunes Magalhães de Araújo, Jardim Botânico do Recife, PE

Alex de Oliveira da Costa, Sociedade Educacional de Desenvolvimento-Sedespe, PE

Editores de Área de Biodiversidade

Ladivania Medeiros do Nascimento, Jardim Botânico do Recife, PE

Uilian do Nascimento Barbosa, Jardim Botânico do Recife, PE

Editores de Área de Biotecnologia Vegetal

Afonso Cordeiro Agra Neto, Jardim Botânico do Recife, PE

Bruno Leal Viana, Jardim Botânico do Recife, PE

Editores de Área de Educação Ambiental

Liliane Rosy Silva, Jardim Botânico do Recife, PE

Rosemary Ratacasso França Coimbra, Jardim Botânico do Recife, PE

Conselho Editorial

Daniele Andrade de Carvalho, Prefeitura de João Pessoa, PB

Thiago Henrique Napoleão, Universidade Federal de Pernambuco, PE

Claudio Nicoletti de Fraga, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ

Jornalista responsável

Shirley Pacheco, DRT-3414, Prefeitura do Recife, PE

Design da Capa

Kamyla Gonçalves do Amaral Queiroz, Faculdade Damas da Instrução Cristã, PE

Jardim Botânico do Recife

Endereço: Km 7,5 BR 232, s/n

Cidade: Recife-PE - Brasil CEP: 50.791-540

Email: jardimbotanico@recife.pe.gov.br

Sumário

Experiências de conservação no fragmento de mata atlântica do Jardim Botânico do Recife.	1
Variação de nicho grinelliano em uma espécie disjunta neotropical.	6
Atividade antibacteriana de preparações de folhas de <i>Moringa oleifera</i> contendo inibidor de tripsina.	12
Avaliação do potencial alelopático de <i>Piper corcovadensis</i> sobre a germinação de <i>Lactuca sativa</i> .	19
Interferência do extrato aquoso de folhas de <i>Tradescantia spathacea</i> na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, <i>Sitophilus zeamais</i> .	23

EDITORIAL

Por Jefferson Rodrigues Maciel

Este é o primeiro número da revista do Jardim Botânico do Recife: Arrudea. Ela nasce homenageando aquele que poderia ser considerado o patrono dos jardins botânicos no Brasil, mas que não parece ter o merecido reconhecimento.

Manuel Arruda Câmara, nascido em Pombal na Paraíba em 1752, filho de cristãos-novos, tornou-se um erudito em Coimbra e em Montpellier e foi incumbido pelo governo Português, no século XVIII, de ser um “naturalista viajante” para inventariar as riquezas naturais da conquista da Coroa no Nordeste do Brasil. Com uma formação influenciada pela reforma da Universidade de Coimbra de 1772, Arruda Câmara inovou na botânica genuinamente brasileira com seus levantamentos, publicações e indicações de caminhos para o uso dos recursos naturais nativos e exóticos. Além de tudo isso, contribuiu para reduzir o preconceito sobre a flora neotropical, vigente na mentalidade europeia oitocentista.

Mas sem dúvida é no seu “Discurso sobre a vitalidade da instituição de jardins nas principais províncias do país”, publicado em 1810, que Arruda Câmara deu sua contribuição mais valiosa para a história dos jardins botânicos no Brasil. Decorrente da sua influência técnica e de uma descrição detalhada de como e para que criar jardins botânicos no Brasil, nasceram os Jardins Botânicos de Caiena e de Olinda, este último presente até hoje no imaginário pernambucano como o Horto D'el Rey. O “Discurso” pode ser considerado o batistério dos jardins botânicos brasileiros, que hoje são mais de 40, contribuindo para a conservação da flora brasileira e para o reconhecimento do país como um dos mais fiéis cumpridores dos acordos internacionais de conservação da biodiversidade.

E o Jardim Botânico do Recife-JBR carrega o peso dessa tradição, mas além desse fardo, carrega também o compromisso de instaurar uma cultura da *Scientia Amabilis* em Pernambuco. A cidade que sediou o primeiro Jardim Botânico das Américas nos idos do século XVII e que junto com sua co-irmã teve um dos primeiros jardins botânicos brasileiros no século XIX não pode se furtar a esse compromisso.

E após as melhorias estruturais recentemente feitas no JBR é hora de se começar as melhorias intelectuais. E aqui nasce o primeiro veículo de divulgação dos resultados de produção de conhecimento dos pesquisadores do Jardim Botânico do Recife, a revista Arrudea. Mas além de divulgar a produção interna do JBR, Arrudea também se propõe a ser um veículo de divulgação de parceiros que queiram tornar público seus resultados em estudos de todas as áreas de atuação de um jardim botânico.

E nesse volume inaugural Arrudea traz contribuições das mais diversas áreas, como a Educação Ambiental, Biogeografia, Tecnologia de Sementes e Biotecnologia. Contribuições que nasceram no seio do recém-inaugurado laboratório do Jardim Botânico do Recife e que são encabeçadas por pesquisadores do próprio JBR. Mas enriquecendo esse volume pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco também apresentam contribuições que servirão para aprimorar o conhecimento sobre a flora nordestina em suas múltiplas dimensões.

Experiências de conservação no fragmento de mata atlântica do Jardim Botânico do Recife

Bruna Trajano de Oliveira¹ Ladivania Medeiros do Nascimento²; Rosemary Ratacasso Franca Coimbra²; Adriana Miranda de Souza¹

Resumo (Experiências de conservação de um fragmento de mata atlântica no Jardim Botânico do Recife) O presente trabalho tem o objetivo de apresentar as experiências de conservação de uma área verde urbana localizada no Jardim Botânico do Recife (JBR). Foram avaliadas as atividades realizadas desde a revitalização do JBR, em dezembro de 2013, que são as atividades de manejo através dos Planos de Revitalização de Áreas Verdes (PRAV's) e as monitorias em trilhas. Observou-se que essas atividades contribuem com a conservação e difusão da importância de manutenção de áreas florestais em meios urbanos devido às suas ações de conscientização e educação ambiental.

Palavras-chave: floresta urbana, conservação, educação ambiental.

Abstract (Conservation experience in the Atlantic Forest fragment of the Botanical Garden of Recife) The aim of this work is to present the management experiences in Botanical Garden of Recife (JBR) while an instrument for conservation of a urban Atlantic Forest, with emphasis in plantation actions for recovering and enrichment of its soil, and environmental education actions. The activities carried out since the revitalization of JBR, in December 2013, which are management activities through the Revitalization Plans of Green Areas (PRAV's) and tutoring in trails of the location, were evaluated. It was observed that these activities contribute to the preservation and dissemination of the importance of maintaining forest areas in urban areas, due to their actions of environmental awareness and education.

Key words: urban forest, conservation, environmental education.

Introdução

O processo de urbanização cada vez mais crescente e desenfreado é um dos principais fatores que causam alterações permanentes nos ambientes naturais e em especial das florestas (Carvalho, 2001). Ao longo de décadas, as atividades humanas têm impactado a biodiversidade e a qualidade de vida da população, onde segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE (2010), a ação antrópica de urbanização no Brasil varia entre 70 a 90% sobre o ambiente natural, dificultando ainda mais a condição das florestas urbanas no país. Neste sentido, Szymczak (2012) salienta que a presença de espécies arbóreas no espaço urbano (florestas urbanas) minimizam os efeitos das altas temperaturas, regulando o microclima; os impactos de poluentes gasosos, filtrando a poeira e absorvendo metais, como moléculas de mercúrio; além de proporcionar abrigo à avifauna.

Floresta urbana é toda vegetação localizada dentro ou no entorno das cidades, desde pequenos núcleos urbanos até as grandes regiões metropolitanas. Apresentam importante papel no caráter social, político, econômico e arquitetônico, além de desempenhar importantes atributos históricos, artísticos e paisagísticos (Melo *et al.*, 2011). Por estar inserida na malha urbana enfrenta difíceis condições

de sobrevivência.

Remanescentes da vegetação nativa que englobem fragmentos urbanos servem como incentivo à criação de unidades de conservação federais, estaduais e municipais, servindo como alternativa para ampliar a conectividade entre fragmentos e, assim, a conservação de ecossistemas em escala de paisagem (Troian *et al.*, 2011).

A necessidade de implantação de vegetação nos centros urbanos tem sido uma das ações mais desafiantes dos governantes na atualidade. Investimentos em pesquisas, técnicas e instrumentos estão sendo desenvolvidos, buscando estruturas necessárias que possam servir como auxílio ao planejamento e execução de importantes áreas urbanas florestadas. Neste sentido, a Prefeitura da Cidade do Recife, através do Instituto Pelópidas Silveira (IPS) e da Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade (SMAS), tem desenvolvido projetos, visando mapear todas as áreas vegetadas existentes no município do Recife, identificando os bairros e microrregiões com déficit de arborização.

Os Projetos de Revitalização e/ou Implantação de Áreas Verdes (PRAV's), lei nº 12.243/96, alterada pelas leis nº 16.930/03 (art. 79 e 80) e nº 17.978/14 estão inseridos

¹Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av., Recife, PE, Brasil. bruna.oliveirash@gmail.com

²Prefeitura da Cidade do Recife, Jardim Botânico do Recife, Km 7,5 da BR 232, s/n, Curado, 50000-230, Recife, PE, Brasil.

nessas estratégias municipais de recuperação de áreas verdes, com o plantio de espécies arbóreas e ou arbustivas em lugar escolhido pela iniciativa privada ou pelo poder público, priorizando margens de corpos e cursos d'água, área verde pública em zona de ambiente natural, unidades de conservação ou parques, e arborização urbana em ambientes de passeio público, praças ou refúgios, como forma de compensação de impactos ambientais gerados por construções inseridas em Setor de Sustentabilidade Ambiental, presente no Código Municipal de Meio Ambiente (CNMA).

O Jardim Botânico do Recife (JBR) hoje é beneficiado com esta ferramenta institucional, que é usada para manejo e manutenção do remanescente florestal de Mata Atlântica onde está inserido. Neste espaço, a trilha ecológica monitorada é outro importante instrumento de conservação da biodiversidade local. Esta estratégia de educação ambiental utiliza os equipamentos (jardins, coleções, dentre outros) e o fragmento florestal que compõe o espaço, com objetivo de sensibilizar os visitantes para questões ambientais.

Assim, este trabalho tem o objetivo de apresentar as experiências de conservação existentes no Jardim Botânico do Recife, com ênfase em ações de plantio para recuperação e enriquecimento e ações de educação ambiental, no período de dezembro de 2013 a agosto de 2014.

Materiais e métodos

O Jardim Botânico do Recife (JBR), criado através do Decreto Municipal 11.341 de 1º de agosto de 1979, está localizado às margens da BR 232, km 7,5, próximo ao Distrito Industrial do Curado, no Recife (PE), encontrando-se entre as coordenadas geográficas de 8°4' e 8°5'; 34°59' e 34°57'. Ocupa uma área de 11,23 hectares, com 60% sendo cobertura de fragmento de Mata Atlântica, apresentando uma grande diversidade de espécies, tanto de fauna como de flora (Figura 1 ao lado).

Até a década de 1960, sua área pertenceu ao Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Nordeste (IPEANE), órgão ligado ao Ministério da Agricultura. Hoje faz parte da Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade da Prefeitura do Recife, integra a Rede Brasileira de Jardins Botânicos (RBJB) e obteve, no ano de 2012, registro e categorização C do Ministério do Meio Ambiente. Além de uma área alternativa de lazer, o JBR pode ser caracterizado como um fragmento de Mata Atlântica que serve como laboratório vivo para repassar informações de caráter técnico/científico ao público visitante.

Entre os meses de julho e novembro de 2013, o JBR passou por uma reforma que teve como base a utilização de

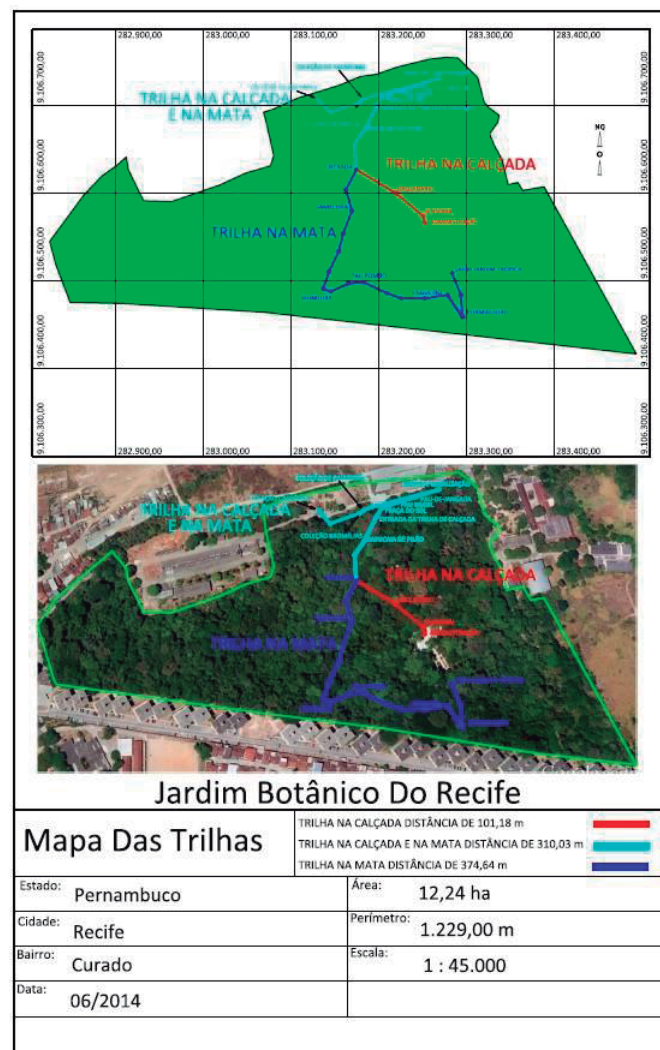


Figura 1. Área delimitada do Jardim Botânico do Recife.

recursos provenientes de compensação ambiental, tornando o espaço mais adaptável, acessível e atraente ao público visitante, sendo reinaugurado em dezembro do mesmo ano.

Após a aprovação do setor de licenciamento ambiental da Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade da Prefeitura do Recife (SMAS/PCR), o Programa de Revitalização e/ou Implantação de Áreas Verdes (PRAV) é executado dentro do JBR com a supervisão de um analista de desenvolvimento ambiental com formação em Engenharia Florestal da equipe técnica da instituição.

O JBR conta com vários equipamentos, agrupados em: coleções, jardins, Núcleo de Educação Ambiental, viveiro florestal, meliponário, trilhas e brigada ambiental. As coleções dividem-se em: bromeliário, que conta com mais de 100 exemplares da família Bromeliaceae catalogados e registrados, dentre eles a espécie *Vriesea limae* (Smith) autor, exclusiva de Pernambuco; cactário, que conta com cerca de 50 indivíduos da família Cactaceae catalogados e registrados, dentre eles a espécie *Melocactus*

violaceus Pfeiff., que se encontra ameaçada de extinção, em estado de vulnerabilidade; e orquidário, que consiste num acervo científico que abriga mais de 250 exemplares da família Orchidaceae catalogados e registrados, dentre eles a espécie *Cattleya labiata* Lindlley, ameaçada de extinção.

Os jardins dividem-se em: de plantas medicinais, que reúne mais de 40 espécies de plantas popular e cientificamente utilizadas na cura, tratamento e prevenção de diversas doenças, reforçando aos visitantes a importância do conhecimento popular unido ao científico; sensorial, espaço onde são expostas plantas de diversas cores, texturas, odores e formatos, permitindo ao visitante exercitar o reconhecimento das espécies através dos sentidos: visão, audição, olfato e tato, e por esse motivo também é bastante utilizado por deficientes visuais, como um instrumento de educação ambiental inclusiva: todas as placas de identificação, além de escritas em português, também estão escritas em braille; de palmeiras, que agrega exemplares da família Arecaceae, tanto nativos como exóticos; e de plantas tropicais, que reúne plantas utilizadas em decoração e paisagismo, com destaque para suas cores vivas e diferentes formatos.

O Núcleo de Educação Ambiental (NEA) é o espaço onde são realizadas atividades voltadas à educação e conscientização ambiental dos visitantes de várias formas, de acordo com a faixa etária: contação de histórias, exibição de vídeos, jogos ambientais, brinquedos feitos com material reciclado, dentre outros. O NEA também conta com um laboratório experimental, onde se executam aulas práticas de biologia (visualização de estruturas vegetais, determinação de substâncias), geralmente após as monitorias com alunos de ensino fundamental (séries finais), médio, técnico e superior das ciências biológicas e agrárias.

O Viveiro florestal é o espaço responsável pela produção de mudas, preferencialmente de espécies arbóreas nativas das Mata Atlântica, com o objetivo de suprir a necessidade de mudas para plantios em arborização urbana, paisagismo e recuperação de áreas degradadas.

O Meliponário é uma estrutura que abriga três colméias de abelhas nativas, com o objetivo de propagar a importância ecológica e econômica das abelhas no dia-a-dia das pessoas.

Quanto às trilhas, o JBR possui cinco, sendo duas utilizadas para visita com condução do monitor, que as interpreta para os visitantes, com o objetivo de gerar neles uma consciência ambiental e, consequentemente, mudança de atitudes. A monitoria nas trilhas consiste em paradas estratégicas em espécies com uma importância econômica, ecológica ou social destacada (Pau-de-jangada – *Apeiba tibourbou* Aubl.; Amescla-de-cheiro – *Protium*

heptaphyllum (Aubl.) Marchand; Pau-brasil – *Caesalpinia echinata* Lam.; Sapucaia-de-pilão – *Lecythis pisonis* Cambess., dentre outras), nas coleções, jardins e, finalizando no NEA, com as atividades de educação ambiental preparadas de acordo com a faixa etária do grupo que acompanhou a monitoria na trilha.

A Brigada Ambiental, vinculada à Guarda Municipal do Recife (GMR), é responsável pela segurança dos visitantes e funcionários do espaço, manuseio de animais silvestres e, pelos seus conhecimentos sobre fauna e flora, também contribui conduzindo as trilhas e sensibilizando os visitantes.

Resultados e discussão

Atividades de Manejo através dos PRAV's

Foram realizados dois PRAV's desde a revitalização do JBR, ambos com o objetivo de implantar atividades como: erradicação de espécies arbóreas e arbustivas exóticas, produção e plantio de mudas e recolhimento de lixo doméstico, este último que ocorre por causa do condomínio localizado por trás do JBR. A diferença entre eles é o destino das mudas produzidas, onde em um as mudas foram destinadas para paisagismo urbano e em outro foram replantadas no JBR, numa área que foi concedida pela Câmara de Dirigentes Lojistas de Recife (CDL), vizinha ao JBR.

A soma dos investimentos dos dois PRAV's foi de R\$ 1.126.033,49. Os benefícios gerados foram o acréscimo de indivíduos arbóreos nativos e, consequentemente, o enriquecimento da vegetação do JBR; a redução da poluição por resíduos sólidos, que gera benefícios não somente para a fauna e a flora do JBR e aqueles que o visitam, mas também para as populações que residem no entorno do JBR, visto que a ausência dos resíduos sólidos melhora a qualidade do ar daquele ambiente.

As atividades de PRAV's cumpriram com o seu objetivo, o que comprova a eficiência deste instrumento de conservação, uma vez que as compensações ambientais se tornam concretas, tomando forma na revitalização do JBR. Sabendo que Pernambuco é o estado com o sétimo maior índice de desmatamento de Mata Atlântica entre os 17 estados onde há cobertura desse bioma - 155 ha, contando hoje com pouco mais de 10% da cobertura original (SOS Mata Atlântica, 2014), nota-se como os PRAV's são uma ferramenta importante na recuperação e aumento da biodiversidade de áreas como o JBR, já que o conceito de PRAV diz que este deve priorizar unidades de conservação, sempre levando em consideração a orientação e acompanhamento dos especialistas da área (Analistas

ambientais do JBR).

Educação Ambiental: monitorias em trilhas

As trilhas monitoradas no remanescente de Mata Atlântica do JBR são realizadas com grupos previamente agendados, durante a semana em dois turnos (manhã e tarde), e com grupos não agendados, nos finais de semana em dois horários pré-determinados (9:30h e 14h). As trilhas assumem o objetivo de conscientizar o visitante sobre a importância da conservação ambiental, através de uma experiência vivenciada em contato direto com o ambiente florestal. Durante a caminhada, são transmitidas informações diversas sobre a Mata Atlântica, com ênfase nos componentes arbóreos que se destacam no remanescente em virtude do seu grande porte e/ou status de conservação. Além disso, são enfocadas as interações entre a fauna, a flora e o ambiente físico, entre outras informações consideradas relevantes, por meio de uma abordagem dialógica em linguagens simples e de fácil compreensão.

Para assegurar a qualidade da experiência e atendimento do objetivo da atividade, foi estabelecido um limite de no mínimo 10 e no máximo 30 participantes por trilha, com idade a partir de 10 anos. Destaca-se que o perfil destes participantes variou consideravelmente entre os visitantes agendados (durante a semana) e os não agendados (finais de semana). Neste sentido, predominaram os grupos institucionais nas trilhas agendadas, representados principalmente por excursões escolares. Já nas trilhas não agendadas, verificou-se uma maior demanda de grupos familiares e, com menor frequência, grupos ligados a igrejas, associações e turmas do ensino técnico e superior em aulas práticas.

Vale salientar que, a partir do final de 2013, devido à reforma, o JBR teve um aumento expressivo na quantidade de visitantes. De acordo com os registros internos de visitação, no primeiro quadrimestre de 2013 a instituição recebeu um total de 1.470 visitantes. Já no primeiro quadrimestre de 2014, após as reformas e reinauguração, esse número passou para um total de 22.865 visitantes, ou seja, um aumento de aproximadamente 1.550% no quantitativo de visitantes. Ressalta-se que, do total contabilizado após a reforma, estima-se que mais de 7.000 visitantes vivenciaram experiências na trilha do JBR.

O processo de visitação em áreas naturais, como qualquer outra atuação humana na natureza gera alguns efeitos que são prejudiciais ao desenvolvimento dessa atividade. Sendo necessária a utilização de mecanismos de monitoramento do tipo de impacto, como também as ações de manejo da visitação em relação ao meio (MMA, 2004). Essas ações visam a minimização dos impactos negativos

da visitação e a máxima qualidade da experiência do visitante. Com isso devem ser desenvolvidos planos e programas de manejo e o zoneamento interno da área, que permitirá contemplar os princípios de Capacidade de Carga Turística.

A aplicação do método de Capacidade de Carga Turística (CCT), que é definida como "a possibilidade de limitar um número máximo de visitantes por dia num determinado ambiente ou equipamento turístico", ou seja, essa quantidade de visitantes irá depender do tipo ou tamanho da área protegida, do tipo de solo, da topografia e a quantidade das facilidades turísticas disponíveis (Pires, 2005).

Assim é importante ter o cuidado para não ultrapassar a capacidade de carga turística em uma área protegida, pois pode acarretar uma série de impactos negativos causados pelo excesso de lixo, fogo, pisoteio, depredação de árvores, captura de animais. Todos esses problemas podem ser percebidos durante a visitação das trilhas.

Nem todos os ambientes estão preparados para receber determinados tipos de uso turístico. O uso adequado dessas áreas implica em menores danos ao ambiente e, conseqüentemente, mais tempo de vida dos mesmos. Neste sentido, o Jardim Botânico do Recife busca essa qualidade num modelo de manejo que tenta proteger o fragmento florestal. As prioridades de manejo estão sempre concentradas na diminuição dos riscos dos impactos negativos nas trilhas, através da delimitação da quantidade de pessoas durante a monitoria, com adequação das necessidades humanas dos visitantes às condições reais impostas pelo ambiente natural.

Segundo Vasconcellos (1997), as trilhas interpretativas, quando bem planejadas e implantadas, podem auxiliar o manejo de unidades de conservação, conectando o visitante com o lugar, aumentando a compreensão e apreciação sobre os recursos naturais e culturais protegidos, diminuindo assim as pressões negativas sobre a unidade; provocando mudanças de comportamento, atraindo e engajando as pessoas na tarefa de conservação; aumentando a satisfação do usuário, criando uma impressão positiva sobre a área protegida e a instituição responsável; e ainda influenciando a distribuição dos visitantes, tornando-a planejada e menos impactante.

Para que isso ocorra, uma característica importante da trilha interpretativa é que ela distribua a emoção do visitante durante todo o percurso e incentive-o a apreciar a área visitada como um todo, não tendo como único foco da caminhada seu destino final (Magro & Freixedas, 1998). Nesse sentido, a utilização do conhecimento disponível e a avaliação e o aproveitamento das técnicas existentes

podem enriquecer a interpretação (Vasconcellos, 1997) e auxiliar na definição dos seus objetivos, características e na escolha dos pontos interpretativos.

A notável demanda do público visitante pelas atividades de monitoria em trilhas no JBR serve como uma evidência do importante papel que as áreas florestais protegidas podem desempenhar no processo de conscientização ambiental no meio urbano. A cidade do Recife, assim como outras grandes cidades brasileiras, apresenta uma inegável carência de espaços florestais qualificados para o adequado atendimento ao público interessado em realizar uma trilha monitorada. Nesse contexto, as experiências proporcionadas pelo JBR aos seus visitantes podem surtir um efeito positivo no desenvolvimento e interesse da população em processos de criação, manutenção e qualificação de áreas verdes protegidas na cidade, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida de seus habitantes.

As experiências de conservação do Jardim Botânico do Recife contribuem com a conservação e difusão da importância de manutenção de áreas florestais em meios urbanos devido às suas ações de conscientização e educação ambiental por meio das trilhas ecológicas, dos equipamentos pertencentes ao espaço e dos projetos de revitalização de áreas verdes. Dessa forma, apoiados por essas ferramentas, geram consciência racional sobre o uso dos recursos naturais naqueles que o visitam.

Referências bibliográficas

- Carvalho, L.M. 2001. Áreas verdes da cidade de Lavras/MG: caracterização, uso e necessidade. 115 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Carvalho, M.E.C. 1982. As áreas verdes de Piracicaba. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro .
- SOS Mata Atlântica - Fundação SOS Mata Atlântica. Divulgados novos dados sobre o desmatamento da Mata Atlântica. Disponível em: <http://www.sosma.org.br/17811/divulgados-novos-dados-sobre-o-desmatamento-da-mata-atlantica/>. Acesso em 27 de agosto de 2014.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010. Disponível em <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=32&dados=1>. Acesso em: 26 de Julho de 2014
- Magro, T.C.; Freixêdas, V.M. 1998. Trilhas: como facilitar a seleção de pontos interpretativos. Circular Técnica IPEF, 186: 4-10.
- Melo, A.G.C.; Carvalho, D.A.; Castro, G.C.; Machado, E.L.M. 2011. Fragmentos florestais urbanos. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal, 17: 58-79.
- Pires, P.S. 2005. “Capacidade de carga” como paradigma de gestão dos impactos da recreação e do turismo em áreas naturais. Turismo em Análise, 16(1), 5-28.
- Szymczak, D.A. et al. 2012. Percepção ambiental na gestão de espaços públicos: o caso da Cohab Fernando Ferrari. Revista. Eletrônica de Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, 7(7): 1500-1509.
- Troian, L.C.; Kaffer, M.I.; Muller, S.C.; Troian, V.R.; Guerra, J.; Borges, M.G.; Guerra, T.; Rodrigues, G.G.; Fornecke. 2011. Florística e padrões estruturais de um fragmento urbano, região de Porto Alegre, RS, Brasil. Inheringia, Série Botânica, 66: 5-16.
- Vasconcellos, J.M.O. 1997. Trilhas interpretativas: aliando educação e recreação. In: Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação, Curitiba. Anais... Curitiba: IAP, UNILIVRE, Rede PRÓ-UC, 1: 465-477.

Variação de nicho grinelliano em uma espécie disjunta neotropical

Jefferson Rodrigues Maciel^{1,2}

Resumo (Variação de nicho grinelliano em uma espécie disjunta neotropical) Neste trabalho nós tivemos como objetivo realizar uma análise da sobreposição de nicho de uma espécie disjunta entre a Floresta Atlântica e Amazônica. A intenção dessa análise é saber se os pólos de disjunção apresentam nichos diferentes ou se são similares. Os dados da ocorrência de *Aechmea mertensii* (G.Mey.) Schult. & Schult.f. foram coletados em levantamentos de herbários, plotados no DIVA-GIS e as informações climáticas de cada amostra foram extraídas da base de dados do WorldClim com resolução de 5 minutos. Com esses dados foi realizada uma análise de componentes principais, uma análise de distância euclidiana simples com o método UPGMA e uma análise MRPP. Os resultados mostraram que embora sendo influenciados pela temperatura média do trimestre mais quente e a temperatura média anual, ambos os pólos de disjunção são explicados por conjuntos de variáveis distintas. A altitude influencia a variação das amostras atlânticas enquanto a sazonalidade da precipitação e a precipitação do trimestre mais quente influenciam a variação das amostras amazônicas. A diferença entre os nichos em ambos os pólos de disjunção também é reforçada pela análise de agrupamento que separou as amostras atlânticas e amazônicas. Este trabalho mostrou o potencial do uso das ferramentas de análise multivariada para comparar similaridades dos nichos da distribuição de uma espécie.

Palavras-chave: Biogeografia, distribuição, análise multivariada

Abstract (Variation of grinellian niche in a neotropical disjunct species) In this work we had as objective to make a niche superposition analysis of a species disjunct between Atlantic and Amazonian Forests. We intended to know if the disjuncts poles show different niches or if they are similar to each other. Occurrence data of *Aechmea mertensii* (G.Mey.) Schult. & Schult.f. was collected from herbaria survey, plotted in DIVA-GIS software and the climatic informations of each occurrence point was extracted from WorldClim database with 5 minutes spatial resolution. These data was used to make a principal components analysis, an euclidian distance analysis using UPGMA method and a MRPP analysis. The results show that variation in each disjunction poles are explained by different sets of climatic variables, even though the Atlantic and Amazonian niches are influenced by mean temperature of warmest quarter and annual mean temperature. Altitude explain the variation in Atlantic samples while precipitation seasonality and precipitation of warmest quarter explain the variation in Amazonian samples. The differences between two niches in each disjunction pole is also reinforced by cluster analyses. This analysis separated Atlantic and Amazonian samples in different groups. This work demonstrated the potential of multivariate tools to compare niche similarities in a species range distribution.

Keywords: Biogeography, distribution, multivariate analysis

Introdução

Desde o século XIX pesquisadores inferem que o clima influencia a distribuição das espécies. Esse pressuposto forma as bases do nicho grinelliano entendido como os requerimentos abióticos necessários para o estabelecimento e manutenção de uma população de uma espécie em uma área (Grinnell 1917, 1924). Este conceito serve como fundamento para os estudos autoecológicos e fisiológicos (Guisan & Thuiller 2005).

Em estudos biogeográficos, assume-se que o nicho grinelliano é constante e estável ao longo do tempo e espaço (Pearman *et al.* 2008), mas evidências recentes da filogenia e modelagem de distribuição de espécies têm demonstrado que nem sempre a conservação de nicho é regra

(Broenniman *et al.* 2007, Gallagher *et al.* 2010, Petitpierre *et al.* 2012). A conservação do nicho implica que uma espécie se desenvolve sob as mesmas condições ambientais mesmo que ela amplie sua distribuição (Broennimann *et al.* 2007). Enquanto alguns autores sugerem que espécies invasoras tendem a mudar seu nicho ambiental nas novas regiões ocupadas (Broenniman *et al.* 2007, Gallagher *et al.* 2010), outros levantam a questão de que esses padrões são raros entre as plantas terrestres (Petitpierre *et al.* 2012).

Os trabalhos de Broennimann *et al.* (2007), Gallagher *et al.* (2010) e Petitpierre *et al.* (2012) têm avaliado apenas cenários temperados no Hemisfério Norte e é necessário aprofundar os estudos com espécies

¹Prefeitura da Cidade do Recife, Jardim Botânico do Recife, Km 7,5 da BR 232, s/n, Curado, 50000-230, Recife, PE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV-UFPE), Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil.

neotropicais para verificar se os processos conhecidos para região temperada também são similares no Neotrópico. Também vem sendo debatido qual técnica é mais apropriada para abordar a sobreposição de nicho (Jeschke & Strayer 2008, Pearman *et al.* 2008, Mandle *et al.* 2010, Broennimann *et al.* 2012).

Em um dos poucos trabalhos realizados em região tropical, Mandle *et al.* (2010) usou *Impatiens walleriana* como modelo para testar as diferenças entre a abordagem de comparação direta de nicho e a modelagem de nicho na detecção de expansão de habitat em áreas invadidas. Os autores concluíram que foi possível detectar um padrão de mudança de nicho nas áreas ocupadas durante o processo de invasão quando usada a metodologia de modelagem de distribuição. Por outro lado o padrão de expansão de nicho não foi verificado através de uma avaliação direta dos habitats naturais e invadidos (Mandle *et al.* 2010).

Até agora a preocupação de conhecer esses padrões tem se restringido às espécies exóticas invasoras, mas o que dizer das espécies disjuntas: será que seus nichos grinellianos conservam características similares em ambos os pólos de disjunção? É possível detectar algum padrão de sobreposição de nicho ou diferenciação usando ferramentas de análise multivariada?

Nesse trabalho nós analisamos a distribuição de *Aechmea mertensii* (G.Mey.) Schult. & Schult.f. uma espécie neotropical disjunta entre a Floresta Atlântica e Amazônica com o objetivo de entender se há diferenças nos nichos grinellianos entre os dois pólos de disjunção.

Materiais e métodos

Espécie estudada

Aechmea mertensii é uma espécie da família Bromeliaceae, nativa e com ampla distribuição na América do Sul. Ocorre na Floresta Amazônica da Bolívia, Colômbia, Peru, Venezuela, Guiana Francesa, Suriname e Guiana. De forma disjunta, ela também é encontrada na Floresta Atlântica da Paraíba à Bahia (Smith & Downs 1979, Leme & Siqueira-Filho 2006).

A espécie é uma epífita obrigatória ocorrendo sobre dosséis em associações com ninhos de formiga, numa relação relativamente bem conhecida de mutualismo (Céréghino *et al.* 2011, Carrias *et al.* 2012, Leroy *et al.* 2012). Além das formigas outras espécies de plantas também se desenvolvem no emaranhado de raízes que os indivíduos desta espécie formam (Smith & Downs 1979, Leme & Siqueira-Filho 2006).

Coleta de dados

Os dados de distribuição da espécie foram coletados nos herbários ALCB, ASE, CEPEC, EAC, HRB, HUEFS, IAN, INPA, IPA, JPB, MBML, MIRR, MPEG, NY, PEUFR, RB, UFP, UFRN, UFRR, US e VIES. Algumas informações foram complementadas com dados disponíveis em bases virtuais.

A ocorrência da espécie foi plotada no Diva-GIS e os dados climáticos foram extraídos do WorldClim (Hijmans *et al.* 2005). Dessa análise foram selecionadas oito variáveis ambientais independentes, as quais foram utilizadas para comparação dos nichos das amostras atlânticas e amazônicas. As variáveis são temperatura média anual, sazonalidade da temperatura (desvio padrão *100), variação anual da temperatura, temperatura média do trimestre mais quente, sazonalidade da precipitação (Coeficiente de Variação), precipitação do trimestre mais quente, precipitação do trimestre mais frio e altitude.

Análise dos dados

Os dados coletados foram organizados em uma matriz retangular onde os registros de ocorrência foram considerados como as amostras e as variáveis ambientais como descritores. A matriz foi padronizada pelo algoritmo *ranging* usado no FITOPAC 2.0 e posteriormente usada na Análise de Componentes Principais (PCA) a fim de se obter a possível formação de grupos ou sobreposição dos nichos representados pelos registros de ocorrência da espécie. Os autovalores das variáveis ambientais foram computados com o objetivo de se obter as variáveis mais explicativas dentro de cada eixo. Esses autovalores foram comparados com o modelo nulo *brokenstick* e aqueles com valores mais expressivos que o modelo nulo foram considerados significativos para a explicação da variação.

A matriz retangular padronizada foi usada também para transformação em uma matriz triangular de distância euclidiana simples e em seguida a mesma foi usada para uma análise de agrupamento usando o método de agrupamento não-pesado com média aritmética (UPGMA) com o programa FITOPAC 2.0. Para verificar a validade dos grupos formados, foi construída uma segunda matriz com a prévia identificação dos grupos recuperados na análise de distância euclidiana e foi realizada uma análise MRPP (Multi Response Permutation Procedure) com o programa PcOrd 4.

Resultados e discussão

O banco de dados resultou em 323 pontos de ocorrência, no entanto foram 255 pontos para a Floresta Amazônica e 68 pontos para a Floresta Atlântica. Os

padrões de distribuição atribuídos para esta espécie por diversos autores foram confirmados neste estudo (Smith and Downs 1979, Leme and Siqueira-Filho 2006).

A análise de componentes principais apresentou uma variância acumulada de 61,4 % nos dois primeiros eixos (Tabela 1). O primeiro eixo explicou 38,4% da variância, enquanto o segundo eixo explicou 22,9% da variância. Os quatro primeiros eixos apresentaram autovalores acima do esperado pelo modelo *brockenstick* (Tabela 1).

O primeiro eixo está correlacionado negativamente com a temperatura média anual e a temperatura do trimestre mais quente e correlacionado positivamente com a altitude (Tabela 2). Por outro lado o segundo eixo da PCA está mais correlacionado com a sazonalidade da precipitação e a precipitação do trimestre mais quente (Tabela 2, Figura 1). O primeiro eixo explica melhor a variação nas amostras atlânticas da distribuição de *A. mertensii*, já o segundo eixo tem mais influência sobre as amostras amazônicas. No entanto, a maioria das amostras amazônicas está negativamente correlacionada

com o eixo 1 e apresenta uma amplitude de variância muito menor neste eixo do que as amostras atlânticas.

A análise de distância euclidiana simples apresentou correlação cofenética significativa ($cor = 0,7908$) e nela foi possível perceber a formação de três principais grupos (Figura 2). O primeiro grupo foi formado por amostras amazônicas do Peru, Equador, Venezuela e Guiana Francesa, sem nenhum padrão fitogeográfico visualizado. O segundo grupo foi formado por todas as amostras atlânticas e o terceiro grupo foi formado por todas as amostras amazônicas. A análise MRPP confirmou a formação dos grupos com expressiva confiança ($T = -94,87$; $A = 0,26$; $p = 0,0000$), mas o valor de A aponta uma heterogeneidade dentro dos grupos relativamente próxima da esperada pelo acaso.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que existe uma sobreposição de amostras amazônicas e atlânticas, já que a temperatura média do trimestre mais quente e a temperatura média anual influenciam positivamente o nicho das amostras amazônicas e negativamente o nicho das amostras atlânticas. Por outro

Tabela 1. Resultados da análise de PCA realizada com a matriz de variáveis climáticas de cada registro de ocorrência de *Aechmea mertensii*

Eixos	Autovalores	Variância (%)	Variância acumulada	% Variância esperada
AV1	3,074	38,429	38,429	33,973
AV2	1,835	22,935	61,364	21,473
AV3	1,287	16,090	77,454	15,223
AV4	1,056	13,206	90,660	11,057
AV5	0,404	5,050	95,710	7,932
AV6	0,181	2,267	97,977	5,432
AV7	0,160	2,002	99,979	3,348
AV8	0,002	0,021	100,000	1,563

Tabela 2. Valores da correlação entre os eixos mais significativos e as variáveis ambientais usadas na análise de PCA.

Variáveis ambientais	Eixo1	Eixo2	Eixo3	Eixo4
Altitude	0,44	-0,13	-0,02	-0,50
Temperatura Média Anual	-0,54	0,01	0,22	0,00
Sazonalidade da Temperatura	0,28	0,25	-0,36	0,60
Variação Anual da Temperatura	0,20	0,17	0,73	-0,11
Temperatura Média do Trimestre mais Quente	-0,54	0,09	0,13	0,14
Sazonalidade da Precipitação	0,07	0,68	0,11	-0,15
Precipitação do Trimestre mais Quente	0,06	-0,64	0,21	0,19
Precipitação do Trimestre mais Frio	-0,29	-0,01	-0,46	-0,54

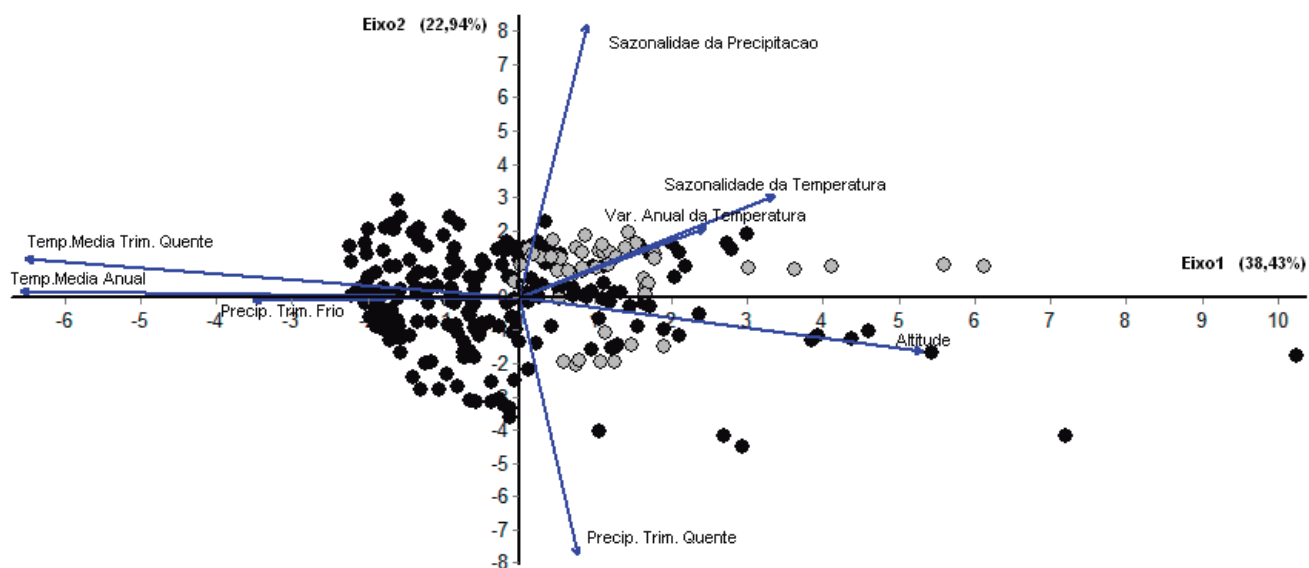


Figura 1. Plotagem dos scores nos dois primeiros eixos da análise de PCA. Os círculos pretos são amostras amazônicas e os círculos cinzas são amostras atlânticas.

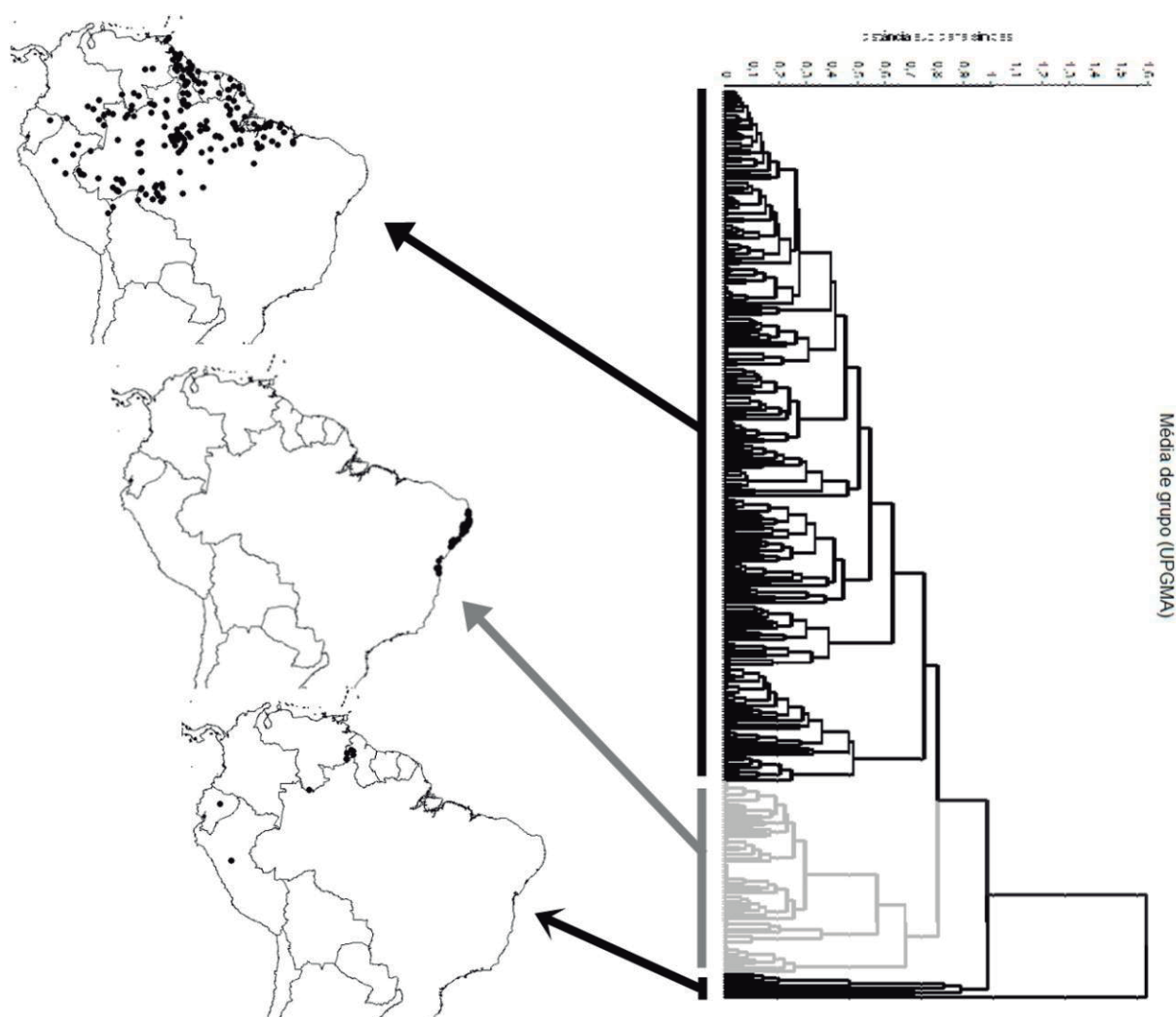


Figura 2. Grupos formados na análise de distância euclidiana com o método UPGMA e seus respectivos padrões de distribuição.

lado a análise de PCA revela que os nichos grinellianos em ambos os pólos de disjunção de *Aechmea mertensii* não são explicados pelo mesmo conjunto de variáveis. As amostras amazônicas variaram essencialmente sobre o eixo 2 sendo influenciadas pela sazonalidade da precipitação e pela precipitação do trimestre mais quente, enquanto as amostras atlânticas têm seus nichos mais explicados pela variação de altitude.

A sobreposição parcial dos nichos entre a Floresta Atlântica e Amazônica era esperada e fundamentada vastamente na literatura como uma causa da similaridade biótica e abiótica desses dois blocos de massas vegetacionais tropicais úmidas (Morrone 2010, Daly and Mitchell 2000). Além disso, a própria diversidade climática e altitudinal encontrada na Venezuela, Guiana Francesa e Guyana explicaria essa aproximação de algumas amostras amazônicas com amostras atlânticas (Cheng *et al.* 2013, Daly & Mitchell 2000, Granville 1982, Steyermark 1982). Por outro lado a característica geomorfológica da Floresta Atlântica com o relevo mais acidentado e os típicos mares de morros (Ab'Sáber 2003) mostra o motivo da altitude ter influenciado mais a explicação da variância nas amostras atlânticas.

A diferença entre os nichos grinellianos amazônicos e atlânticos foi reforçada pela análise de distância euclidiana (Figura 2). Os dois maiores grupos formados, um por amostras atlânticas e outro por amostras amazônicas, apresentaram um índice de distância muito grande no nó basal de separação (0,80) e a análise de MRPP apontou uma consistência real nesses grupos (Figura 2).

A diferenciação e ampliação de nichos foi identificada por Broennimann *et al.* (2007) para *Centaurea maculosa*. Gallagher *et al.* (2010) identificou o mesmo padrão em 20 espécies dentre 26 analisadas. Nos casos citados os autores tratavam de espécies invasoras e comparavam o nicho natural das espécies com os novos habitats ocupados pela invasão. Aqui comparamos o nicho natural da espécie em dois pólos de disjunção e encontramos que mesmo com algum grau de sobreposição é possível encontrar variáveis distintas explicando as características do nicho em cada pólo. Dessa forma, ainda é possível traçar uma correlação entre nossos achados e os dos autores citados muito embora os trabalhos citados tenham tratado de espécies exóticas e usado técnicas e métodos diferentes dos usados aqui.

A evidência de que os pólos de disjunção de *A. mertensii* apresentam algum grau de individualização é incoerente com a proposta de Petitpierre *et al.* (2012) de que a mudança de nicho é rara entre espécies terrestres de plantas. Mas é necessário reforçar que a própria análise de Petitpierre *et al.* (2012) foi questionada e consequentemente o alcance das suas conclusões foi

colocado em dúvida (Webber *et al.* 2012). Finalmente, nossos dados apontam que uma espécie com distribuição disjunta pode ter nichos diferenciados nos pólos de disjunção e ao se conhecer a história evolutiva da espécie pode se pressupor em que sentido se deu a expansão do nicho.

Em relação à ferramenta de estatística multivariada fica aqui clara a potencialidade desta abordagem na busca por sobreposição de nichos. Mesmo considerando os pontos fracos das técnicas de ordenamento em estudos de dinâmica de nicho, Broennimann *et al.* (2012) propôs um sistema estatístico que inclui a análise de PCA com dois tipos de calibração para avaliar a sobreposição de nichos. Por sua vez, Mandle *et al.* (2012) usou comparação simples e direta combinada com modelagem para avaliar a expansão de nicho em *Impatiens walleriana*. Mesmo assim, as técnicas de modelagem e filogenia ainda são hegemônicas em relação às outras ferramentas nos estudos de dinâmica de nicho em espécies e grupos de espécies (Guisan & Thuiller 2005, Broennimann *et al.* 2007, Pearman *et al.* 2008, Gallagher *et al.* 2010).

Por fim, muito embora a análise apresentada aqui seja preliminar e apenas uma exploração inicial dos dados, ficou evidente o potencial para identificar a sobreposição de nicho entre as amostras da Amazônia e da Floresta Atlântica usando análises de ordenamento e agrupamento. Mesmo assim qualquer avanço na questão implicará a adição de mais ferramentas, principalmente a modelagem de nicho.

Referências bibliográficas

- Ab'Sáber, A. 2003. Os domínios de natureza no Brasil. Ateliê Cultural, São Paulo. 160p.
- Broennimann, O.; Fitzpatrick, M.C.; Pearman, P.B.; Petitpierre, B.; Pellissier, L.; Yoccoz, N.G.; Thuiller, W.; Fortin, M.- J.; Randin, C.; Zimmermann, N.E.; Graham, C.H. & Guisan, A. 2012. Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. *Global Ecology and Biogeography* 21: 481–497. doi: 10.1111/j.1466-8238.2011.00698.x.
- Broennimann, O.; Treier, U.A.; Müller-Schärer, H.; Thuiller, W.; Peterson, A.T. & Guisan, A. 2007. Evidence of climatic niche shift during biological invasion. *Ecology Letters* 10: 701–709. doi: 10.1111/j.1461-0248.2007.01060.x.
- Carrias, J.-F.; Brouard, O.; Leroy, C.; Céréghino, R.;

- community structure of a tank-bromeliad. *Basic and Applied Ecology* 13: 698–705. doi: 10.1016/j.baae.2012.10.002.
- Céréghino, R.; Leroy, C.; Carrias, J.-F.; Pelozuelo, L.; Ségura, C.; Bosc, C.; Dejean, A. & Corbara, B. 2011. Ant-plant mutualisms promote functional diversity in phytotelm communities. *Functional Ecology* 25: 954–963. doi: 10.1111/j.1365-2435.2011.01863.x.
- Cheng, H.; Sinha, A.; Cruz, F.W.; Wang, X.; Edwards, R.L.; D'Horta, F.M.; Ribas, C.C.; Vuille, M.; Stott, L.D. & Auler, A.S. 2013. Climate change patterns in Amazonia and biodiversity. *Nature communications* 4: 1–6. doi: 10.1038/ncomms2415.
- Daly, D.C. & Mitchell, J.D. 2000. Lowland vegetation of tropical South America. In Lentz, D.L. (Ed.). *Imperfect Balance: landscape transformations in the Precolumbian Columbia* University Press, Americas. New York. Pp. 391–454
- Gallagher, R. V.; Beaumont, L.J.; Hughes, L. & Leishman, M.R. 2010. Evidence for climatic niche and biome shifts between native and novel ranges in plant species introduced to Australia. *Journal of Ecology* 98: 790–799. doi: 10.1111/j.1365-2745.2010.01677.x.
- Granville, J.-J. 1982. Rain Forest and xeric flora refuges in French Guiana. In Prance, G.T. (Ed.). *Biological Diversification in the Tropics*. New York: Columbia University Press. Pp. 159–182.
- Grinnell, J. 1917. The niche-relationships of the California Thrasher. *The Auk* 34: 427–433.
- Grinnell, J. 1924. *Geography and Evolution*. Ecology 5: 225–229.
- Guisan, A. & Thuiller, W. 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8: 993–1009. doi: 10.1111/j.1461-0248.2005.00792.x.
- Hijmans, R.J.; Cameron, S.E.; Parra, J.L.; Jones, P.G. & Jarvis, A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965–1978. doi: 10.1002/joc.1276.
- Leme, E.M.C. and Siqueira-Filho, J.A. 2006. Taxonomia de bromélias dos fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco e Alagoas. In: Leme, E.M.C. & Siqueira-Filho, J.A. (Eds.). *Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste - biodiversidade, conservação e suas bromélias*, 1st edition. Andrea Jakobsson Estúdio, Rio de Janeiro. Pp. 191–381.
- Leroy, C.; Corbara, B.; Pélozuelo, L.; Carrias, J.-F.; Dejean, A. & Céréghino, R. 2012. Ant species identity mediates reproductive traits and allocation in an ant-garden bromeliad. *Annals of Botany* 109: 145–52. doi: 10.1093/aob/mcr253.
- Mandle, L.; Warren, D.L.; Hoffmann, M.H.; Peterson, A.T.; Schmitt, J. & von Wettberg, E. J. 2010. Conclusions about niche expansion in introduced *Impatiens walleriana* populations depend on method of analysis. *PloS One* 5: e15297. doi: 10.1371/journal.pone.0015297.
- Morrone, J.J. 2010. América do Sul e geografia da vida: comparação de algumas propostas de regionalização. In: Carvalho, C.J.B. de and Almeida, E.A.B. de (Eds.). *Biogeografia da América do Sul*. Roca, São Paulo. Pp. 14–40.
- mediates reproductive traits and allocation in an ant-garden bromeliad. *Annals of Botany* 109: 145–52. doi: 10.1093/aob/mcr253.
- Pearman, P.B.; Guisan, A.; Broennimann, O. & Randin, C.F. 2008. Niche dynamics in space and time. *Trends in Ecology & Evolution* 23: 149–158. doi: 10.1016/j.tree.2007.11.005.
- Petitpierre, B.; Kueffer, C.; Broennimann, O.; Randin, C.; Daehler, C. & Guisan, A. 2012. Climatic niche shifts are rare among terrestrial plant invaders. *Science* 335: 1344–1348. doi: 10.1126/science.1215933.
- Smith, L.B. & Downs, R.J. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica* 14: 1493–2142.
- Steyermark, J.A. 1982. Relationships of some Venezuelan forest refuges with Lowland Tropical Floras. In: Prance, G.T. (Ed). *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, Pp. 182–220.
- Webber, B.L.; Le Maitre, D.C. & Kriticos, D.J. 2012. Comment on “Climatic niche shifts are rare among terrestrial plant invaders”. *Science* 338: 193; author reply 193. doi: 10.1126/science.1225980.

Atividade antibacteriana de preparações de folhas de *Moringa oleifera* contendo inibidor de tripsina

Maiara Celine de Moura¹, Raissa Marques Mendonça¹, Patrícia Maria Guedes Paiva¹, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho¹

Resumo (Atividade antibacteriana de preparações de folhas de *Moringa oleifera* contendo inibidor de tripsina) As plantas usadas na medicina popular têm sido aceitas, atualmente, como uma fonte importante no descobrimento e desenvolvimento de drogas contra bactérias. A resistência de microorganismos aos antibióticos sintéticos tem se tornado um problema de saúde pública. Estudos têm demonstrado potenciais farmacológicos de *M. oleifera*. O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de preparações de folhas de *M. oleifera* sobre bactérias patogênicas (*Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*). A concentração mínima inibitória (CMI) e mínima bactericida (CMB) foram determinadas. Em adição, a presença de lectinas e moléculas inibidoras de tripsina nas preparações também foram determinadas. Extrato de folhas (EF) foi obtido após homogeneização de pó das folhas (10 g) com NaCl 0,15 M (100 ml). Após tratamento com sulfato de amônio (0-20%, 20-40%, 40-60% e 60-80%) obteve-se as frações proteicas F₀₋₂₀, F₂₀₋₄₀, F₄₀₋₆₀ e F₆₀₋₈₀, respectivamente. EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀ apresentaram atividade antibacteriana *in vitro* contra *S. enteritidis*, *S. aureus*, *E. coli*, e *E. faecalis*; enquanto que F₄₀₋₆₀ e F₆₀₋₈₀ não foram ativas contra as bactérias avaliadas. *K. pneumoniae* foi resistente a todas as preparações. Apresentaram atividade inibidora de tripsina preparações que demonstraram efeito frente às bactérias (EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀) desde que a atividade inicial da tripsina (113 mU/ml) foi reduzida para 11, 34 e 71 mU/ml na presença de EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀, respectivamente. Esses resultados indicam que preparações de folhas de *M. oleifera* apresentam atividade antibacteriana e que a atividade inibidora de tripsina presente nas preparações ativas pode estar envolvida no mecanismo da ação antibacteriano.

Palavras-chave: *Moringa oleifera*, lectinas, inibidor de tripsina

Abstract (Antibacterial activity of preparations from *Moringa oleifera* leaf containing trypsin inhibitor) Currently, plants used in folk medicine have been accepted as an important source in the discovery and development of drugs against bacteria. The resistance of microorganisms to synthetic antibiotics have become a public health problem. Pharmacological studies have demonstrated the potential of *M. oleifera*. The present study aimed to investigate the antibacterial activity of preparations of *M. oleifera* leaves against pathogenic bacteria (*Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Klebsiella pneumoniae*). The minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal (MBC) concentrations were determined. In addition, the presence of lectins and trypsin inhibitory molecules in these preparations were also evaluated. Leaf extract (LE) was obtained after homogenization of leaf powder (10 g) in 0.15 M NaCl (100 ml). After the treatment with ammonium sulphate (0-20%, 20-40%, 40-60% and 60-80%) the protein fractions F₀₋₂₀, F₂₀₋₄₀, F₄₀₋₆₀ and F₆₀₋₈₀ were obtained. EF, F₀₋₂₀ and F₂₀₋₄₀ showed antibacterial activity *in vitro* against *S. enteritidis*, *S. aureus*, *E. coli*, and *E. faecalis*; on the other hand, F₄₀₋₆₀ e F₆₀₋₈₀ were not active against the bacteria evaluated. *K. pneumoniae* was resistant to all samples. Preparations that demonstrated effect against bacteria (EF, F₀₋₂₀ and F₂₀₋₄₀) showed trypsin inhibitory activity; the initial trypsin activity (113 mU/ml) was reduced to 11, 34 and 71 mU/ml in the presence of EF, F₀₋₂₀ and F₂₀₋₄₀, respectively. These results indicated that preparations of *M. oleifera* leaves showed antibacterial activity and the trypsin inhibitory activity present in active preparations may be involved in the antibacterial mechanism of action.

Keywords: *Moringa oleifera*, lectins, trypsin inhibitor

Introdução

Bactérias, organismos procariotos simples, apresentam importância médica desde que causam infecções graves em humanos (Schaechter *et al.*, 2002; Trabulsi, 2005; Cantón *et al.*, 2007; Hennequin & Forestier, 2007). O uso de antimicrobianos sintéticos, tais como metilicina, oxacilina e penicilina, está associado ao

desenvolvimento de cepas resistentes, que aumentam os casos de mortes e doenças debilitantes (Wright, 2012; Gomes *et al.*, 2013); além disso, representam altos custos à saúde pública em todo o mundo (Choffnes *et al.*, 2010).

A resistência bacteriana é um fenômeno genético em que os microorganismos adquirem genes que

¹Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas (CCS), Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, 50670-420, Recife-PE, Brasil.

impedem as ações de drogas (Davies & Davies, 2010). Dentre os mecanismos associados à resistência bacteriana têm-se a produção de enzimas hidrolíticas que desativam os compostos antimicrobianos, a adição de grupos químicos à molécula da droga, a remoção desses compostos por meio de bombas de efluxo e a redução da afinidade do antimicrobiano pela célula-alvo por meio de modificação genética (Davies & Davies, 2010; De Pascale & Wright, 2010; Coyne *et al.*, 2011). Dessa forma, pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de novos antibióticos por fontes naturais têm aumentado (Ramos *et al.*, 2014); tornando-se uma alternativa ao uso de drogas sintéticas comerciais (Fischbach & Walsh, 2009).

Produtos vegetais, como extratos ou seus compostos isolados, apresentam atividade antibacteriana (Costa *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2011; Moura *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2013). Lectinas e inibidores de proteases, envolvidos no mecanismo de defesa das plantas, têm sido descritos como potenciais compostos envolvidos na ação antimicrobiana (Selitrennikoff, 2001). O mecanismo de ação de lectinas antibacterianas envolve ligação específica a ácidos teicóicos e teicurônicos, os peptidoglicanos e lipopolissacarídeos nas paredes das células bacterianas (Ratanapo *et al.*, 2001). Inibidores de proteases, são proteínas que regulam a atividade de enzimas proteolíticas (Liao *et al.*, 2007). De acordo com Li *et al.* (2007), a interação entre inibidores de tripsina e proteínas presentes na membrana celular de bactérias induz alterações na permeabilidade celular, levando o microorganismo à morte.

Moringa oleifera Lam. (família das Moringaceae), nativa do Nordeste da Índia, tem sido objeto de várias pesquisas, devido às suas propriedades industriais e medicinais (Ghebremichael *et al.*, 2005; Suarez *et al.*, 2005). Duas lectinas com atividade antibacteriana, cMoL e WSMoL, foram purificadas e caracterizadas das suas sementes (Santos *et al.*, 2009; Coelho *et al.*, 2009; Luz *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2011). Sashidhara *et al.* (2009) isolaram dois compostos a partir da sua raiz: acetato de aurantiamide e uréia 1,3-dibenzil que podem ser responsáveis por atividades antiinflamatória e analgésica. As flores são empregadas no tratamento de ascite, reumatismo, picadas venenosas e como estimulantes cardíacos (Anwar & Bhanger, 2003; Anwar *et al.*, 2007). Suas folhas são ricas em β -caroteno, proteínas, vitamina C, cálcio e potássio, apresentando atividade antioxidante, além de atividade hipotensiva, hipocolesterolêmica e contra o vírus herpes *simplex* tipo 1 (Faizi *et al.*, 1995; Dillard & German, 2000; Ghasi *et al.*, 2000; Lipipun *et al.*, 2003; Siddhuraju & Becker, 2003; Lako *et al.*, 2007). Adicionalmente, extrato de folhas apresentam atividade

hipoglicêmica, validando assim o seu uso para o tratamento de diabetes mellitus (Jaiswal *et al.*, 2009).

Este trabalho relata a avaliação de preparações de folhas de *M. oleifera* quanto à atividade antibacteriana sobre bactérias patogênicas (*Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*) através da determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e mínima bactericida (CMB). Em adição, a presença de atividade hemaglutinante e inibidora de tripsina nas preparações também foi determinada.

Materiais e métodos

Preparações de folhas de *M. oleifera*

Folhas de *M. oleifera* foram coletadas no *campus* da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, e desidratadas em temperatura ambiente. Após trituração em multiprocessador, o pó das folhas (10 g) foi homogeneizado com NaCl 0,15 M (100 mL) durante 16 h à 4 °C. O homogeneizado foi filtrado em algodão e, após centrifugação (15 min, 4 °C, 9000 g), o sobrenadante correspondeu ao extrato de folhas (EF). Proteínas presentes em EF foram precipitadas pela adição gradual de sulfato de amônio (0-20%, 20-40%, 40-60% e 60-80%), sob agitação constante (4 h, 4 °C), e posterior centrifugação (15 min, 4 °C, 9000 g) (Green & Hughes, 1955). Os precipitados foram solubilizados em água destilada e, após diálise, corresponderam a F₀₋₂₀, F₂₀₋₄₀, F₄₀₋₆₀ e F₆₀₋₈₀.

Dosagem de proteínas

A concentração de proteínas das preparações obtidas (EF, F₀₋₂₀, F₂₀₋₄₀, F₄₀₋₆₀ e F₆₀₋₈₀) foi avaliada segundo Lowry *et al.* (1951) com a utilização da curva padrão de albumina de soro bovino (BSA) com valores compreendidos entre 0 e 500 g.

Atividade antibacteriana de preparações de folhas de *M. oleifera*

Linhagens de bactérias patogênicas *S. enteritidis* (UFPEDA 414), *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 25922), *E. faecalis* (ATCC 6057) e *K. pneumoniae* (ATCC 29665) foram fornecidas pelo Departamento de Antibióticos da UFPE. As culturas estacionárias foram mantidas em Ágar Nutriente (AN) e estocadas a 4 °C. Para a preparação do experimento, as bactérias foram cultivadas em meio Caldo Nutriente (CN) *overnight* à 37 °C sob agitação constante. Para a determinação da concentração

mínima inibitória (CMI), 100 µl de CN foi adicionado em cada poço da placa de microtitulação. Posteriormente, EF (3,95 mg/ml), F₀₋₂₀ (1,68 mg/ml), F₂₀₋₄₀ (2,32 mg/ml), F₄₀₋₆₀ (2,62 mg/ml) e F₆₀₋₈₀ (5,48 mg/ml) foram diluídos sucessivamente em CN a partir do terceiro poço da placa. Do segundo poço em diante foram adicionados 20 µl da cultura bacteriana, 10⁵-10⁶ unidade formadora de colônias (CFU)/ml. O primeiro poço continha apenas CN (controle negativo) e o segundo poço, CN e cultura bacteriana (controle do crescimento 100%). O experimento foi realizado em triplicata e as placas foram incubadas durante 24 h à 37 °C. Após incubação, a densidade ótica a 490 nm (DO⁴⁹⁰) foi medida em espectrofotômetro. CMI foi determinada e correspondeu à menor concentração de cada amostra capaz de promover a redução ≥50 % da DO⁴⁹⁰ em relação ao controle do crescimento 100% (Amsterdam 1996).

A concentração mínima bactericida (CMB) foi determinada a partir do ensaio do CMI. Aliquotas de cada poço onde houve inibição do crescimento foram transferidas para placa de petri contendo meio AN e incubadas por 24 h a 37 °C. CMB correspondeu à menor concentração de cada amostra que apresentou efeito bactericida, ou seja, onde não foi observado crescimento bacteriano a olho nu.

Avaliação da atividade hemaglutinante (AH)

A atividade hemaglutinante foi avaliada em placas de microtitulação, de acordo com Paiva & Coelho (1992) utilizando eritrócitos de coelho tratados com glutaraldeído.

Ensaio da inibição da tripsina bovina por preparações de folhas de *M. oleifera*

Ensaio de inibição da atividade hidrolítica da tripsina foi realizado utilizando 0,1 mg/ml de tripsina bovina (Sigma-Aldrich, USA) em 0,1 M de Tris-HCl pH 8.0 contendo CaCl₂ 0,02 M. Tripsina bovina (5 µl) foi incubada (5 min, 37 °C) com EF, F₀₋₂₀, F₂₀₋₄₀, F₄₀₋₆₀ ou F₆₀₋₈₀ (50 µl; 395, 168,5, 232, 262 e 549 µg de proteínas, respectivamente) em Tris-HCl pH 8.0 (140 µl). Em seguida, o substrato sintético N-benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida (BAPNA) dissolvido em dimetil sulfoxido foi adicionado (5 µl) e a mistura foi incubada (30 min, 37 °C). Foram realizados controles da amostra (ausência da enzima e substrato), do substrato (ausência da enzima e inibidor) e enzima 100% (ausência do inibidor). A hidrólise do substrato foi medida na absorbância a 405 nm e a atividade inibitória foi calculada pela atividade residual da enzima em presença da preparação inibidora, considerando 100% a atividade determinada na ausência do inibidor. Uma

unidade de atividade da tripsina foi definida como a quantidade de enzima capaz de hidrolisar 1 µmol de BAPNA por min sob condições estabelecidas.

Resultados e discussão

Concentrações mínima inibitória (CMI) e mínima bactericida (CMB) foram determinadas para as preparações ativas de folhas de *M. oleifera* (Tabela 1). Os resultados indicam que EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀ apresentaram atividade antibacteriana in vitro contra as bactérias patogênicas humanas gram-negativas (*S. enteritidis* e *E. coli*) e gram-positivas (*S. aureus* e *E. faecalis*). F₄₀₋₆₀ e F₆₀₋₈₀ não foram ativas contra as bactérias avaliadas. EF foi capaz de inibir o crescimento de *S. enteritidis*, *S. aureus*, *E. coli* e *E. faecalis* e apresentou efeito bactericida apenas para *S. aureus* (CMB de 3,95 µg/ml). F₀₋₂₀ apresentou efeito bacteriostático para *S. enteritidis* e *S. aureus*, com maior eficiência para *S. aureus* (CMI de 1,68 µg/ml) sendo capaz de abolir o crescimento de *S. enteritidis* na CMB de 26,3 µg/ml. F₂₀₋₄₀ foi ativa apenas frente à *S. aureus* (CMI de 1,31 µg/ml) e não apresentou efeito bactericida contra nenhuma cepa testada. *K. pneumoniae* foi resistente a todas as preparações.

Tabela 1: Atividade antibacteriana de preparações de folhas de *M. oleifera*.

Bactérias	Extrato (EF)		Fração 0-20 %		Fração 20-40 %	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Salmonella enteritidis</i> (-)	1,97	ND	6,60	26,3	ND	---
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	1,97	3,95	1,68	ND	1,31	ND
<i>Escherichia coli</i> (-)	3,95	ND	ND	---	ND	---
<i>Enterococcus faecalis</i> (+)	3,95	ND	ND	---	ND	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (-)	ND	---	ND	---	ND	---

(+) Bactéria Gram-positiva. (-) Bactéria Gram-negativa. ND: atividade não detectada (---) não avaliado. Os valores de CMI e CMB são expressos em µg/ml de proteínas.

Nas plantas, muitas proteínas antimicrobianas estão envolvidas no mecanismo de defesa e exibem potencial uso como antibióticos naturais (Ye & Ng, 2001; Doughari, 2006). Extrato de cascas do tronco e folhas de *Tamarindus* indica apresentaram atividade frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas; extrato da casca apresentou maior atividade inibitória frente *S. paratyphi*, *Shigella flexneri*, *S. aureus* e *B. subtilis* (CMI de 8 mg/ml) e atividade bactericida diante de todas as cepas testadas (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *Streptococcus pyogenes*). Valores de CMI e CMB para o extrato das folhas foram maiores para todas as bactérias (Doughari, 2006). Sá et al. (2009) detectaram atividade

antibacteriana em extrato bruto e fração protéica do cerne de *Myracrodruon urundeuva* contra as espécies *B. subtilis*, *Corynebacterium callunae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. faecalis*. Extrato aquoso (MoE) e fração de proteínas precipitadas (MoPF) de flores de *M. oleifera* foram ativos contra bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Salmonella enteritidis*) e Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*). CMI de 0,023 e 0,018 mg/mL, e CMB de 0,366 e 0,297 mg/mL, obtidas respectivamente para MoE e MoPF, revelaram que ambas as preparações foram mais fortemente ativas contra *E. coli* (Moura *et al.*, 2010).

Os valores de CMI e CMB das preparações de folhas de *M. oleifera* obtidas indicam que as mesmas contêm diferentes agentes antibacterianos. Preparações antibacterianas com atividade não-específica constituem os mais eficientes antibacterianos por agirem em diferentes bactérias (De Souza *et al.*, 2003); ou seja, esses compostos são considerados de amplo espectro por serem ativos contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Doughari, 2006).

Com o objetivo de identificar compostos que possam ser responsáveis pela atividade antibacteriana das preparações ativas de folhas de *M. oleifera* foram avaliadas a atividade hemaglutinante para detecção de lectinas e o efeito das preparações sobre a tripsina bovina a fim de investigar a presença de inibidores de tripsina. EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀ não continham lectina, uma vez que não foi observada aglutinação dos eritrócitos de coelho em todas as preparações. Por outro lado, preparações de folhas de *M. oleifera* contêm inibidor de tripsina, uma vez que a atividade hidrolítica inicial da tripsina (113 mU/mL) foi reduzida para 11, 34 e 71 mU/mL na presença de 50 µg de proteína de EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Avaliação da atividade da tripsina bovina na presença das preparações de folhas de *M. oleifera* (EF, F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀)

Preparação inibidora	Atividade da tripsina(mU/ml)
—————	113
EF	11
Fração 0-20%	34
Fração 20-40%	71

Esses dados sugerem que EF contém diferentes moléculas capazes de inibir a tripsina, que não foram precipitadas com o tratamento com sulfato de amônio em 0-20% e, principalmente em 20-40%, já que EF causou maior diminuição na atividade de tripsina em relação a F₀₋₂₀ e F₂₀₋₄₀. Em adição, esse resultado explica o diferente espectro de ação antibacteriano entre as preparações e sugere que a maior ação antibacteriana de EF frente às bactérias testadas

se refere à maior quantidade de moléculas capazes de inibir a atividade da tripsina. A atividade antibacteriana de inibidores de proteases tem sido descrita (Ngai & Ng, 2004; Kim *et al.*, 2005) e ocorre devido à inibição de enzimas proteolíticas envolvidas em diversos processos fisiológicos das bactérias ou através da interação desses inibidores e proteínas de membrana das bactérias, levando a alterações da permeabilidade celular, induzindo a morte dos microorganismos (Kim *et al.*, 2009). De acordo com Moura *et al.* (2010), a atividade antibacteriana de MoE e MoPF pode estar relacionada com a presença de inibidores da atividade da tripsina bovina, uma vez que a atividade da tripsina (425 mU/ml) foi reduzida a 125 mU/ml e 212 mU/ml, respectivamente.

Concluimos que preparações de folhas de *M. oleifera* inibiram e mataram bactérias Gram-negativas e Gram-positivas; a diferente especificidade entre o extrato e as frações de proteínas precipitadas sobre bactérias sugere que esta planta contém diferentes agentes antibacterianos. Por fim, a atividade inibidora de tripsina presente nas preparações ativas pode estar envolvida no mecanismo da ação antibacteriano.

Referências Bibliográficas

- Amsterdam, D. 1996 . Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In Lorian, V.(Ed.). Antibiotics in laboratory medicine. Williams & Wilkins, Baltimore. Pp. 52-111.
- Anwar, F.S.; Latif, S.; Ashraf, M.; Gilani, A.H. 2007. *Moringa oleifera*: A food plant with multiple biochemical and medicinal uses, a review. Phytotherapy Research 21: 17-25.
- Anwar, F.; Bhanger, M.I.; Kazi, T.G. 2003. Relationships of rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. Journal of the American Oil Chemists' Society 80: 151-155.
- Cantón, R.; Unal, S.; Farrell, D. J. 2007. Antibacterial resistance patterns in *Streptococcus pneumoniae* isolated from elderly patients: PROTEKT years 1–5 (1999–2004). International Journal of Antimicrobial Agents 30: 546-550.
- Choffnes, E.R.; Relman, D.A.; Mack, A. 2010. Antibiotic resistance: Implications for global health and novel intervention strategies. Washington: National Academy of Sciences. Pp. 1-474.

- Coelho, J.S.; Santos, N.D.L.; Napoleão, T.H.; Gomes, F.S.; Ferreira, R.S.; Zingali, R.B.; Coelho, L.C.B.B.; Leite, S.P.; Navarro, D.M.A.F.; Paiva, P.M.G. 2009. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. *Chemosphere* 77: 934-938.
- Costa, R.M.P.B.; Vaz, A.F.M.; Oliva, M.L.V.; Coelho, L.C.B.B.; Correia, M.T.S.; Carneiro-da-Cunha, M.G. 2010. A new mistletoe *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin with antimicrobial properties. *Process Biochemistry* 45: 526-533.
- Coyne, S.; Courvalin, P.; Périchon, B. 2011. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 55: 947-953.
- Davies, J.; Davies, D. 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology & Molecular Biology Reviews* 74: 417-433.
- De Pascale, G.; Wright, G.D. 2010. Antibiotic resistance by enzyme inactivation: from mechanisms to solutions. *An European Journal of Chemical Biology* 11: 1325-1334.
- De Souza, M.M.; Bella Cruz, A.; Schuhmacher, M.B.; Kreuger, M.R.O.; Freitas, R.A.; Bella Cruz, R.C. 2003. Métodos de avaliação de atividade biológica de produtos naturais e sintéticos. In Bresolin, T.M.B.; Cechinel Filho, V. (Eds). *Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos* (1. ed.). Itajaí: Univali. Pp. 108-166.
- Dillard, C.J.; German, J.B. 2000. Phytochemicals: Nutraceuticals and human health: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1744-1756.
- Doughari, J.H. 2006. Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 5: 597-603.
- Faizi, S.; Siddiqui B.S.; Saleem R.; Siddiqui, S.; Aftab, K.; Gilani, Anwar-Ul-Hassan. 1995. Fully acetylated carbamate and hypotensive thiocarbamate glycosides from *Moringa oleifera*. *Phytochemistry* 38: 957-963.
- Ferreira, R.S.; Napoleão, T.H.; Santos, A.F.S.; Sá, R.A.; Carneiro-da-Cunha, M.M.C.; Morais, M.M.C.; Morais, M.M.C.; Silva-Lucca, R.A.; Coelho, L.C.B.B.; Paiva, P.M.G. 2011. Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringa oleifera*. *Letters in Applied Microbiology* 53: 186-192.
- Fischbach, M.A.; Walsh, C.T. 2009. Antibiotics for Emerging Pathogens. *Science* 325: 1089-1093.
- Ghasi, S.; Nwobodo, E.; Ofili, J. O. 2000. Hypcholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 69: 21-25.
- Ghebremichael, K.A.; Gunaratna, K.R.; Henriksson, H.; Brumer, H.; Dalhammar, G. 2005. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. *Water Research* 39: 2338-2344.
- Gomes, F.S.; Procópio, T.F.; Napoleão, T.H.; Coelho, L.C.B.B.; Paiva, P.M.G. 2013. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. *Journal of Applied and Microbiology* 114: 672-679.
- Green, A.A.; Hughes, W.L. 1955. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solution of salts and organic solvents. In Colowick S.; Kaplan N. (Eds.). *Methods in Enzymology* (1. ed). New York: Academic Press. Pp. 67-90.
- Hennequin, C.; Forestier C. 2007. Influence of capsule and extended-spectrum beta-lactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion. *Research in Microbiology* 158: 339-347.
- Jaiswal, D.; Rai, P.K.; Kumar, A.; Mehta, S.; Watal, G. 2009. Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 123, 392-396.
- Kim, J-Y.; Park, S-C.; Kim, M-H.; Lim, H-T.; Park, Y.; Hahm, K-S. 2005. Antimicrobial activity studies on a trypsin-chymotrypsin protease inhibitor obtained from potato. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 330, 921-927.
- Kim, J-Y; Park, S-C; Hwang, I.; Cheong, H.; Nah, J-W; Hahm, K-S; Park, Y. 2009. Protease inhibitors from

- plants with antimicrobial activity. *International Journal of Molecular Sciences* 10, 2860-2872.
- Lako, J.; Trenerry, V.C.; Wahlqvist, M.; Wattanapenpaiboon, N.; Sotheeswaran, S.; Premier, R. 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry* 101: 1727-1741.
- Li, J.; Zhang, C.; Xu, X.; Wang, J.; Yu, H.; Lai, R.; Gong, W. 2007. Trypsin inhibitory loop is an excellent lead structure to design serine protease inhibitors and antimicrobial peptides. *The FASEB Journal* 21: 2466-2473.
- Liao, H.; Ren, W.; Kang, Z.; Zhao, X. J.; Du, L. F. 2007. A trypsin inhibitor from *Cassia obtusifolia* Seeds: Isolation, characterization and activity against *Pieris Rapae*. *Biotechnology Letters* 29: 653-658.
- Lipipun, V.; Kurokawa, M.; Suttisri, R.; Taweechotipatr, P.; Pramyothin, P.; Hattori, M.; Shiraki, K. 2003. Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes *simplex* virus type 1 infection in vitro and in vivo. *Antiviral Research* 60: 175-180.
- Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.; Lewis, F.; Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275.
- Luz, L.A.; Fonseca, A.B.; Gomes, F.S.; Paiva, P.M.G.; Coelho, L.C.B.B. 2010. Potencial Antibacteriano da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL). In *Encontro Nacional de Moringa*, Aracaju, Sergipe.
- Moreillon, P.; Mermod, N. 2005. Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49: 3847-3857.
- Moura, M.C.; Pontual, E.V.; Gomes, F.S.; Napoleão, T.H.; Xavier, H.S.; Paiva, P.M.G.; Coelho, L.C.B.B. 2011. Preparations of *Moringa oleifera* flowers to treat contaminated water. Daniels, J.A. (Ed.). *Advances in Environmental Research*. New York: Nova Science Publishers, Inc. Pp. 269-285.
- Ngai, P.H.K.; Ng, T.B. 2004. Anapin-like polypeptide from dwarf Chinese white cabbage seeds with translation-inhibitory, trypsin-inhibitory, and antibacterial activities. *Peptides* 25: 171-176.
- Paiva, P.M.G.; Coelho, L.C.B.B. 1992. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). *Applied in Biochemistry and Biotechnology* 36: 113-118.
- Ramos, D.B.M.; Gomes, F.S.; Napoleão, T.H.; Paiva, P.M.G.; Silva, M.D.C.; Coelho, L.C.B.B. 2014. Antimicrobial activity of *Cladonia verticillaris* lichen preparations on bacteria and fungi of medical importance. *Chinese Journal of Biology* 2014: 1-7.
- Ratanapo, S.; Ngamjunyaporn, W.; Chulavatnatol, M. 2001. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae* pv. *mori*. 160: 739-744.
- Sá, R.A.; Gomes, F.S.; Napoleão, T.H.; Santos, N.D.L.; Melo, C.M.L.; Gusmão, N.B.; Coelho, L.C.B.B.; Paiva, P.M.G.; Bieber, L.W. 2009. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. *Wood Science & Technology*, 43: 85-95.
- Santos, A.F.S.; Luz, L.A.; Argolo, A.C.C.; Teixeira, J.A.; Paiva, P.M.G.; Coelho, L.C.B.B. 2009. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. *Process Biochemistry* 44: 504-508.
- Schaechter, M.; Engleberg, N.C.; Eisenstein, B.I.; Medoff, G. 2002. *Microbiologia: Mecanismos das doenças infecciosas*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Selitrennikoff, C.P. 2001. Antifungal proteins. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 2883-2884.
- Siddhuraju, P.; Becker, K. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 15: 2144-2155.
- Suarez, M.; Haenni, M.; Canarelli, S.; Fisch, F.; Chodanowski, P.; Servis, C.; Michielin, O.; Freitag, R.; Sashidhara, K.V.; Rosaiah, J.N.; Tyagi, E.; Shukla, R.; Raghubir, R.; Rajendran, S.M.

Rizvi, S.J.H.; Haque, H.; Singh, V.K.; Rizvi, V. 1992. A discipline called allelopathy. Allelopathy: basic and applied aspects. Allelopathy. 1-10. doi: 10.1007/978-94-011-2376-1_1

Trabulsi, L.R.; Alterthum, F. 2005. Microbiologia. 4^a ed. São Paulo: Atheneu.

Ye, X.Y.; Ng, T.B. 2001. Peptides from pinto bean and red bean with sequence homology to cowpea 10-KDA protein precursor exhibit antifungal, mitogenic, and HIV-1 reverse transcriptase-inhibitory activities. Biochemical and Biophysical Research Communications 285: 424-429.

Wright, G. G. 2012. Antibiotics: A new hope. Chemistry & Biology Perspective. 19: 3-10.

Avaliação do potencial alelopático de *Piper corcovadensis* sobre a germinação de *Lactuca sativa*

Afonso Cordeiro Agra Neto¹, Uilian do Nascimento Barbosa¹, Amanda Lins Bispo Monteiro²

Resumo (Avaliação do potencial alelopático de *Piper corcovadensis* sobre a germinação de *Lactuca sativa*) Metabólitos secundários de plantas ao serem liberados no ambiente interferem de forma positiva ou negativa no desenvolvimento de outras espécies. Tal fenômeno denomina-se alelopatia. A família Piperaceae, é constituída de metabólitos secundários que vêm sendo amplamente estudados. Este trabalho investigou os efeitos alelopáticos do extrato aquoso de *Piper corcovadensis* sobre a germinação de sementes de *Lactuca sativa*. Folhas limpas de *P. corcovadensis*, coletadas no JBR, foram trituradas com água destilada e filtradas, obtendo-se o extrato aquoso (solução-mãe). Este foi acondicionado a 0°C por 72 horas e diluído nas concentrações-testes (10, 20, 30% v/v). Os bioensaios de germinação ocorreram em placas de Petri forradas com dois discos de papel-filtro embebidos com 2 mL de extrato nas suas respectivas concentrações-testes e o controle com água destilada. Em seguida, 25 sementes de *Lactuca sativa* foram distribuídas em cada placa e acondicionadas entre 25° e 28°C. Após 48 horas, avaliou-se a porcentagem de sementes germinadas. De maneira geral, as sementes tiveram sua germinação afetada. No controle, observou-se 92% de germinação. Não houve alteração significativa entre o controle e a concentração à 10%. No entanto, o percentual de sementes germinadas foi reduzido para 42,6 e 48% nas concentrações de 20 e 30% (v/v), respectivamente. Os resultados indicam que *P. corcovadensis* apresenta potencial alelopático contra *L. sativa*, podendo, desta forma, afetar a germinação e o desenvolvimento de espécies em áreas de regeneração.

Palavras-chave: piper, potencial alelopático, germinação.

Abstract (Evaluation of potential allelopathic *Piper corcovadensis* on the germination of *Lactuca sativa*) Plant secondary metabolites to be released into the environment interfere positively or negatively in the development of other species. This phenomenon is called allelopathy. The Piperaceae family, consists of secondary metabolites that have been very investigated. This study investigated the allelopathic effects of aqueous extract of *Piper corcovadensis* on the germination of *Lactuca sativa* seeds. *P. corcovadensis* leaves, collected in JBR, were triturated with distilled water and filtered to obtain aqueous extract (mother-solution). This was placed at 0 ° C for 72 hours and diluted at concentrations-tests (10, 20, 30% v/v). The germination bioassays occurred in Petri plate with two filter paper discs soaked with 2 ml of extract in its respective concentrations-tests and control-distilled water. Subsequently, 25 seeds of *Lactuca sativa* were distributed in each plate and secured between 25 ° and 28 ° C. After 48 hours, was evaluated the percentage of seeds germinated. In general, the seed germination was affected. In the control, it was observed a germination of 92%. There was no significant change between the control and the concentration at 10%. However, the percentage of seeds germinated was reduced to 48 and 42.6% at concentrations of 20 and 30% (v/v), respectively. The results indicate that *P. corcovadensis* has allelopathic potential against *L. sativa* and can thus affect the germination and development of species in regeneration.

Keywords: piper, allelopathic potential, germination

Introdução

Espécies vegetais apresentam interações químicas com outros organismos, através de compostos produzidos por seu metabolismo secundário. Tais compostos são imprescindíveis para a sobrevivência do organismo vegetal, uma vez que podem atuar na atração de polinizadores, defesa contra patógenos e, ainda, em

processos alelopáticos. Nestes últimos, os metabólitos secundários, quando liberados no meio, são capazes de interferir de forma positiva ou negativa sobre o desenvolvimento de diferentes espécies (Almeida. 1988,

Silva *et al.* 2007, Goldfarb *et al.* 2009).

A família Piperaceae, composta por espécies vegetais amplamente distribuídas em regiões de Mata Atlântica (Guimarães. 2013), apresenta uma constituição química com diferentes grupos de metabólitos secundários, como por exemplo terpenos, alcaloides, amidas, compostos

fenólicos, flavonoides, entre outros (Sengupta & Ray. 1987, Parmar *et al.* 1997, Delgado *et al.* 2007). Pesquisas conduzidas com *Piper terrabanum* (Ciccio *et al.* 1994), *Ottonia martiana* (Cunico *et al.* 2006) e *Piper*

¹Prefeitura da Cidade do Recife, Jardim Botânico do Recife, Km 7,5 da BR 232, s/n, Curado, 50000-230, Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois irmãos, CEP: 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil.

hispidinervium (Silva *et al.* 2013) já evidenciaram efeitos alelopáticos promovidos por alguns destes compostos. Estudos desta natureza, que avaliam o potencial alelopático de plantas, são extremamente relevantes, pois podem subsidiar ações de manejo florestal, bem como apontar compostos com potencial de inibição e/ou indução germinativa. Neste sentido, pesquisas com piperaceas ocorrentes no fragmento remanescente de Mata Atlântica que compõe a área do Jardim Botânico do Recife (JBR) tonam-se relevantes e vêm despertando cada vez mais o interesse de pesquisadores da instituição. O presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos alelopáticos do extrato aquoso de folhas de *Piper corcovadensis* sobre a germinação de *Lactuca sativa*.

Materiais e métodos

Coleta do material

A coleta do material foi realizada nas bordas do fragmento remanescente de Mata Atlântica que compreende a área do Jardim Botânico do Recife, Pernambuco, Brasil. As folhas foram escolhidas aleatoriamente, apresentando tamanho heterogêneo.

Obtenção do extrato aquoso de folhas de *P. corcovadensis*

As folhas coletadas de *P. corcovadensis* foram limpas manualmente, pesadas e trituradas com água destilada, na proporção 20% peso/volume. Em seguida, realizou-se a filtração em papel filtro, obtendo-se ao final o extrato aquoso ou solução-mãe. Ao final, o extrato aquoso foi acondicionado em temperatura inferior a 0°C durante 72 horas.

Ensaio de alelopátia

O bioensaio foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Jardim Botânico do Recife. A partir da diluição do extrato aquoso (solução-mãe), obteve-se as concentrações-teste 10, 20 e 30% (v/v). Os testes de germinação foram realizados em quatro tratamentos em triplicata representados pelas concentrações-testes e água destilada como controle. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Em cada repetição foram semeadas 25 sementes de *Lactuca sativa* em placa de Petri (9cm de diâmetro) forrada com papel-filtro. Em seguida, aplicou-se 2mL do extrato aquoso nas respectivas concentrações-teste. O experimento ocorreu nas temperaturas entre 25° e 28°C e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas, foi avaliada a porcentagem de germinação,

considerando germinadas as sementes que apresentaram protusão radicular acima de 2mm. Os dados foram analisados utilizando-se o método da análise de Regressão Linear Simples e comparação de médias através do Teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Resultados e discussão

As sementes de *Lactuca sativa* tiveram seu percentual de germinação afetado à medida que houve elevação nas concentrações-testes (Figura 1). No tratamento controle, observou-se um resultado satisfatório de 92% de germinação. De acordo com o Teste de Tukey à 5 % de probabilidade (Tabela 1), não houve alteração significativa entre o controle e a concentração-teste à 10%. No entanto, o percentual de sementes germinadas foi reduzido significativamente para 42,6 e 48% nas concentrações de 20 e 30% (v/v), respectivamente. Estes resultados indicam um menor potencial alelopático de *P. corcovadensis* quando comparado às espécies *Piperaduncum* e *Piper tectoniifolium*.

Tabela 1. Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa* submetidas às diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas de *Piper corcovadensis*

Concentrações-teste (v/v)	Germinação (%)
0%	92,0a ¹
10%	92,0a
20%	42,6b
30%	48,0b
D.M.S	18,36

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

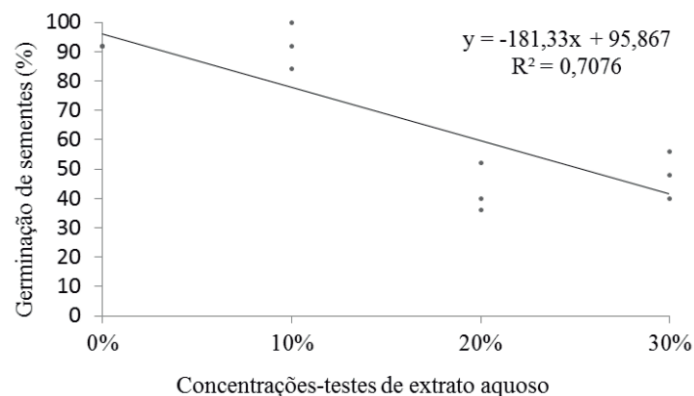


Figura 1. Análise de Regressão Linear simples relacionando a porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa* e diferentes concentrações do extrato aquoso de *Piper corcovadensis*.

Lustosa *et al.* (2008) ao investigarem os efeitos alelopáticos dos extratos aquosos de folhas destas espécies também sobre a germinação de *Lactuca sativa* constataram maior atividade alelopática inibitória, obtendo germinação de 33,7 e 26,3%, respectivamente, para *Piper aduncum* e *Piper tectoniifolium* na concentração à 5% (v/v).

A dinâmica de sucessão em uma determinada vegetação pode sofrer influência de espécies preexistentes a partir de substâncias liberadas por elas no meio (Ferreira & Borghetti. 2004). Estes compostos ao serem liberados no solo, dependendo do tempo de residência, persistência e transformação, podem sofrer ação de microorganismos, e desta forma, aumentar, diminuir ou até finalizar seus efeitos alelopáticos (Ferreira *et al.* 2000). Outro aspecto importante é que tais compostos alelopáticos podem ser utilizados como alternativa ao uso de herbicidas sintéticos, visto que geralmente são mais seletivos, menos tóxicos para o meio ambiente (Chiapusio *et al.* 2004) e são facilmente biodegradados (Rizvi *et al.* 1992).

Os efeitos alelopáticos de *P. corcovadensis* constatados na presente pesquisa apontam para a necessidade de se investigar a possível influência inibitória de espécies da família Piperaceae em áreas de regeneração natural no fragmento de Mata Atlântica que compõem o Jardim Botânico do Recife, e desta forma, subsidiar ações de recuperação e Planos de manejo. Além disto, os resultados sugerem a realização de estudos que avaliem o possível uso alternativo de preparações brutas, fracionadas ou compostos isolados destas espécies como agentes herbicidas em cultivos agrícolas.

Referências bibliográficas

Almeida, F.S.A. 1998. Alelopatia e as plantas. Londrina: Iapar,out. (Circular Técnica,53).

Cunico, M.M.; Dias, J.G.; Miguel, M.D.; Miguel, O.G.; Auer, C.G.; Côcco, L.C.; Lopes, A.R.; Yamamoto, C.I.; Monache, F.D. 2006 Antimicrobial and allelopathic potential of the amides isolated from the roots of *Ottonia martiana* miq., piperaceae. Quimica Nova 29, 746-749. doi: 10.1590/SO100-4 0 4 2 2 0 0 6 0 0 0 4 0 0 0 2 1

Ciccio, J.F. 1996. Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum*. Revista Biologia Tropical 44,507-511.

Chiapusio, G.; Pellissier.; Gallet, C. 2004. Uptake and translocation of phytochemical 2-benzoxazolinone (BOA) in radish seeds and

seedlings. Journal of Experimental Botany 55, 1587-1592. doi: 10.1093/jxb/erh172.

Delgado, W.M.E.; Pachón, M.E.; Celis, A.; Mendoza, C.; Cardona, J.O.; Bustamante, M.; Daza, M.; Cuca, L.E. 2007. Informe técnico de avance proyecto "Bioprospección participativa de comunidades vegetales asociados a la familia Piperaceae en la región del Sumapaz medio bajo occidental". Colciencias-Universidad Nacional de Colombia-Universidad de Cundinamarca. 55 p.

Ferreira, A.G.; Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da Ecofisiologia. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 12, 175-204.

Ferreira, A.G. & Borghetti, F. 2004. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre, Artmed, 324p.

Figueiredo, A.D.L.; Bustamante, K.G.L.; Soares, M.L.; Pimenta, F.C.; Bara, M.T.F.; Fiuza, T.S.; Tresvenzol, L.M.F.; Paula, J.R. 2009. Avaliação da atividade antimicrobiana das partes aéreas (folhas e caules) e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez (Rubiaceae). Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada 30: 193-196.

Goldfarb, M.; Pimentel, L.W.; Pimentel, N.W. 2009. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária 3, 23-28.

Guimarães, E.F.; Carvalho-Silva, M.; Monteiro, D.; Medeiros, E.S. 2013. Piperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil, Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Lustosa, F.L.F.; Oliveira, S.C.C.; Romeiro, L.A. 2007. Efeito alelopático de extrato aquoso de *Piper aduncum* L. e *Piper tectoniifolium* Kunthna na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. Revista Brasileira de Biociências 5, 849-851.

Nakamura, C.V.; Santos, A.O.; Vendrametto, M.C.; Luize, P.S.; Dias-Filho, B.P.; Cortez, D.A.G.; Ueda-Nakamura, T. 2006. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C.DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. Revista brasileira de farmacognosia 16: 61-66. doi: 10.1590/s0102-695x2006000100011.

Parmar, V.S.; Jain, S.C.; Bisht, K.S.; Jain, R.; Taneja, P.;

- Jha, A.; Tyagi, O.D.; Prasad, A.K.; Wengel, J.; Olsen, C.E.; Boll, P.M. 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* 46, 597-673. doi: 10.1016/S0031-9422(97)00328-2 .
- Sengupta, S. & Ray, A.B. 1987. The chemistry of *Piper* species: a review. *Fitoterapia* 58, 147-166.
- Silva, J.E.N.; Melhorança Filho, A.L.; Araújo, M.L.; Silva, R.G.P.O. 2013. Allelopathic effect of *Piper hispidinervium* on initial development of maize (*Zea mays*). *Revista Agrarian* 6, 148-153.
- Silva, J.E.N.; Silva, R.G.P.O.; Melhorança Filho, A.L.; Silva, C.F.C. 2012. Efeito alelopático de pimenta longa (*Piper hispidinervium* c.dc), sobre alface (*Lactuca sativa* L.). *Enciclopédia Biosfera* 8, 423 – 433.
- Souza Filho, A.P.S.; Vasconcelos, M.A.M.; Zoghbi, M.G.B.; Cunha, R.L. 2009. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C.DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. *Acta Amazônica* 39, 389 - 396. doi: 10.1590/S0044 - 59672009000200018.
- Rizvi, S.J.H.; Haque, H.; Singh, V.K.; Rizvi, V. 1992. A discipline called allelopathy. *Allelopathy: basic and applied aspects*. Allelopathy. 1-10. doi: 10.1007/978-94-011-2376-1_1

Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*

Thamara Figueiredo Procópio¹, Bernardo do Rego Belmonte¹, Patrícia Maria Guedes Paiva¹,
Afonso Cordeiro Agra-Neto², Emmanuel Viana Pontual³, Thiago Henrique Napoleão¹

Resumo (Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*) Esse trabalho avaliou os efeitos de um extrato aquoso de folhas de *T. spathacea* na sobrevivência e fisiologia de *S. zeamais*. O extrato foi obtido por maceração das folhas em água destilada. Cada bioensaio consistiu em uma placa de petri contendo vinte insetos adultos e cinco discos compostos por uma mistura de farinha de trigo com o extrato em concentrações de 28,8, 43,2, 57,6 e 72,0 mg/g (mg de extrato/g de farinha de trigo). Água destilada foi usada no controle. Após incubação (7 dias a 28°C), a taxa de sobrevivência, a biomassa adquirida e a quantidade de alimento ingerido foram determinadas. O índice de deterência alimentar (IDA), a taxa de consumo relativo (TCR), a taxa de ganho relativo de biomassa (TGB) e a eficiência na conversão do alimento ingerido (ECAI) foram calculados. O extrato promoveu mortalidade ($18,2 \pm 1,7\%$) significativa ($p < 0,05$) somente na concentração de 72,0 mg/g. Os valores de IDA não indicaram rejeição do alimento e os valores de TCR não foram diferente ($p > 0,05$) do controle. Entretanto, o extrato promoveu dano fisiológico aos insetos. No tratamento a 72,0 mg/g, a TGB e a ECAI foram $-0,016 \pm 0,004$ mg/mg/dia e $-21,8 \pm 6,0\%$, respectivamente, indicando que os insetos perderam peso e não incorporaram a dieta como biomassa. Em conclusão, folhas de *T. spathacea* são fonte de compostos capazes de prejudicar a fisiologia nutricional de *S. zeamais*.

Palavras-chave: *Tradescantia spathacea*, milho, *Sitophilus zeamais*

Abstract (Interference of aqueous extract from *Tradescantia spathacea* leaves with the nutritional physiology of maize weevil, *Sitophilus zeamais*) This work evaluated the effects of aqueous extract from *T. spathacea* leaves on *S. zeamais* survival and physiology. The extract was obtained by maceration of leaves in distilled water and centrifugation. Each bioassay consisted in a petri plate containing twenty adult insects and five disks composed by a mixture of wheat flour and the extract at concentrations of 28.8, 43.2, 57.6 and 72.0 mg/g (mg of extract/g of wheat flour). Distilled water was used in control. After incubation (7 days, 28°C), the survival rate, acquired biomass and amount of ingested food were recorded. Feeding-deterrence index (FDI), relative consumption rate (RCR), relative biomass gain rate (BGR) and efficiency in conversion of ingested food (ECI) were calculated. The extract promoted significant ($p < 0,05$) mortality ($18,2 \pm 1,7\%$) only at 72.0 mg/g. FDI values did not indicate rejection of food and RCR values were not different ($p > 0,05$) from control. However, the extract promoted physiological damage to insects. In treatment at 72.0 mg/g, RGR and ECI were $-0,016 \pm 0,004$ mg/mg/day and $-21,8 \pm 6,0\%$, respectively, indicating that insects lose weight and did not incorporate diet into biomass. In conclusion *T. spathacea* leaves are source of compounds able to damage *S. zeamais* nutritional physiology.

Keywords: *Tradescantia spathacea*, maize, *Sitophilus zeamais*

Introdução

Insetos-praga são aqueles que ocasionam grandes avarias e prejuízos a produtos e recursos agrícolas, podendo causar danos cujos impactos superam o gasto que seria necessário para evitá-los (Buzzi 2005, Salvadori 2009). O controle do ataque de grãos armazenados por insetos envolve uma série de estratégias integradas para assegurar que a qualidade e segurança dos grãos não sejam afetadas em longo prazo. Essas medidas incluem limpeza e secagem dos grãos, manutenção da aeração, regulação da temperatura e, sobretudo, aplicação de inseticidas, os quais

podem apresentar propriedades letal, repelente, deterrente, inibidora de crescimento ou da reprodução e/ou qualquer outra ação que resulte em efeito deletério sobre insetos (Addor 1994, Viegas Júnior 2003). Esses agentes incluem inseticidas de contato, os quais podem ser aplicados na superfície dos silos de armazenamento, ou inseticidas voláteis, que atuam por fumigação (Lazzari *et al.* 2006, Menezes 2005, Pereira *et al.* 2009).

Os principais inseticidas sintéticos utilizados atualmente são malathion, deltametrina e fosfina, sendo a

¹Depart. de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cid. Univ., CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil.

²Prefeitura da Cidade do Recife, Jardim Botânico do Recife, Km 7,5 da BR 232, s/n, Curado, 50000-230, Recife, PE, Brasil.

³Depart. de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-300, Recife, PE, Brasil.

fumigação o método mais usado (Vinha *et al.* 2011). Dentre estes, a fosfina é uma das mais utilizadas e age afetando o sistema nervoso simpático e o metabolismo dos insetos (Nath *et al.* 2011). Contudo, a fosfina é tóxica para humanos, causando diversos efeitos nocivos que vão desde tosse e dores de cabeça até necrose, fraturas e distúrbios motores (Assem e Takamiya 2007).

O crescimento da população mundial e, consequentemente, da demanda por alimentos tem levado ao aumento no uso de grandes quantidades desses pesticidas para proteção de culturas de importância econômica. Entretanto, essa prática aliada à ausência de planejamento adequado para aplicação dos inseticidas, tem resultado em diversos problemas que incluem: morte de insetos polinizadores e outras espécies não-alvo, eliminação de inimigos naturais, seleção e multiplicação de indivíduos resistentes, contaminação residual em alimentos e diferentes formas de poluição ambiental (Abrol e Shankar 2014, Fishel 2014).

Inseticidas naturais extraídos de plantas têm sido considerados como alternativas mais seguras, devido à baixa persistência e ação residual, bem como ao menor nível de toxicidade para espécies não-alvo. Nesse contexto, extratos vegetais são considerados elementos promissores para utilização em estratégias de manejo integrado de pragas.

As espécies do gênero *Sitophilus*, pertencente à Família Curculionidae (Ordem Coleoptera), são cosmopolitas de regiões tropicais que atacam diferentes tipos de grãos, como arroz, trigo, milho, aveia, cevada e sorgo (Gallo *et al.* 2002, Loeck *et al.* 2002, Lorini *et al.* 2008, Fazolin *et al.* 2010). O gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) é ainda capaz de se alimentar de outros produtos como pêssegos, maçã, uva, marmelo e ameixa, além de produtos processados como macarrão e biscoitos (Botton 2005, Fazolin *et al.* 2010). *S. zeamais* é uma praga do tipo primária interna, cuja mandíbula rompe as películas protetoras dos grãos. Os adultos possuem de 3 a 4 mm de comprimento e conseguem acessar grãos em localizações profundas, até mesmo aqueles fortemente comprimidos. A fêmea deposita os ovos dentro dos grãos, onde uma larva se desenvolve e ocorre a pupação e desenvolvimento do novo inseto adulto (Gallo *et al.* 2002).

Tradescantia spathacea, popularmente conhecida

-no-

herbácea perene de caule muito curto nativa do México. É uma planta de grande valor ornamental e pode se multiplicar por meio de suas sementes ou por propagação vegetativa como, por exemplo, enraizamento de estacas. Nesse trabalho nós avaliamos o efeito da ingestão de um extrato aquoso obtido a partir de folhas de *T. spathacea* na sobrevivência e fisiologia nutricional de *S. zeamais* adultos.

Materiais e métodos

Material vegetal e preparação do extrato

Folhas de *T. spathacea* foram coletadas no Jardim Didático do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco. As folhas foram lavadas com água da torneira seguida de água destilada e secas a 28°C durante 7 dias. Em seguida, as folhas (3 g) foram recortadas em peças de aproximadamente 4 cm² e submetidas à maceração manual em água destilada (30 mL). O homogenato foi então filtrado em gaze e papel de filtro e centrifugado (9.000 g, 15 min, 4 °C). O sobrenadante obtido correspondeu ao extrato.

Insetos

Colônias de *S. zeamais* foram mantidas no Laboratório de Bioquímica de Proteínas do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil). As colônias foram mantidas em recipientes de vidro (capacidade de 1 L) cobertos com voal, à temperatura de 28 ± 2°C, 70% de umidade relativa e fotoperíodo de 12:12 claro:escuro. A dieta consistiu em grãos de milho selecionados de acordo com a integridade, condições sanitárias, tamanho, e ausência de contaminação por insetos. Insetos adultos (30 a 60 dias de idade) foram utilizados nos bioensaios.

Bioensaios

Os bioensaios foram realizados segundo uma adaptação do método de Xie *et al.* (1996) descrita por Napoleão *et al.* (2013). Cada bioensaio consistiu em uma placa de petri (90 x 15 mm) contendo cinco discos de uma mistura de farinha de trigo com o extrato de folhas. Para preparação dos discos, 5 mL de uma solução do extrato em determinada concentração foram adicionados a 2 g de farinha de trigo autoclavada. Após homogeneização por 5 min, cada disco foi preparado retirando-se uma alíquota de 200 µL da mistura. As placas foram postas em estufa a 56 °C por 24 h e, em seguida, a massa dos discos foi registrada. Foram avaliadas concentrações de 28,8, 43,2, 57,6 e 72,0 mg/g (mg de extrato/g de farinha de trigo). Ao final, grupos de 20 insetos com peso conhecido foram transferidos para cada placa. Os bioensaios foram realizados em quadruplicata e mantidos a 28 ± 2 °C. No controle negativo foi utilizado água destilada. Após 7 dias de experimento, a taxa de mortalidade e o peso dos discos e dos insetos foram determinados.

O índice de deterrência alimentar (IDA) foi calculado segundo a fórmula: IDA = [100 x (C - T)]/C, onde C corresponde à massa ingerida no controle e T à massa

ingerida no teste. De acordo com os valores de IDA, o efeito da amostra foi classificado como: não-deterrente ($IDA < 20\%$), deterrente fraco ($50\% > IDA \geq 20\%$), deterrente moderado ($70\% > IDA \geq 50\%$) ou deterrente forte ($IDA \geq 70\%$) (Liu *et al.* 2007).

Os seguintes índices nutricionais foram também calculados: Taxa de ganho relativo de biomassa (TGB): (biomassa adquirida) / (biomassa inicial dos insetos x dias); Taxa de consumo relativo (TCR): (massa ingerida)/(biomassa inicial dos insetos x dias). Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI): (biomassa adquirida/massa ingerida) x 100.

Análise estatística

Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos foram calculadas através do Teste de Tukey. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão.

Resultados e discussão

A ingestão do extrato de folhas de *T. spathacea* não resultou na morte dos adultos de *S. zeamais* nas concentrações de 28,8, 43,2, 57,6 mg/g. Já no tratamento com o extrato na concentração de 72,0 mg/g, a taxa de mortalidade ($18,2 \pm 1,7\%$) dos insetos foi significativamente ($p < 0,05$) diferente daquela observada no tratamento controle ($5,0 \pm 0,0\%$). O extrato de *T. spathacea* foi menos eficiente que o extrato de folhas de *Myracrodruon urundeuva*, o qual matou adultos de *S. zeamais* com LC_{50} de 72,4 mg/g (Napoleão *et al.* 2013). Toxicidade por ingestão foi também encontrada para os óleos essenciais de *Eucalyptus saligna*, *Cupressus sempervirens*, *Ocimum gratissimum* e *Xylopiya aethiopica* contra o gorgulho do milho (Ngamo *et al.* 2001, Tapondjou *et al.* 2005) e triterpenos de *Junellia aspera* contra *S. oryzae* (Pungitore *et al.* 2005).

O extrato de *T. spathacea* não apresentou efeito deterrente em nenhuma das concentrações testadas, desde que os valores de IDA obtidos não ultrapassaram 10%. Os efeitos deterrentes de preparações vegetais e compostos sintéticos podem resultar da percepção de algum componente deletério por sensores neuronais associados ao aparelho bucal do inseto (efeito pré-ingestão) ou de um processo de intoxicação (efeito pós-ingestão), o qual pode envolver a inibição de enzimas digestivas. Nesse sentido, pode-se inferir que o extrato de folhas de *T. spathacea* não continha compostos capazes de causar a rejeição da dieta, ou os continha em concentração insuficiente.

O efeito deterrente alimentar de um produto inseticida tem grande potencial em impedir a ação danosa da praga, mas pode ter sua eficácia limitada devido à plasticidade fenotípica dos insetos, que podem se tornar

insensíveis em períodos até mesmo extremamente curtos, tais como dias e horas (Isman 2006).

Apesar de não ter resultado na mortalidade dos insetos durante o período analisado, a ingestão dos discos contendo o extrato induziu distúrbios nutricionais, em todas as concentrações testadas. Os valores de TGB foram negativos (Figura 1A), indicando que houve perda de biomassa pelos insetos. A ECAI variou de -13 a -21,8% (Figura 1B), indicando que o alimento ingerido foi insuficiente para contrabalançar os prejuízos causados. Os valores de TCR não foram significativamente ($p > 0,05$) alterados (Figura 1C), o que está de acordo com a ausência de um efeito de rejeição pré e pós-ingestão.

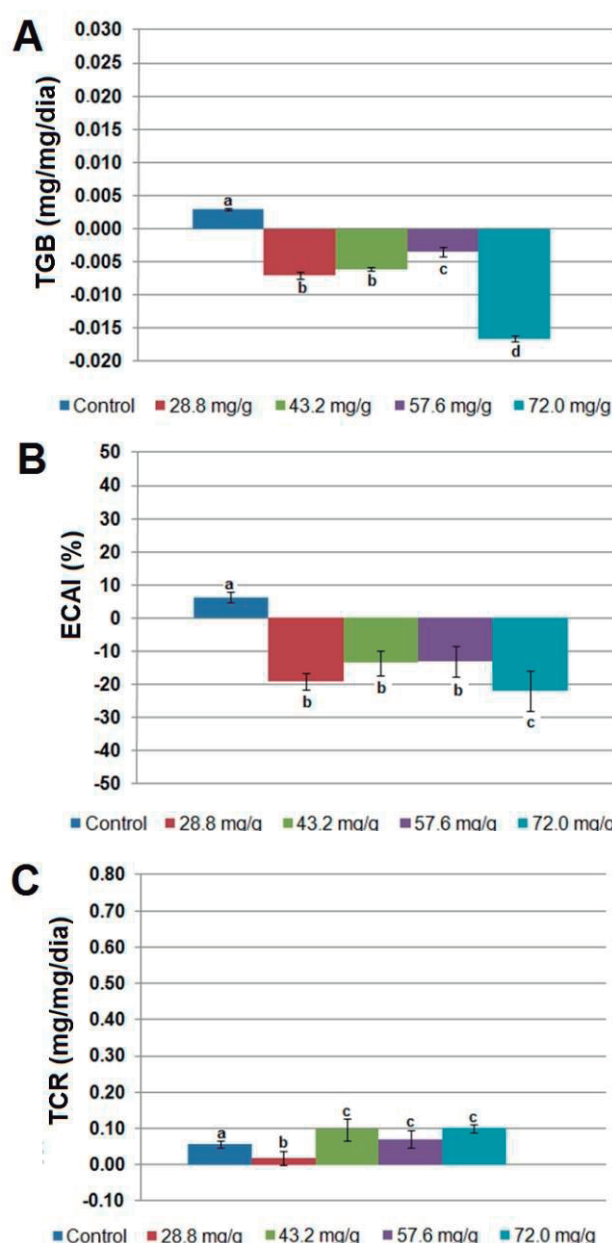


Figura 1. Parâmetros nutricionais de adultos de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo o extrato de folhas de *T. spathacea*. TGB: taxa de ganho relativo de biomassa. ECAI: eficiência de conversão do alimento ingerido. TCR: taxa de crescimento relativo.

Embora o extrato de folhas de *T. spathacea* não tenha causado efeito agudo sobre os insetos, as alterações na fisiologia nutricional detectadas em nosso trabalho sugerem que o extrato pode ser capaz de exercer toxicidade crônica sobre os adultos de *S. zeamais*. Adicionalmente, a ausência de efeito deterrente aqui relatada assegura que a intoxicação pelo extrato não resulta no bloqueio da ingestão e que, portanto, o extrato poderá causar danos acumulativos aos insetos. Similar ao extrato de folhas de *T. spathacea*, o óleo essencial extraído da inflorescência de *Alpinia purpurata* também não causou efeito letal agudo em adultos de *S. zeamais*, mas alterou a fisiologia nutricional dos insetos (Lira et al. 2015).

Em conclusão, o extrato de folhas de *T. spathacea* é fonte de compostos com ação deletéria sobre a fisiologia nutricional de adultos de *S. zeamais*. Distúrbios nutricionais podem causar diversos efeitos em longo prazo em insetos, tais como redução da eficiência reprodutiva e da longevidade, o que pode reduzir consideravelmente os danos causados por uma determinada praga. Os resultados desse trabalho estimulam futuros estudos visando a identificação de princípios ativos do extrato.

Referências bibliográficas

- Abrol, D.P., Shankar, U. 2014. Pesticides, Food Safety and Integrated Pest Management. In: Pimentel, D., Peshin, R. (Eds.). Integrated Pest Management. Pesticide Problems, vol. 3. Springer, New York. Pp. 167-200.
- Addor, R.W. 1994. Insecticides. In: Godfery, C.R.A. (Ed.). Agrochemicals from natural products. Marcel Dekker. Inc., New York. Pp. 1-62.
- Assem, L., Takamiya, M. 2007. Phosphine General information. Institute of Environment and Health, Cranfield University.
- Botton, M., Lorini, I., Loeck, A.E., Afonso, A.P.S. 2005. O gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) como praga em frutíferas de clima temperado. Circular Técnica nº 58. Bento Gonçalves: Embrapa.
- Buzzi, Z. J. 2005. Entomologia didática. 4.ed. Curitiba: Editora UFPR.
- Fazolin, M., Costa, C.R., Damaceno, J.E.O., Albuquerque, E.S., Cavalcante, A.S.S., Estrela, J.L.V. 2010. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 45, p. 1-6.
- Fishel, F.M. 2014. Pesticide effects on nontarget organisms. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Gallo, D. et al. 2002. Entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba.
- Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Reviews in Entomology, v. 51, p. 45-66.
- Lazzari, S.M.N., Karkle, A.F., Lazzari, F.A. 2006. Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em arroz armazenado em silo metálico. Revista Brasileira de entomologia. v. 50, p. 293-296.
- Lira, C.S., Pontual, E.V., Albuquerque, L.P., Paiva, L.M., Paiva, P.M.G., Oliveira, J.V., Napoleão, T.H., Navarro, D.M.A.F. 2015. Evaluation of the toxicity of essential oil from *Alpinia purpurata* inflorescences to *Sitophilus zeamais* (maize weevil). Crop Protection, v. 71, p. 95-100.
- Loeck, A.E. 2002. Pragas de produtos armazenados. EGUFPEL, Pelotas.
- Lorini, I. 2008. Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Embrapa Trigo, Passo Fundo. p.72.
- Napoleão, T.H., Belmonte, B.R., Pontual, E.V.; Albuquerque, L.P.; Sá, R.A.; Paiva, L.M.; Coelho, L.C.B.B; Paiva, P.M.G. 2013. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). Journal of Stored Products Research, v. 54, p. 26-33.
- Nath, N.S., Bhattacharya, I., Tuck, A.G., Schlipalius, D.I., Ebert, P.R. 2011. Mechanisms of phosphine toxicity. Journal of Toxicology, v. 2011, artigo 494168.
- Ngamo, L.S.T., Ngassoum, M.B., Jirovertz, L., Ousman, A., Nukenine, E., Moukala, O.E. 2001 Protection of stored Maize against *Sitophilus zeamais*

(Motsch.) by use of essential oils of species from Cameroon. Medicine Faculty Landbouww, University Gent, v.66, p.473-478

Sustentável, v.1, p. 1-5

Menezes, E.L.A. 2005. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modos de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia.

Xie, M., Hu, J., Long, Y.M., Zhang, Z.L., Xie, H.Y., Pang, D.W. 2009. Lectin-modified trifunctional nanobiosensors for mapping cell surface glycoconjugates. Biosensors and Bioelectronics, v.24, p.1311-1317.

Pereira, C.J., Pereira, E.J.G., Cordeiro, E.M.G., Della Lucia, T.M.C., Tótola, M.R., Guedes, R.N.C., 2009. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. Crop Protection, v.28, p.168-173.

Pontual, E.V., Napoleão, T.H., Assis, C.R.D., Bezerra, R.S.; Xavier, H.S., Navarro, D.M.A.F., Coelho, L.C.B.B., Paiva, P.M.G. 2012. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, v.79, p.135–152.

Pungitore, C.R., García, M., Gianello, J.C., Sosa, M.E., Tonn, C.E. 2005. Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera* (Verbenaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, v.41, p.433-443.

Regnault-Roger, C., Staff, V., Philogène, B., Terrón, P., Vincent, C. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.

Salvadori, J.R.; Lau, D.; Pereira, P.R.V.S. 2009. Cultivo de trigo. Embrapa Trigo, Sistema de Produção.

Tapondjou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H., Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* Du Val. Journal of Stored Products Research, v.41, p.91–102.

Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Química Nova, v.26, p.390-400.

Vinha, M.B., Pinto, C.L.O., Pinto, C.M.F., Souza, C.F., Souza, M.R.M., Oliveira, L.L. 2011. Impactos do uso indiscriminado de agrotóxicos em frutas e hortaliças. Revista Brasileira de Agropecuária



Arrudea

Revista do Jardim Botânico do Recife

Jardim Botânico do Recife
Endereço: Km 7,5 BR 232, s/n
Cidade: Recife-PE - Brasil CEP: 50.791-540
Email: jardimbotanico@recife.pe.gov.br



Secretaria de Meio Ambiente
e Sustentabilidade



RECIFE
PREFEITURA DA CIDADE