

CAPACIDADE ELICITORA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Aristolochia trulliformis*

Eliciting capacity of Aristolochia trulliformis leaf extracts

Capacidad elicitora de extractos de hojas de Aristolochia trulliformis



Revista
Desafios

Artigo Original
Original Article
Artículo Original

Ester Barreiros de Souza ^{*1}, Marleilde dos Santos Castro ¹, Eduardo Oliveira Guilherme ², Gil Rodrigues dos Santos ³, Talita Pereira de Souza Ferreira ⁴, Juliana Cristina Holzbach ⁴

¹Graduanda em Química Ambiental, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brasil.

²Graduando em Eng. de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brasil

³Professor do Colegiado de Agronomia, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brasil

⁴Professora do Colegiado de Ciências Exatas e Biotecnológicas, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brasil.

*Correspondência: Laboratório de Reatividade dos Compostos Orgânicos, Universidade Federal do Tocantins, Rua badejós, s/n, Gurupi, Tocantins, Brasil. CEP:77.404-970. e-mail juholzbach@uft.edu.br.

Artigo recebido em 28/06/2021 aprovado em 26/10/2021 publicado em 03/11/2021.

RESUMO

A espécie *Aristolochia trulliformis* que pertence à família Aristolochiaceae, é conhecida popularmente como jarrinha ou cipó-mil-homens e as folhas da espécie são utilizadas para tratar de problemas estomacais. O objetivo deste trabalho foi obter os extratos de diferentes polaridades das folhas de *A. trulliformis*, verificar possíveis atividades alelopáticas causadas pelo extrato metanólico utilizando sementes de alface da espécie *Lactuvia sativa* e analisar a síntese de substâncias indutoras de resistência a doenças em soja e sorgo. As massas obtidas nos processos de extração foram 2,0 g, 5,2 g, 7,3 g, para os extratos hexânico, acetônico e metanólico, respectivamente. Os resultados obtidos no teste de alelopatia mostraram que concentrações superiores a 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, para raízes, e 2000 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, para plântulas, inibem seus desenvolvimentos. Já no teste de fitoalexina o extrato metanólico induziu efetivamente a produção das biomoléculas principalmente em sementes de sorgo.

Palavras-chave: Alelopatia, fitoalexina, indução.

ABSTRACT

The *Aristolochia trulliformis* species that belongs to the Aristolochiaceae family, is popularly known as jarrinha or cipó-mil-homens and the species' leaves are used to treat stomach problems. The objective of this work was to obtain extracts of different polarities of *A. trulliformis* leaves, verify possible allelopathic activities caused by the methanol extract using *Lactuvia sativa* lettuce seeds and analyze the synthesis of resistance-inducing substances in soybean and sorghum. The special masses in the extraction processes were 2.0 g, 5.2 g, 7.3 g, for the hexane, acetonetic and methanolic extracts, respectively. The results obtained in the allelopathy test that are higher than 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, for roots, and 2000 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, for seedlings, inhibit their development. In the test of phytoalexin or methanolic extract induced produced the production of biomolecules mainly in sorghum seeds.

Keywords: Allelopathy, phytoalexin, induction.

RESUMEN

La especie *Aristolochia trulliformis*, que pertenece a la familia *Aristolochiaceae*, se conoce popularmente como *jarrinha* o *cipó-mil-homens* y las hojas de la especie se utilizan para tratar problemas estomacales. El objetivo de este trabajo fue obtener extractos de diferentes polaridades de hojas de *A. trulliformis*, verificar posibles actividades alelopáticas provocadas por el extracto metanólico utilizando semillas de lechuga de la especie *Lactuvia sativa*, y analizar la síntesis de sustancias inductoras de enfermedades en soja y sorgo. Las masas obtenidas en los procesos de extracción fueron 2.0 g, 5.2 g, 7.3 g, para los extractos hexano, acetónico y metanólico, respectivamente. Los resultados obtenidos en la prueba de alelopatía mostraron que concentraciones superiores a $100 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, para raíces, y $2000 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, para plántulas, inhiben su desarrollo. En la prueba de fitoalexina, el extracto de metanol indujo efectivamente la producción de biomoléculas principalmente en semillas de sorgo.

Descriptores: Alelopatía, fitoalexina, inducción.

INTRODUÇÃO

Segundo o Ministério do Meio Ambiente (2020) o cerrado é o segundo maior bioma nacional explorado e desmatado, por conta da quilometragem que ocupa e por se encontrar em regiões utilizadas para agropecuária, ficando atrás apenas da mata atlântica. Nele é possível encontrar 11.627 de espécies de plantas nativas, sendo 220 consideradas medicinais. No Brasil, a vegetação do cerrado é encontrada nos estados do Maranhão, Tocantins, Pará, Minas Gerais, Paraná, Rondônia, Piauí, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito Federal e São Paulo.

As plantas que fazem parte da família *Aristolochiaceae* são encontradas em regiões tropicais e subtropicais na forma de arbustos, trepadeiras, herbáceas eretas ou curvadas, e geralmente apresentam rizomas e tubérculos, conferindo cerca de 600 espécies já catalogadas (HOEHNE, 1942; GONZÁLEZ, 2012).

A espécie *A. trulliformis*, conhecida popularmente como “jarrinha ou cipó-mil-homens”, é utilizada pela população com o objetivo de combater dores estomacais. Em artigo de Cunha et al. (2020) foram isoladas 16 substâncias das flores de *A. trulliformis*, sendo 7 flavonoides [incluindo o kaempferol-3-*O*- β -glicopiranosil-(6'→1'')-*O*- α -ramnopiranosil-(4''→1''')-*O*- β -glicopiranosídeo], relatado pela primeira vez na literatura, juntamente com 4 lignanas, dentre outros.

Fitoalexinas são substâncias indutoras de resistência das plantas que tem como objetivo a proteção da mesma em ocasiões de estresse oxidativo. A partir da leitura de absorbância, é possível determinar se uma amostra é capaz de induzir a promoção da síntese desses compostos. Tais estudos podem colaborar com a agricultura visto que o aumento da resistência estimula o uso de defensivos naturais eficientes e menos nocivos para o combate de pragas e doenças (VELOSO, 2016). Já a atividade alelopática pode avaliar a presença de metabólitos secundários que são capazes de interferir de forma positiva ou negativa sobre outros organismos como plantas, fungos, algas, insetos (FERREIRA, 2000).

O trabalho em questão tem como objetivo analisar o potencial alelopático sobre *Lactuca sativa* e a capacidade elicitora dos extratos das folhas da *A. trulliformis* em relação a gliceolina e deoxiantocianidinas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e extração

A identificação da planta *A. trulliformis* foi realizada pelo Ms. Joelcio Freitas e depositada no herbário do Museu de Biologia Prof. Mello Leitão, Santa Teresa-ES (número 50516). As folhas foram colhidas, secas e moídas. Em seguida, foi realizado o processo de extração utilizando hexano, acetona e metanol, sucessivamente. Cada solvente foi mantido

em contato com o material vegetal por 24h e três repetições foram feitas para cada solvente. O processo de extração foi realizado utilizando 137,4g de folhas da *A. trulliformis*, resultando em 2,0 g de extrato hexânico, 5,2 g de extrato acetônico e 7,3 g de extrato metanólico. Após esse processo, os extratos foram submetidos ao procedimento de rotaevaporação com temperatura até 40°C para a recuperação dos solventes. O material extraído, quando completamente seco, foi pesado e identificado (extrato hexânico, acetônico e metanólico).

Síntese de substâncias indutoras de resistência de doenças em soja e sorgo causada pelo extrato metanólico

Soja: Primeiramente a soja foi cultivada em bandejas de areia esterilizada. Após 10 dias do plantio, os cotilédones foram destacados, lavados em água destilada e submetidos a pequenos cortes. Em uma placa de Petri, revestida com papel de cultivo umedecido, foram colocados três deles aplicando aos cortes 200 μL de cada concentração feita a partir do extrato metanólico (1,9; 3,75; 7,5; 15,0 e 30,0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Como controle foi utilizado Yantra, responsável por promover a síntese de fitoalexinas (defesa vegetal). As placas permaneceram no escuro à 25°C e depois de 20 horas os cotilédones foram colocados em erlenmeyers contendo 10 mL de água destilada e encaminhados à agitação em centrífuga à 4000 rpm por 1h, para extração das fitoalexinas. Posteriormente as amostras foram submetidas à leitura de absorbância sob o comprimento de onda de 280 nm.

Sorgo: Sementes de sorgo foram esterilizadas com hipoclorito de sódio 1% por 15 min e depois foram lavadas com água destilada. As sementes foram colocadas sobre papéis úmidos de cultivo e mantidas no escuro em temperatura de 25° por quatro dias. Em seguida, seis mesocótilos foram destacados e submersos em 2 mL de cada concentração do extrato

metanólico (1,9; 3,75; 7,5; 15,0 e 30,0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), o mesmo foi feito com Yantra e água destilada. Os tubos foram mantidos sob luz a 25°C durante 60h. Posteriormente, os comprimentos basais foram retirados dos mesocótilos e a parte inferior foi cortada e colocada em outros tubos com 2,8 de metanol 80% acidificado (0,1% HCl; v/v) mantidos assim, por 96h à 4°C. A absorbância foi determinada a 480 nm.

Teste de alelopatia em sementes de alface (*Lactuca sativa*)

Inicialmente 20 placas de Petri foram autoclavadas juntamente com os papéis de germinação e em seguida 1 mL de cada concentração (100, 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$), feita a partir do extrato metanólico, foi adicionada sobre os papéis e esperou-se 24h para que o solvente fosse totalmente evaporado (o controle foi feito apenas com água destilada). Logo após, 15 sementes de alface foram colocadas nas placas e sobre elas adicionados 1 mL de água destilada durante 5 dias. Ao final disso, as raízes e plântulas foram medidas separadamente com o auxílio de um paquímetro para que a análise estatística fosse realizada. A análise estatística foi realizada pelo programa SISVAR, a partir dos valores de média de crescimento das plântulas e raízes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

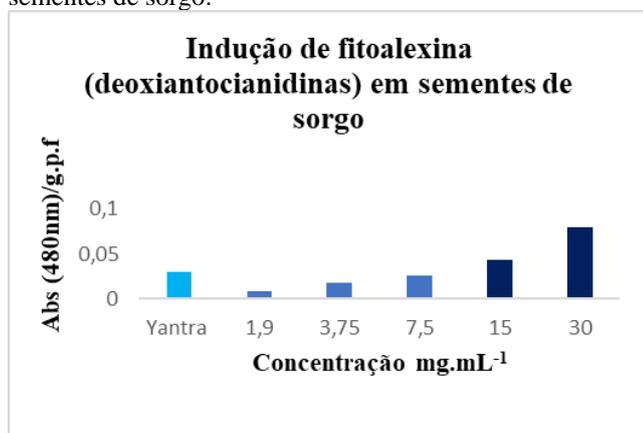
Ao entrar em contato com a planta, as substâncias elicitoras induzem a resistência, uma vez que, as fitoalexinas que surgem com esse processo podem apresentar diferentes formas de proteção contra patógenos.

Nos testes feitos para a promoção de fitoalexinas, tanto em soja (Gliceolina) quanto em sorgo, (deoxiantocianidinas) observou-se um aumento na produção das substâncias indutoras de resistência juntamente com o aumento da concentração do extrato.

O indutor de resistência Yantra, apresentou o valor de absorvância 0,447 de absorvância/g.p.f no teste com soja, e 0,030 de absorvância/g.p.f com sorgo.

Em relação ao gráfico 1 (teste com o sorgo) percebe-se que a partir de 15 mg.mL⁻¹ o extrato possui um potencial indutor bem acima do promotor de crescimento, sendo 30,2% mais eficiente, dando um grande salto quando se trata da concentração de 30 mg.mL⁻¹ com melhora de 62,5%.

Gráfico 1. Indução de fitoalexina (deoxiantocianidinas) em sementes de sorgo.



Já no gráfico 2 (soja) é possível perceber que desde a primeira concentração, há um aumento na produção de fitoalexinas com a presença do extrato, quando compara-se com o indutor Yantra, sendo a primeira concentração (1,9 mg.mL⁻¹) 63,83% mais eficiente e a última (30 mg.mL⁻¹) 73,83%. Na área agrônômica esses resultados são bastante promissores pois é possível aumentar a resistência da planta sem prejudicá-la, e então, aplicar defensivos naturais mais eficientes e menos nocivos às plantas, ao ecossistema e de menor contaminação dos alimentos.

Os testes para a verificação de atividade alelopática são capazes de avaliar a presença de metabólitos secundários que podem ter efeito positivo ou negativo sobre o organismo estudado, em termos de desenvolvimento.

Gráfico 2. Indução de fitoalexina (gliceolina) em cotilédones de soja.

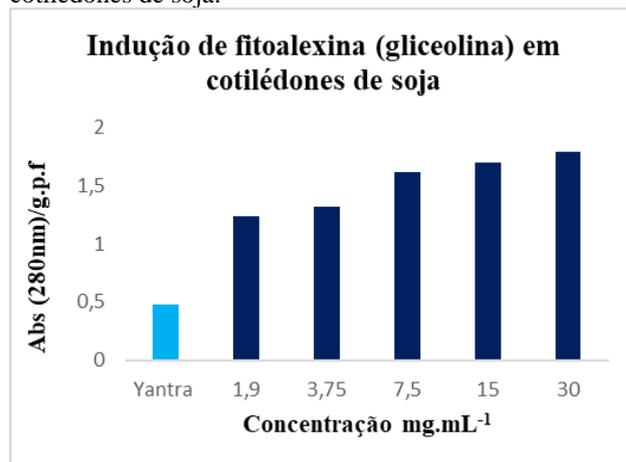


Tabela 1. Análise estatística das médias obtidas no teste de alelopatia.

Concentração (μL.mL ⁻¹)	Médias das raízes (μm)	Média das plântulas (μm)
100	20,67 ^{a6}	32,57 ^{b6}
500	18,88 ^{a4}	32,14 ^{b5}
1000	18,51 ^{a3}	32,02 ^{b4}
2000	18,22 ^{a2}	28,26 ^{b2}
3000	14,56 ^{a1}	23,66 ^{b1}
Controle	19,50 ^{a5}	30,84 ^{b3}

Através desses resultados é possível determinar que para o desenvolvimento da raiz o extrato metanólico agiu como estimulante de crescimento apenas para a concentração de 100 μL.mL⁻¹, já no restante, de acordo com o aumento da concentração houve a inibição do desenvolvimento das mesmas. Considerando o desenvolvimento das plântulas percebe-se que o extrato metanólico agiu como estimulante de crescimento para as concentrações de 100, 500 e 1000 μL.mL⁻¹, e para as demais, como inibidor.

Levando-se em consideração que substâncias com potencial alelopático podem exibir efeitos positivos (estímulo ou promoção de crescimento) e outros efeitos negativos (inibição de crescimento) e que extratos são misturas complexas de diversas

substâncias, os extratos analisados apresentaram uma relação dose-dependente dos efeitos alelopáticos e as concentrações avaliadas.

CONCLUSÃO

Os testes realizados para a promoção da síntese de fitoalexinas, utilizando o extrato metanólico, foram bastante promissores, visto que houve uma produção de maneira crescente da produção das biomoléculas de acordo com o aumento das concentrações, tanto com sementes de sorgo, quanto em cotilédones de soja.

De acordo com os resultados obtidos através do bioteste de alelopatia, percebeu-se que o extrato metanólico funciona como inibidor ou estimulante dependendo da concentração que foi aplicada sobre as sementes de alface.

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Universidade Federal do Tocantins- PIBIC/UFT

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIA

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da Ecofisiologia. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.** v.12, n.esp. p.175-204, 2000.

GONZÁLEZ, F. Florística y sistemática filogenética innecesariamente disyuntas: el caso de aristolochia, euglypha y holostylis (aristolochiaceae). **Rev. de la Acad. Colom. de Cien. Exa. Fís y Nat.** v.36, n.139, 2012.

HOEHNE, F.C. Flora brasílica: Aristolochiaceae; **Instituto de Botânica de São Paulo.** 1 ed., São Paulo; 1942.

CUNHA, C. L.; SIEBENEICHLER, S. C.; NASCIMENTO, I. R.; HOLZBACH, J. C. A new isoflavone and other constituents from roots of *Clitoria guianensis*. **J. Braz. Chem. Soc.** v.31, n.8, p.1753-1757, 2020.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. O Bioma Cerrado. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 07 Jan. 2020.

VELOSO, R. Óleos essenciais como controle alternativo de fitopatógenos. Gurupi, TO. **Tese de doutorado.** Universidade Federal do Tocantins,; 2016.