

**EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATO AQUOSO DE *Piper cf. aduncum* L.
(PIPERACEAE) NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Lactuca sativa* L.
(ASTERACEAE)**

Jamile da Silva Terço¹
Fernanda Regis Leone²

¹ Graduanda de Licenciatura em Ciências Biológicas. Universidade do Estado do Amazonas. Centro de Estudos Superiores de Tefé. Trabalho de conclusão de curso. E-mail: jamile2501@gmail.com

² Orientadora de Trabalho de conclusão de curso. Professora assistente de Botânica. Universidade do Estado do Amazonas. Centro de Estudos Superiores de Tefé. E-mail: fleones@uea.edu.br

RESUMO

Os efeitos alelopáticos ocorrem através de processos nos quais metabólitos secundários de uma determinada planta são liberados, podendo influenciar de forma positiva ou negativa no desenvolvimento de outra planta. Neste sentido, a família Piperaceae destaca-se nos estudos fitoquímicos. Assim este trabalho teve por objetivo identificar os efeitos alelopáticos causados pelas folhas de *Piper aduncum* na germinação e no crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa*). Para que os biotestes de germinação e crescimento fossem realizados as folhas secas em estufa foram trituradas e pesadas, para que os extratos fossem preparados, em seguida utilizaram-se quatro concentrações dos extratos aquosos (2,5%; 5%; 7,5%; 10%) de folha de *P. aduncum* e um controle (água destilada). Os biotestes foram monitorados diariamente por um período de sete dias, sendo umedecidas com água destilada se necessário. E durante um período a sementes exposta aos tratamentos de germinação e crescimento foram monitorados diariamente. Foi analisada a ação alelopática dos extratos sobre o índice de velocidade de germinação, comprimento da raiz e caule e porcentagem de germinação das plântulas. Conclui-se que houve um efeito significativo dos extratos de *P. aduncum* seja de forma positiva em relação aos estímulos de crescimento causados nas sementes sobreviventes às maiores concentrações (5% e 7,5%), ou de forma negativa ao afetar o índice de velocidade de germinação com o aumento das concentrações dos extratos, além de causar mortalidade de algumas sementes.

Palavras-chave: *Piper aduncum* L., alelopatia, compostos secundários, inibição.

ABSTRACT

The allelopathic effects occur through processes in which secondary metabolites of a given plant are released and can influence positively or negatively the development of another plant.

In this sense, the family Piperaceae stands out in phytochemical studies. The objective of this work was to identify the allelopathic effects caused by *Piper aduncum* leaves on germination and growth of lettuce seedlings (*Lactuca sativa*). In order to obtain the biotestes of germination and growth, the dried leaves in the greenhouse were crushed and weighed so that the extracts were prepared, followed by four concentrations of the aqueous extracts (2.5%, 5%, 7.5% ; 10%) of *P. aduncum* leaf and a control (distilled water). The biotestes were monitored daily for a period of seven days, being moistened with distilled water if necessary. And during a period the seeds exposed to the treatments of germination and growth were monitored daily. The allelopathic action of the extracts on the germination speed index, root and stem length and percentage of germination of the seedlings were analyzed. It was concluded that there was a significant effect of the extracts of *P. aduncum* in a positive way in relation to the growth stimuli caused by the seeds surviving the highest concentrations (5% and 7.5%), or negatively affecting the growth index Speed of germination with the increase of extracts concentrations, besides causing mortality of some seeds.

Keywords: *Piper aduncum* L., allelopathy, secondary compounds, inhibition.

INTRODUÇÃO

O termo alelopatia, foi criado em 1937 pelo pesquisador Hans Molischo para caracterizar um processo ao qual substâncias químicas são liberadas no ambiente, as quais podem inibir ou estimular o desenvolvimento de outras plantas (Mano 2006). Os efeitos alelopáticos são ocasionados por substâncias pertencentes a vários compostos secundários, os quais estão presentes em vários órgãos das plantas (Inderjit *et al.* 2003). As plantas que são utilizadas pela população para o tratamento de doenças, possuem substâncias químicas que dão origem a tal eficácia, como os fenóis, terpenos e alcalóides, entre outros que fazem parte de diferentes categorias de compostos (Periotto *et al.* 2004).

Dentre as plantas utilizadas na medicina popular destaca-se a família Piperaceae, a qual é composta por três gêneros (*Piper*, *Peperomia* e *Manekia*) e cerca de 450 espécies, no Brasil (Souza e Lorenzi 2012). Esta família possui uma ampla distribuição em todo o mundo, composta por cerca de 10 a 12 gêneros com um número de 1400 espécies, as quais estão distribuídas em todas as regiões tropicais (Dousseau 2009).

As espécies pertencentes ao gênero *Piper* são comumente conhecidas por possuírem propriedades medicinais, principalmente por apresentarem efeitos cicatrizantes, analgésicos,

anti-hemorrágicos, entre outros, com um amplo uso popular (Kokoska *et al.* 2005). Entre elas a espécie *Piper aduncum* L. (Piperaceae), popularmente conhecida como aperta-ruão e pimenta-de-macaco (Nascimento 2011).

Piper aduncum apresenta elevado valor econômico devido à extração de óleo essencial de sua parte aérea, sendo utilizado para combater insetos e fungos, no meio agrícola e medicinal (Dousseau 2009). Apesar dos óleos essenciais se destacarem em estudos, os aleloquímicos presentes nas plantas medicinais estão sendo um dos motivos de novas pesquisas, para que sejam verificadas as suas potencialidades (Santore 2013).

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a possível influência das atividades alelopáticas de diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas da espécie *Piper cf. aduncum* L., com a finalidade de identificar seus efeitos sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* L.

METODOLOGIA

Local de coleta

A coleta de folhas foi feita pela manhã, durante o mês de setembro de 2016, na zona rural do município de Tefé, AM (Figura 1). As amostras foram retiradas de oito indivíduos localizados em duas áreas, sendo uma situada na estrada da Agrovila (Latitude: -3.371532; Longitude: -64.72401) e outra na estrada da Emade (Latitude: -3.425776; Longitude: -64.720995) (Figura 1). Segundo Aleixo e Neto (2015) o município de Tefé, possui um clima que se divide em um período de chuva de janeiro a maio ocorrendo uma diminuição das chuvas a partir do mês de junho seguindo até novembro.

A vegetação local é formada por Floresta Amazônica de terra firme, com partes íntegras e partes degradadas. Com o aumento das áreas desmatadas nos últimos anos, a paisagem se transformou em terras de uso de agrícola em grande parte da extensão dessas vias (Aleixo e Neto 2015). As consequências de tais transformações proporcionam o aparecimento da espécie *Piper aduncum*, que se destaca por ser colonizadora de áreas alteradas, tendo como função repor ambientes degradados, além de ser invasora em diversas regiões (Dousseau 2009)



Figura 1: Mapa da localização do município de Tefé, Amazonas- Ponto 1.: Local de coleta das amostras na Estrada da Agrovila; Ponto 2. Local de coleta das amostras na Estrada da Emade.

Preparação dos extratos aquosos

Para preparação dos extratos aquosos, as folhas foram separadas dos ramos e colocadas na estufa para secar, com temperatura média de 70°C, por 48h. Após este período foram trituradas no liquidificador até obter um pó fino. Em uma balança de precisão pesou-se medidas de 2,5g; 5g; 7,5g; 10g deste pó, que foram utilizados para preparação dos extratos.

Em seguida acrescentou-se 100 mL de água destilada às medidas pesadas, durante este processo cada béquer, que continha esta mistura, foi forrado com papel alumínio e colocado na geladeira por 48h. Posteriormente, com o uso de coadores de papel o material foi filtrado, obtendo como resultado, os extratos aquosos de concentrações 2,5%, 5%, 7,5% e 10% (tratamentos dos biotestes).

Bioteste I: Germinação

Para os biotestes de germinação foram utilizadas 25 placas de petri contendo papel filtro as quais foram esterilizadas na estufa por 24h em uma temperatura de 120°C. Posteriormente, cinco placas de Petri foram separadas para cada concentração de extrato e o controle contendo água destilada. Em cada placa acrescentou-se 5 mL de extrato aquoso ou

água destilada. As placas receberam dez sementes cada e por sequência foram levadas para estufa de germinação à 27°C e fotoperíodo de 12h por sete dias. Durante esta etapa o monitoramento foi feito diariamente, o qual foi quantificado o número de sementes germinadas por dia. No caso de ressecamento das placas, as mesmas foram umedecidas adicionando água destilada, se necessário.

Bioteste II: Crescimento

Durante a primeira etapa do bioteste II, cinco placas de Petri com papel filtro foram esterilizadas em estufa a 120°C em um período de 24 h. No dia seguinte as placas foram retiradas da estufa e colocadas em temperatura ambiente para esfriar. Em seguida, adicionou-se água destilada umedecendo o papel filtro para receber várias sementes em cada placa que por sequência foram colocadas em estufa de germinação por 48h.

As sementes pré-germinadas (radículas em torno de 2 mm) da primeira fase do bioteste II foram transferidas para potes plásticos higienizados contendo duas folhas de papel filtro previamente esterilizadas na estufa a 120°C por 24h. Para cada concentração e controle foram utilizados cinco potes umedecidos com 7 mL de extrato ou água destilada, em cada pote colocou-se cinco sementes pré-germinadas. O crescimento das sementes foi monitorado diariamente por um período de sete dias, no caso de ressecamento das placas, as mesmas foram umedecidas adicionando água destilada. Ao final desse período, as plântulas foram colocadas em álcool 70% para posteriores análises.

Análises de dados

Para o bioensaio I, foram quantificadas a germinação total (número de sementes germinadas) e o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado através da fórmula de Manguire (1962), $IVG = G1/N1 + G2/N2 + G3/N3 + \dots + Gn/Nn$ onde: G1, G2, G3, Gn = número de plântulas germinadas no período de monitoramento e N1, N2, Nn = número de dias da contagem. Para o bioensaio II, foram tomados os comprimentos da raiz e caule.

Durante as análises dos dados, utilizou-se para os dados normais a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, para os não-normais o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado seguido pelo teste de Mann-Whitney. Todas as análises foram realizadas no programa Past versão 3.0, considerando $p > 0,05$. Os gráficos foram confeccionados no programa Sigma Plot.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bioteste I: Germinação

No bioteste I, verificou-se que houve diferenças significativas entre as médias de germinação total e as mesmas médias dos extratos ($H= 20,16$; $p= 0,000295$) (Tabela 1). Os controles demonstraram germinação total de 100%, sendo este resultado alcançado em apenas dois dias de tratamento (Tabela 1). Contudo houve concentrações de extratos que apresentaram diferenças não significativas entre si. Assim as médias de 2,5% assemelharam-se com os resultados obtidos nas concentrações de 5%; enquanto, 7,5% e 10% praticamente não houve sementes germinadas (Tabela 1).

Ao ser analisados os índices de velocidade de germinação (IVG), os resultados mostraram que houve uma diferença significativa entre as médias do controle e dos demais tratamentos (Tabela 1). Assim, conforme a concentração dos extratos aumentou, a velocidade de germinação diminuiu, tornando o processo mais lento. Sementes com atraso na germinação podem ficar mais expostas a fatores bióticos e abióticos do meio, que podem reduzir suas chances de sobrevivência ou estabelecimento. Desta forma os aleloquímicos de *P. aduncum* podem interferir nas populações e espécies que crescem, principalmente, em suas proximidades.

Tabela 1. Médias das sementes de alface (*Lactuca sativa*) expostas ao tratamento com extratos aquosos de *Piper aduncum* na germinação total (GT) e índice de velocidade de germinação (IVG).

Concentrações	GT	IVG
0%	10 ± 0 a	9,9 ± 0,2 a
2,5%	7,6 ± 2,1 b	6,6 ± 2,0 b
5%	6,4 ± 2,2 b	4,5 ± 1,5 b
7,5%	1 ± 1,7 c	0,5 ± 0,9 c
10%	0 ± 0 c	0 ± 0 c

*Nas colunas, médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, $p > 0,05$, pelo teste Mann-Whitney.

Concentrações menores de extratos não tiveram um efeito alelopático tão expressivo quanto os tratamentos com concentrações maiores. Apresentando um resultado semelhante ao observado por Lustosa *et al.* (2007), os quais verificaram a relação entre a germinação e os tratamentos com extratos aquosos das duas espécies estudadas, mostrando como resultados,

que tanto o extrato aquoso de *Piper aduncum* quanto o de *Piper tectoniifolium* expressaram efeitos alelopáticos significativos sobre as sementes de *Lactuca sativa* L. Borella *et al.* (2012) observou o mesmo resultado em relação ao tratamento entre a germinação e os extratos de *P. mikanianum*, uma vez que, aumentadas as concentrações de extratos, houve uma redução significativa na germinação das sementes de rabanete, possivelmente relacionada ao aumento na quantidade de aleloquímicos da solução.

Sementes de alface submetidas a tratamentos com extratos aquosos de diferentes concentrações de *Piper corcovadensis* mostraram resultados significativos para o efeito alelopático negativo referente à germinação, conforme aumentou das concentrações (Neto *et al.* 2015). O mesmo estudo também demonstrou semelhança em relação ao descrito neste artigo, em que o resultado para o tratamento controle representou 92% de sementes germinadas, enquanto foi de 100% para as sementes usadas neste estudo (Tabela 1).

Tur *et al.* (2010) também verificaram em seu trabalho que, ao aumentar as concentrações dos extratos de *Duranta repens* L., houve uma redução significativa do índice de velocidades de germinação sobre *Lactuca sativa* L.

Bioteste II: Crescimento

No bioteste II, verificou-se taxa de mortalidade de 0% para o controle e 56% para as concentrações de 2,5% e 5%. Nas plântulas submetidas aos extratos de 7,5% e 10%, a taxa de mortalidade foi de 60% e 100%, respectivamente. Assim sendo, os extratos aquosos de *P. aduncum* interferiram na sobrevivência das plântulas. Portanto, ao aumentar a concentração dos extratos, a taxa de mortalidade aumentou.

Houve diferença significativa entre as médias do comprimento das raízes entre extratos aquosos e controle ($H=37,2$; $p= 0,00000$). Porém entre as concentrações de 2,5%, 5% e 7,5% não foram observadas diferenças estatísticas em relação ao crescimento das raízes (Figura 2). Nesses extratos a taxa de inibição variou entre 51% e 63% em relação ao controle. Nos extratos de 10% de concentração, não houve crescimento de raízes em nenhuma das plântulas analisadas, uma vez que nenhum sobreviveu. Assim, quanto maior as concentrações dos extratos, maiores foram as inibições do crescimento das raízes, destacando a ação negativa dos compostos das folhas de *P. aduncum*.

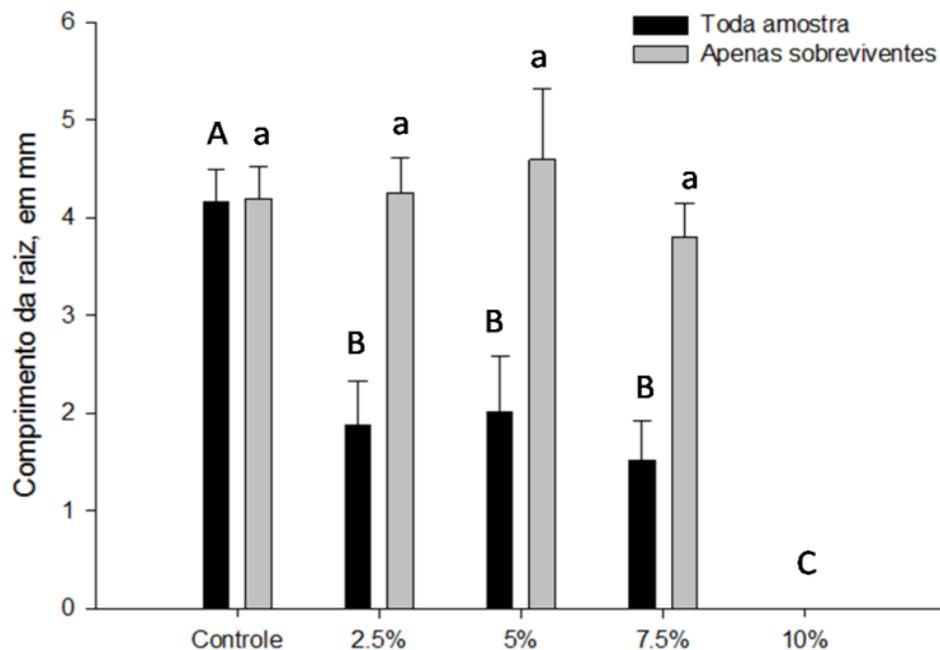


Figura 2: Média e erro-padrão do comprimento da raiz de plântulas sobre a ação do controle e tratamentos com extratos aquosos de *Piper cf. aduncum*. Colunas em preto representam o total de amostras analisadas, incluindo os zeros da análise (plântulas mortas). Colunas em cinza representam valores apenas considerando as plântulas sobreviventes. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, $p > 0,05$, pelo teste Mann-Whitney. Letras maiúsculas se referem às médias de toda amostra e letras minúsculas referem-se médias apenas das plântulas sobreviventes.

Devido ao número significativo de sementes mortas, uma segunda análise foi feita, considerando apenas as plântulas sobreviventes, assim sendo eliminados os zeros. Nesta análise não houve diferenças significativas entre as médias de crescimento de raízes dos extratos e o controle, mostrando que a presença das sementes mortas influenciou no resultado da primeira análise de crescimento.

Houve uma diferença significativa entre as médias de crescimento do caule no controle e nos extratos ($H=27,62$; $p = 0,000001$). Porém ao comparar as concentrações, temos como destaque a ação dos extratos de 2,5% e 10%, os quais provocaram uma redução nas medidas do caule em comparação ao controle (Figura 3). Nesses a taxa de inibição foram de 42% e 100%, respectivamente.

Ao serem analisadas as medidas de caule com a eliminação das sementes mortas, foi verificada uma diferença em relação ao crescimento das plântulas ($F=8,559$, $df=18,27$, $p=0,000924$) entre controle e extratos. Na concentração de 2.5% obteve-se um estímulo de 31%, enquanto que de 5% o crescimento foi de 80% e em 7,5% foi de 74% maiores que o

controle (Figura 3). Portanto, as plântulas que sobreviveram ao ambiente com extratos de *Piper aduncum* apresentaram estímulos significativos no crescimento do caule.

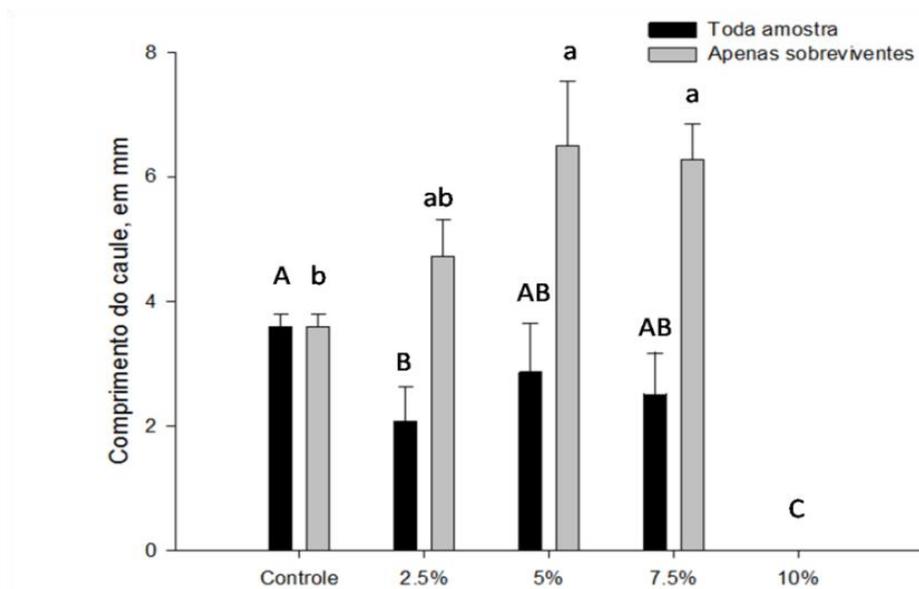


Figura 3: Média e erro-padrão do comprimento do caule de plântulas sobre a ação do controle e tratamentos com extratos aquosos de *Piper cf. aduncum*. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, $p > 0,05$, pelo teste Mann-Whitney. Letras maiúsculas se referem às médias de toda amostra e letras minúsculas referem-se médias apenas das plântulas sobreviventes.

Em relação aos estímulos que ocorreram no caule, quando as concentrações de extratos foram maiores, estes resultados se assemelharam com os observados por Rice *et al.* (1984) quando utilizou os extratos de sorgo durante o teste de crescimento na plântula alface, obtendo com resultado um aumento no comprimento da parte aérea, que pode esta relacionado ao efeito alelopático, que atua de forma positiva ou negativa. De acordo com Goldfarb *et al.* (2009), os compostos químicos podem expressar em uma plântula tanto um efeito inibitório quanto estimulante em relação ao seu crescimento, sendo isto dependente da concentração deste compostos.

Segundo Hong *et al.* (2004), o aumento do crescimento das plântulas em relação as menores concentrações de tratamento com extratos aquosos pode representar um mecanismo de proteção. Nesse trabalho, no extrato de menor concentração (2,5%) não houve estímulo de crescimento nas plântulas sobreviventes ao comparar com o controle, diferenciando do proposto por Hong *et al.* (2004), porém nas concentrações mais altas, estas plântulas cresceram significativamente mais. Tal fato pode demonstrar que existem também substancias químicas estimulatórias do crescimento nos extratos de *Piper aduncum*.

CONCLUSÃO

Os extratos aquosos preparados a partir das folhas de *Piper cf. aduncum* apresentaram efeitos alelopáticos significativos para as sementes de alface submetidas aos tratamentos com diferentes concentrações, relacionando este efeito à redução da velocidade de germinação ou inibição da germinação. As plântulas mostraram grande sensibilidade aos extratos, pois em todas as concentrações houve altas taxas de mortalidade. Contudo, as plantas sobreviventes, além de resistirem aos aleloquímicos dos extratos, provocaram estímulos no crescimento, sendo estes maiores nas plântulas que receberam uma concentração maior de extratos. Estudos futuros com outras sementes podem confirmar a efeito aleloquímico estimulante às plântulas que conseguem sobreviver nos extratos. Também é importante investigar as causas fisiológicas dos efeitos alelopáticos observados e quais compostos químicos estão associados a eles.

REFERÊNCIAS

Aleixo, N.C.R.; Neto, J.C.A.S. 2015. Variabilidade climática e transformação da paisagem no município de Tefé-AM. In: Silva, A.L.C.; Benini, S.M.; Dias, L.S. (Ed). *Fórum ambiental: uma visão multidisciplinar da questão ambiental*. Associação Amigos da Natureza da Alta Paulista, Tupã, São Paulo, 226-241p.

Borella, J; Martinazzo, E.G; Aumonde, T.Z; Amarante, L; Moraes, D.M; Villela, F.A. 2012. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. *Acta Botanica Brasílica*, 26: 415-420.

Dousseau, S. 2009. *Propagação, características fotossintéticas, estruturas, fitoquímicas e crescimento inicial de Piper aduncum L. (Piperaceae)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. 13-14p.

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

Hong, N.H.; Xuan, T.D.; Eiji, T.; Khanh, T.D. 2004. Paddy weed control by higher plants from *Southeast Asia*. *Crop Prot*, 23: 255-261.

Inderjit.; Duke, S.O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217: 529-539.

Kokoska, L.; Vlkova, E.; Svobodova, B.; Polesny, Z.; Kloucek, P. 2005. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 309-312.

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

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2: 176-177.

Mano, A.R.O. 2006. *Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (amburana cearensis) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho*. Dissertação de Mestrado em Agronomia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 17p.

Nascimento, K.M. 2011. *Composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de espécies de Piper frente a cepas de Candida spp.* Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE. 25p

Neto, A.C.A.; Barbosa, U.N.; Monteiro, A.L.B. 2015. Avaliação do potencial alelopático de *Piper corcovadensis* sobre a germinação de *Lactuca sativa*. *Arrudea*, 1: 019–022.

Periotto, F.; Perez, S.C.J.G.A.; Lima, M.I.S. 2004. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. Ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanussativus* L. *Acta Botanica Brasilica* 18: 425-430.

Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2^a ed., New York, Academic Press.

Santore, T. 2013. *Atividade alelopática de extratos de plantas medicinais sobre a germinação de corda-de-viola (Ipomoea nil (L.) Roth.)*. Palotina, PR. 8p

Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2012. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III*. 3^a ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 77p.

Tur, C.M.; Borella, J.; Pastorini, L.H. 2010. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicon esculentum*. 2: 13-22.