

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS  
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE TEFÉ  
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JOCIANE SILVA RAMOS

**RESPOSTAS ALELOPÁTICAS DE *Piper umbellatum* L. (PIPERACEAE) EM  
SEMENTES DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.)**

TEFÉ – AM

DEZEMBRO – 2016

JOCIANE SILVA RAMOS

**RESPOSTAS ALELOPÁTICAS DE *Piper umbellatum* L. (PIPERACEAE) EM  
SEMENTES DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à disciplina Prática de Ensino de Ciências e Biologia II, como pré-requisito para a obtenção de nota na avaliação parcial 2.

Trabalho de conclusão de curso orientado pela profa. Fernanda Regis Leone

TEFÉ – AM

DEZEMBRO – 2016

## RESPOSTAS ALELOPÁTICAS DE *Piper umbellatum* L. (PIPERACEAE) EM SEMENTES DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

Jociane Silva Ramos <sup>1</sup>

### RESUMO

A alelopatia pode ser definida como um fenômeno pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados no ambiente e interferem em outras plantas. Com o objetivo de verificar o potencial alelopático de *Piper umbellatum*, foram testados extratos de *Piper umbellatum* através de bioensaios de germinação e de crescimento de alface, como sementes alvos. Nesses bioensaios foram utilizados os extratos aquosos, em concentrações de 2,5%, 5%, 7,5% e 10%. Os extratos aquosos provocaram a redução da germinação total das sementes de alface e causaram lentidão no processo germinativo. No experimento de crescimento, os extratos de *P. umbellatum* reduziram a taxa de sobrevivência das plântulas de maneira expressiva, nas plântulas sobreviventes houve um estímulo do crescimento em relação ao controle para as concentrações de 2,5% e 10%. Portanto, *Piper umbellatum* apresentou forte potencial alelopático em sementes e plântulas de alface.

Palavras-chave: extratos aquosos, germinação, crescimento, alface, potencial alelopático.

### ABSTRACT

Allelopathy can be defined as a phenomenon by which products of the secondary metabolism of plants are released into the environment and interfere with other plants. In order to verify the allelopathic potential of *Piper umbellatum*, extracts were tested using germination bioassays and growth, lettuce was used as target plants. In bioassays, the aqueous extracts were used in concentrations of 2,5%, 5%, 7,5% and 10%. The aqueous extracts caused a reduction in the total germination of lettuce seeds and caused slow germination. In the growth experiment, the extracts of *P. umbellatum* significantly reduced the survival rate of the seedlings; in the surviving seedlings there was a growth stimulus in relation to the control for the concentrations of 2,5% and 10%. However, *Piper umbellatum* presents strong allelopathic potential in seeds and lettuce seedlings.

---

<sup>1</sup> Graduando de Licenciatura em Ciências Biológicas. Centro de Estudos Superiores de Tefé, Universidade do Estado do Amazonas, e-mail: clejoci@hotmail.com

Keywords: aqueous extracts, germination, growth, lettuce, allelopathic potential.

## INTRODUÇÃO

A Floresta Amazônica é conhecida por ser a maior e mais diversa floresta pluvial do mundo, compreendendo nove países da América do Sul, dentre eles o Brasil (Ribeiro 1999). A região é composta por uma grande diversidade de fitofisionomias, com ocorrência estimada de aproximadamente 40.000 espécies de plantas, das quais 75% são endêmicas (Mittermeier 2003; Silva & Garda 2010). Dentro dessa diversidade, pouco foi estudado sobre o potencial alelopático dessas plantas e seus compostos aleloquímicos.

Muitas dessas plantas liberam no ambiente, diversas substâncias que podem influenciar no desenvolvimento da vegetação adjacente, sendo este fenômeno de interferência denominado alelopatia (Rice 1984). Assim a alelopatia pode ser definida como um fenômeno pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados no ambiente, alterando a germinação e o desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas (Soares 2000). Esses compostos químicos de ação alelopática são chamados de aleloquímicos.

Sendo assim, essa ação dos aleloquímicos sobre o desenvolvimento de outra planta pode ser indireta, por meio da transformação destas substâncias no solo ou pela atividade de microrganismos (Ferreira 2004). Quando a ação dos aleloquímicos é direta, a inibição e alteração do crescimento e desenvolvimento das plantas ocorre através de alterações nos processos de fotossíntese, respiração, transpiração, funcionamento das membranas, absorção de nutrientes e síntese de ácidos nucleicos (Chou *et al.* 2006; Gates 2008).

Além da atividade alelopática, a maioria destas substâncias representa alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (Waller 1999).

Os recentes avanços na química de produtos naturais, por meio de métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação, têm contribuído bastante para um maior conhecimento desses compostos secundários, os quais podem ser agrupados em diversas classes (Ferreira & Áquila 2000). Nesse contexto as atividades dos aleloquímicos têm sido usadas como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (defensivos agrícolas).

Piperaceae pertence ao clado das Magnolídeas e à ordem Piperales (APG III 2009; Reveal 2012). A monofilia de Piperales é bem sustentada nas análises filogenéticas recentes e possui algumas sinapomorfias morfológicas como a presença de folhas dísticas, células de óleo e um único perfil. Piperaceae geralmente está presente em áreas florestais, sendo conhecida por estudos na área da química desenvolvidos nos últimos anos (Doyle & Endress 2000; Hilu et al. 2003; Judd 2009).

Piperaceae é caracterizada por apresentar inflorescência em espigas simples, mas em alguns casos podem ser compostas do tipo umbelas ou racemo e quanto à posição das inflorescências, podem ser opostas às folhas, axilares ou terminais (Souza & Lorenzi 2008).

*Piper umbellatum* anteriormente pertencia ao gênero *Pothomorphe*, sendo este não sustentado em estudos filogenéticos recentes e aceito como sinonímia de *Piper* (Souza e Lorenzi 2012). No Brasil, a família está representada pelos gêneros *Ottonia*, totalizando 450 espécies, além de *Piper* e *Peperomia*, que são os maiores gêneros, respectivamente com 265 e 166 espécies (Yuncker 1972, 1973, 1974)

Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo de identificar os efeitos alelopáticos de extratos aquoso de *Piper umbellatum* na germinação de sementes e crescimento de plântulas de alface.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Área de Estudo**

O presente estudo foi desenvolvido em área urbana do município de Tefé, situado no Amazonas, região norte do Brasil. A cidade possui uma população de 62.662 habitantes (IBGE 2014). Tefé possui uma área territorial de 23.808 km, com a distância de 523 km de Manaus e 2.304 km de Brasília (IBGE 2014). As coletas de campo foram realizadas na estrada da EMADÉ no km 3 (3°26'20.90"S e 64°41'49.00"W) a vegetação local é predominantemente Floresta Amazônica de Terra-firme. Na área foram coletadas amostras de *Piper umbellatum* para a preparação dos extratos aquosos. Amostras também foram herborizadas para posterior deposição em herbário.

### **Preparação do extrato aquoso**

As folhas verdes de *P. umbellatum* foram colocadas na estufa a 65°C para secagem até massa ficar constante. Após a secagem, foram trituradas no liquidificador,

em seguida pesada na balança analítica em medidas de 2,5g, 5g, 7,5g e 10g de pó de folhas. Foi adicionado 100ml de água destilada ao pó de folhas e posteriormente mantido em geladeira por 48h. Após esse período, os extratos aquosos foram filtrados em papel filtro. Assim, os cinco tratamentos dos bioensaio foram: extratos aquosos de *P. umbellatum* nas concentrações de 2,5%, 5%, 7,5% e 10%, além do controle com água destilada.

### **Bioensaio de germinação**

O experimento de germinação foi conduzido em estufa com temperatura constante de 27°C e fotoperíodo de 12 h. A germinação das sementes foi monitorada em períodos de sete dias, com contagens diárias e eliminação das sementes germinadas. Foi considerada semente germinada aquela que apresentou extensão radicular igual ou superior a 2,00 mm. Para cada extrato, foram utilizadas cinco placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro, forrada com duas folhas de papel de filtro qualitativo, recebendo dez sementes e umedecidas com 5 mL de extrato ou água destilada (controle), constituindo-se em uma parcela experimental. Para que seja indicada como planta teste, a espécie deve apresentar germinação rápida e uniforme, e um grau de sensibilidade que permita expressar os resultados sob baixas concentrações das substâncias alelopáticas Ferreira & Áquila (2000).

### **Bioensaio de crescimento**

Este bioensaio também foi desenvolvido em câmara de germinação, com temperatura constante de 27°C e fotoperíodo de 12 h. Para cada extrato e o controle (apenas água destilada) foram utilizados cinco potes plásticos, cada pote recebeu cinco sementes pré-germinadas (protrusão radicular de 2 mm). Ao final do período de sete dias de crescimento, as plântulas foram conservadas em álcool 70% para posteriores análises. Foram avaliadas as medidas de comprimento do caule e da raiz.

### **Análises de resultados**

Foi determinada a germinação total através da fórmula:  $GT = \text{Número de semente germinadas ao final do experimento}$ . Também foi calculado o índice de velocidade de germinação através da fórmula de Maguire (1962):  $IVG = \Sigma (Gi/Ni)$ .

Para o bioensaio de crescimento, foram medidas o comprimento de raízes e caules das plântulas, utilizando o paquímetro. Também foram contadas as raízes secundárias ou a presença de necrose. A taxa de inibição de crescimento (%) foi calculada a partir da redução média dos caules e raízes nos extratos comparados com o crescimento médio dos mesmos no controle. Para todos os dados a comparação de medias foi feito o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Quando foram consideradas de distribuição normal, foi utilizado análise de variância (ANOVA) juntamente com o teste de Tukey. Quando os dados apresentaram distribuição não-normal foi utilizado o teste de Kruskal- Wallis seguido pelo teste Mann-Whitney. Foi considerado  $p < 0,05$ . Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Past 3.0. Para confecção dos gráficos foi utilizado o programa Sigma Plot.

### Resultado e discussão

Os extratos de *Piper umbellatum* afetaram a germinação total das sementes de alface ( $H=11,25$ ,  $p = 0,0000$ ) (Tabela 1). Assim, a média de germinação de sementes de alface submetidas aos extratos de *Piper umbellatum* foram menores que as médias do controle, exceto para o extrato de 2,5 % (Tabela 1). Quanto maior a concentração do extrato maior foi a inibição da germinação (Tabela 1). Por exemplo, no extrato de 7,5% e 10% a germinação foi praticamente inexistente. Esse fato não costuma ser observado nesse tipo de estudo uma vez que os extratos costumam afetar apenas o tempo e a velocidade de germinação (Ferreira & Áquila, 2000), mas não a porcentagem final de sementes germinadas. Em espécies amazônicas estudos têm mostrado inibição da germinação das sementes. Lopes (2015) também observou diferenças significativas na germinação total das sementes de alface expostas aos extratos de *Inga longiflora*.

Tabela 1: Médias da germinação total (GT), do índice de velocidade de germinação (IVG) e a porcentagem de mortalidade das sementes de alface submetidas ao controle (água destilada) e aos extratos aquosos de *Piper umbellatum* L. em diferentes concentrações. \* Letras iguais nas colunas representam médias estatisticamente iguais no teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Mann-Whitney, com  $p < 0,05$ .

Tratamento	GT (sementes)	IVG (sementes/dia)
0,0%	10 ± 0,0 a	10 a ± 0,0 a
2,5%	9,6 ± 0,5 ab	2,8 ± 1,1 b
5,0%	3,2 ± 3,8 b	1,0 ± 1,5 b
7,5%	0,2 ± 0,4 c	0,0 ± 0,1 c
10,0%	0,2 ± 0,4 c	0,0 ± 0,1 c

Segundo Rizzardi *et al.* (2008), a velocidade de germinação é um indicador mais sensível dos efeitos alelopáticos quando comparado á germinação total, porque detecta os efeitos ao longo da emergência da plântula, na semente, e não somente ao final. Com isso os extratos interferiram na velocidade de germinação das sementes, pois no extrato de 2,5% só germinou uma semente no primeiro dia do experimento, em outros extratos o aumento da concentração proporcionou um maior retardo no processo germinativo. O aumento do tempo de germinação interfere no estabelecimento da planta no ambiente, diminuindo as chances de sobrevivência. Desta forma as atividades alelopáticas das plantas podem regular o aparecimento de outras em sua vizinhança.

Os efeitos alelopáticos dos extratos de *Piper umbellatum* provocaram a lentidão da germinação, além das sementes não germinarem simultaneamente, como aconteceu no controle.

No bioensaio de crescimento, observou-se que os extratos aquosos de *Piper umbellatum* mostraram efeito alelopático significativo sobre a sobrevivência das sementes de alface, sendo que, quanto maior a concentração do extrato, maior a taxa de mortalidade de sementes (Tabela 2).

Tabela 2: Taxa de mortalidade das sementes pré-germinadas de alface, em bioensaio de crescimento, submetidas ao controle (água destilada) e aos extratos aquosos de *Piper umbellatum* L. em diferentes concentrações.

Tratamento	TM (%)
0,0%	4
2,5%	60
5,0%	100
7,5%	100
10,0%	100

O crescimento do caule de alface, no controle, foi em média  $3,4 \pm 1,1$  mm, sendo maior do que a média de crescimento do caule em todos os extratos (Figura 1). Assim, os extratos afetaram negativamente o crescimento do caule, entre as plântulas quando consideramos todas as amostras, isto é, incluindo as plântulas mortas. Nestas, a taxa de inibição de crescimento do caule de alface foi de 100% para os caules submetidos aos extratos de 5%,7% e 10% (Figura 1).

Em relação ao crescimento do caule quando consideradas apenas plântulas sobreviventes, a média de crescimento no controle foi de  $3,6 \pm 1,1$  mm, estatisticamente menores quando comparados aos extratos de 2,5%, em que os caules cresceram em

média  $5,7 \pm 1,6$  mm ( $F=14.92$ ,  $df=11.94$ ,  $p=0.002278$ ) (Figura 1). Demonstrando que nas plântulas sobreviventes, os aleloquímicos de *Piper umbellatum* estimularam o crescimento do caule.

As médias de crescimento de raiz das plântulas de alface se diferenciaram estatisticamente entre o controle e os extratos ( $H= 40,1$ ,  $p= 0,5313$ ). A taxa de inibição das raízes de alface foram de 100 % para raízes submetidas aos extratos de 5%, 7,5% de 10%. No extrato de 2.5%, a média de crescimento foi de  $1,37 \pm 1,94$  mm, sendo significativamente menor que o controle, os quais apresentaram  $3,69 \pm 2,10$  mm de comprimento de raiz (Figura 2)

Em estudos de alelopatia, o padrão observado é a maior sensibilidade das raízes em relação ao caule aos efeitos alelopático dos extratos, independentemente da espécie receptora e da fonte do extrato (Mourão e Souza Filho, 2010). Contudo observou-se que tanto as raízes como os caules apresentaram sensibilidade aos efeitos alelopáticos dos extratos.

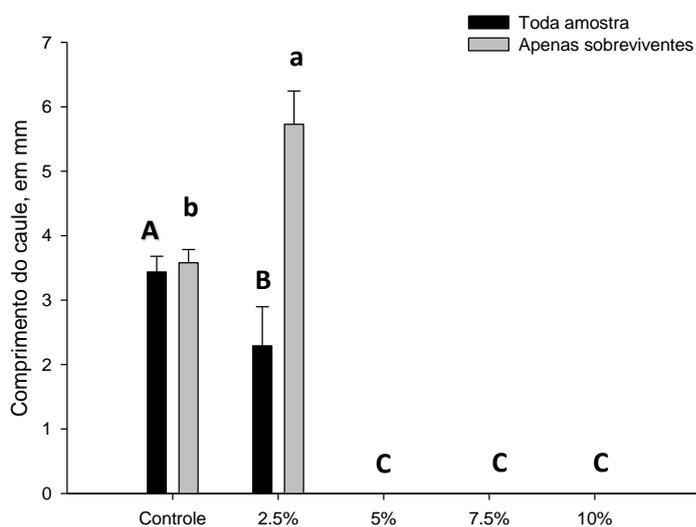


Figura 1: a. Médias e desvio-padrão de crescimento de caules, b. Médias e desvio-padrão de crescimento de raízes de plântulas de alface, submetidas ao controle (água destilada) e a diferentes concentrações de extrato de *Piper umbellatum*.

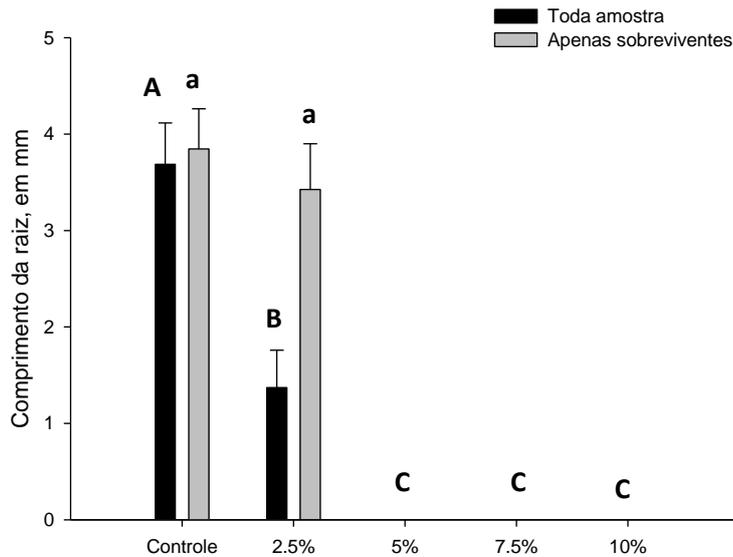


Figura 2: a. Médias e desvio-padrão de crescimento de caules, b. Médias e desvio-padrão de crescimento de raízes de plântulas de alfaca, submetidas ao controle (água destilada) e a diferentes concentrações de extrato de *Piper umbellatum*.

Portanto os efeitos alelopáticos podem variar quanto à sua intensidade, visto que a ação dos aleloquímicos é condicionada por diversos fatores, tais como concentração, temperatura e outras condições ambientais. Geralmente, os efeitos causados tendem a ser dependentes da concentração dos aleloquímicos, ou seja, tendem a ser mais acentuados em concentrações mais altas, como observado nos bioensaios de crescimento.

## Conclusão

*Piper umbellatum* apresentou efeito alelopático significativo, uma vez que até a germinabilidade foi afetada, algo incomum em experimentos dessa natureza. Quanto maior foi a concentração do extrato, maior foi a taxa de mortalidade de semente. Contudo, as plântulas que sobreviveram na presença dos extratos de *P. umbellatum*, esses se mostraram estimulantes do crescimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- Chou, C.H. 2006. Introduction to allelopathy. In: Reigosa, M.J.; Pedrol, N.; González, L. (Ed) *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Springer, Dordrecht, Netherlands, p.1-10.
- Gabor, W.E.; Veatch, C. 1981. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. *Weed Science*, v.29, p.155- 159.
- Gatti, A. B. 2008. Atividade Alelopática de espécies do cerrado. Tese de Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.136p.
- Ferreira, A. G. 2004. Interferência: Competência e Alelopatia. In: Ferreira, A.G.; Borghetti, F. (orgs.). *Germinação: do básico ao aplicado*. Artmed, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, p. 251-262.
- Ferreira, A.G.; Áquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.12, p.175-204,. Edição especial.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014. Censo de 2010. ([www.sensoibge2014.br](http://www.sensoibge2014.br)). Acessado em 27/05/2015.
- Lopes G. G. 2015. Potencial alelopático de *Inga longiflora* Spruce ex Benth. (Fabaceae). Trabalho de conclusão de curso. Ciências Biológicas. Universidade do Estado do Amazonas. Centro de Estudos Superiores de Tefé.
- Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Brooks, T. M.; Pilgrim, J. D.; Konstant, W. R.; Fonseca, G. A. B. & Kormos, C. 2003. Wilderness and biodiversity conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** **100**: 10309-10313.
- Mourão Júnior, M.; Souza Filho, A.P.S. 2010. Diferenças no padrão da atividade alelopática em espécies da família Leguminosae. *Planta Daninha*, 28: 939-951.

Souza, L. A. .& ROSA, S. M. 2004. Estruturas de Reprodução de *Piper amalago* VAR. *medium* LINNAEUS (Piperaceae). *Acta Científica Venezuelana*, 55: 27-34.

Reveal, J. L. 2012. um outline de uma classificação scheme for extant flowering plantas. **Phytoneuron 37**: 1–221.

Rice, E.L. 1984. **Allelopathy**. 2<sup>a</sup> ed. New York, Academic Press.

Rizzardi, M. A.; Neves, R.; Lamb, T. D.; Johann, L. B. 2008. Potencial alelopático da cultura da canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) na supressão de picão preto (*Bidens* sp.) e soja. *Revista Brasileira Agrociência*, 14(2): 239-248.

Waller, G.R.; Kumari, D; Friedman, J; Friedeman, N. Chou, C.H. 1986. Caffeine autotoxicity in *Coffea arabica* L. In: Putnam, A.R.; Tang, C.S. (Eds.) *The science of allelopathy*. New York, John Wiley & Sons, 1986. p. 243-269.

Yuncker, T.G. 1974. The Piperaceae of Brazil. III. Peperomia; taxa of uncertain status. *Hoehnea* 4: 71- 413.