

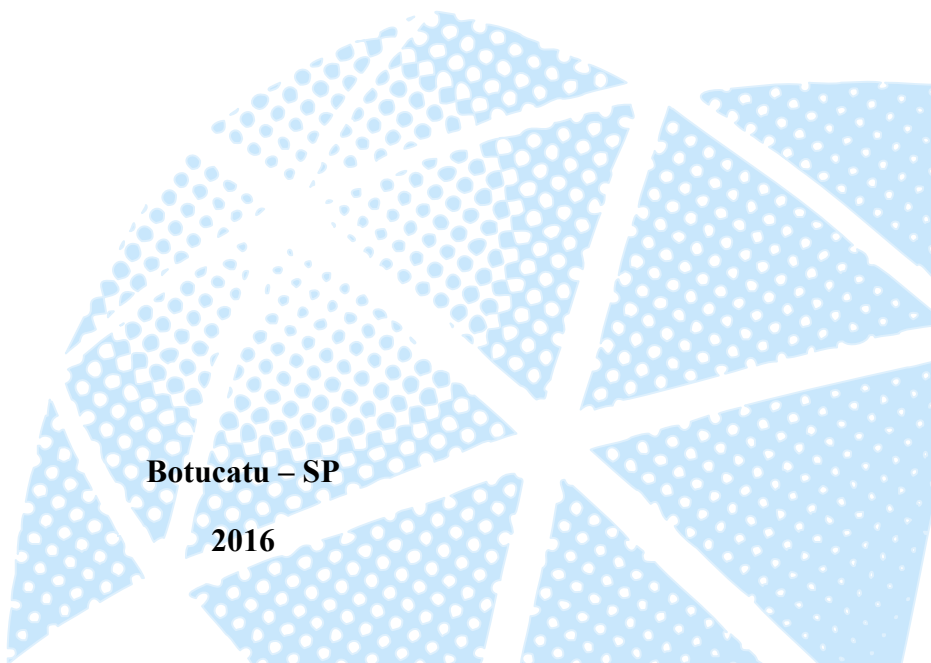
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Julio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE RIZOMAS DE *Curcuma zedoaria*
(Christm.) ROSCOE CULTIVADOS EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA
HÍDRICA**

GABRIELA MARIN VASCONCELLOS

Botucatu – SP

2016



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Julio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE RIZOMAS DE *Curcuma zedoaria*
(Christm.) ROSCOE CULTIVADOS EM CONDIÇÕES DE
DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

GABRIELA MARIN VASCONCELLOS

PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA
ORIENTADOR

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para
obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas no Instituto de
Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” –
Câmpus de Botucatu.

**Botucatu – SP
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Vasconcellos, Gabriela Marin.

Potencial alelopático de rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe cultivados em condições de deficiência hídrica / Gabriela Marin Vasconcellos. - Botucatu, 2016

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luiz Fernando Rolim de Almeida

Capes: 20303033

1. Cúrcuma. 2. Pepino. 3. Alelopatia. 4. Agentes alelopáticos. 5. Metabólitos. 6. Desidratação (Hídrica). 7. Germinação.

Palavras-chave: Aleloquímicos; Disponibilidade hídrica; Germinação; Metabólitos secundários.

Resumo

A alelopatia é um fenômeno de estímulo ou inibição ao desenvolvimento e crescimento de organismos, causada pela emissão de aleloquímicos (compostos químicos oriundos do metabolismo secundário) por agentes alelopáticos. Nas espécies vegetais, os aleloquímicos podem ser provenientes de diferentes órgãos. Um dos fatores ambientais e agrônômicos que alteram a produção de metabólitos secundários é a disponibilidade hídrica. Geralmente observa-se aumento das concentrações dos aleloquímicos em plantas submetidas a estresse hídrico. A espécie *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, possui rizoma rico em óleo essencial constituído principalmente por compostos terpênicos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da deficiência hídrica no potencial alelopático do extrato aquoso de rizomas de *C. zedoaria* na germinação e no crescimento inicial de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.cv. Aodai). Plantas de *C. zedoaria* foram cultivadas em casa de vegetação, onde um grupo foi submetido à deficiência hídrica (CDH) e outro grupo não (SDH). Os rizomas foram seccionados e pesados para a produção de extratos aquosos nas concentrações de 5, 10, 50 e 100 g L⁻¹. Os ensaios biológicos foram realizados em câmara de germinação (BOD) em condições controladas de luz e temperatura. Foram avaliadas a percentagem final de germinação (% G), índice de velocidade de germinação (IVG), crescimento de raiz e parte aérea. Os resultados evidenciam que o extrato apresenta efeito inibitório em relação ao controle na maioria das avaliações, sendo que somente a germinação de pepino não é afetada em nenhum tratamento. Porém, no crescimento de parte aérea dessa mesma semente, a concentração mais alta do tratamento CDH é a única que apresenta inibição em relação ao controle. Constatamos que há uma alteração na composição/concentração dos metabólitos secundários do rizoma de *C. zedoaria* quando submetidos a diferentes condições de disponibilidade hídrica, sobretudo nas concentrações mais elevadas.

Palavras-chave: metabólitos secundários, disponibilidade hídrica, aleloquímicos e germinação.

Abstract

Allelopathy is a phenomenon that promotes or inhibits the organisms growth and development as result of emission of allelochemicals (chemical compounds originating from the secondary metabolism) by allelopathic agents. Allelochemicals derivate from different organs in plants. Among the environment and agronomic conditions, water deficit affects secondary metabolites synthesis. Usually, there are an increase in the secondary metabolites concentration of plants under water deficit. The rhizome of *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe synthetizes an essential oil mainly constituted of terpene compounds. Therefore, the aim of this work is to evaluate the effects of water deficit upon the rhizome allelopathic potential of *Curcuma zedoaria*. Accordingly, seeds of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.cv. Aodai) were exposed to aqueous extract of *C. zedoaria* rhizome. The *C. zedoaria* plants were cultivated in greenhouse into two groups apart: plants under controlled water supply (WS) or water deficit (WD). The aqueous extracts of rhizomes were extracted after sectioning and weighing into following concentrations: 5, 10, 50 and 100 g L⁻¹. The biological assays were realized in the germination chamber (BOD) under controlled light and temperature conditions. We evaluated the final percentage of germination (G), germination speed index (GSI) and measurement of root and shoot growth. The rhizome aqueous extract of *C. zedoaria* inhibits the growth and development of seeds and seedling in mostly evaluated parameters in both treatments. Conversely, the cucumber seeds germination is not affected by the rhizome aqueous extract by neither of treatments, although, the seedling growth decreases in the higher concentration (100 g L⁻¹) of WD group. Indeed, there is a modification in the secondary metabolites concentration/composition in the rhizome of *C. zedoaria* under water-deficit, mainly in the higher concentrations.

Keywords: secondary metabolites, water deficit, allelochemicals, germination.

Sumário

1. Introdução	6
2. Objetivo.....	8
3. Material e Métodos	8
3.1. Material vegetal.....	8
3.2. Preparo dos extratos	9
3.3. Espécies testes.....	9
3.4. Ensaio biológicos.....	10
3.5. Parâmetros de avaliação	10
4. Resultados e Discussão	11
4.1. Germinação	11
4.2. Índice de velocidade de germinação (IVG).....	13
4.3. Crescimento raiz e parte aérea	15
5. Conclusão	22
6. Referências	23

1. Introdução

A alelopatia é um fenômeno de estímulo ou inibição (direta ou indireta) ao desenvolvimento e crescimento de organismos (CARMO et al., 2007). Esse evento é causado por agentes alelopáticos que liberam no ambiente compostos químicos oriundos do seu metabolismo secundário (RICE, 1974), exercendo uma influência sobre os sistemas biológicos e agrícolas (OYENIYI et al. 2016). Essas substâncias são denominadas fitotoxinas ou aleloquímicos (BELINELO et al., 2008) e podem ser produzidas por fungos, bactérias, plantas e outros organismos (YIN, 2014).

Nos últimos 50 anos, houve um aumento nos estudos envolvendo alelopatia (INDERJIT et al., 2011). Um dos fatores que desencadeou esse avanço está relacionado com as implicações desse fenômeno no padrão vegetativo encontrado nas comunidades (e.g.: tipo de vegetação, dominância e sucessão ecológica) (INDERJIT et al., 2011; BELINELO et al., 2008; RICE, 1979), assim como o crescente interesse nas interações existentes entre as culturas agrícolas e as plantas daninhas (HABERMANN et al., 2016; HOFMANN 2015; DA SILVA PAULA et al., 2015). Atualmente, as pesquisas com alelopatia também estão direcionadas para a substituição dos herbicidas convencionais (MAGALHÃES et al. 2013; FAROOQ et al., 2011; BELINELO et al., 2008), pois alguns aleloquímicos apresentam uma fitotoxicidade capaz de interromper os processos metabólicos normais da planta (WEIR et al. 2004). As substâncias produzidas pelas plantas (ou outros organismos), que possuem capacidade de influenciar negativamente o desenvolvimento de outras plantas, são denominadas herbicidas naturais ou bioherbicidas (MAGALHÃES et al. 2013).

A emissão dos aleloquímicos provenientes das espécies vegetais pode ocorrer em diferentes partes desta e apresentar mecanismos distintos (FRANCO, 2013). Esses compostos são normalmente utilizados na defesa contra o ataque de patógenos e herbivoria (HABERMANN et al., 2016). A maioria das plantas produz e estoca grande número de substâncias alelopáticas (RICE, 1987), as quais podem ser encontradas em folhas, cascas, raízes, exsudatos radiculares, flores e frutos (IQBAL & FRY, 2012). O acúmulo dos aleloquímicos na rizosfera ocorre por lixiviação das folhas ou por outras partes aéreas da planta, também ocorre por meio de emissões voláteis, por exsudação, quebra da casca e pela serapilheira (WEIR et al. 2004). Por intermédio dos exsudatos radiculares, muitas plantas inibem o crescimento das plantas vizinhas, dessa forma, há uma limitação na competição por recursos (HOFMANN, 2015).

Durante o processo de desenvolvimento da planta o metabolismo secundário pode ser afetado pela radiação, temperatura, umidade, vento, fatores edáficos e outros fatores ambientais (WANG et al, 2012). Esses fatores, assim como a idade da planta, influenciam a produção dessas substâncias quantitativa e qualitativamente (HABERMANN et al., 2016). Plantas submetidas a condições adversas tendem a alterar a síntese de aleloquímicos (SOUZA FILHO & ALVES, 2002). A capacidade de adaptação das plantas submetidas a condições de estresse é influenciada pela duração e magnitude do mesmo, além da variabilidade genética (SILVA et al. 2002). Elas possuem uma complexa rede de sinalização que é altamente coordenada para gerar metabólitos de pequenas moléculas, responsáveis por sua regulação e a otimização das resposta as alterações ambientais (ZERBE, 2015). A concentração de alguns aleloquímicos pode aumentar na planta que está sob estresse, porém o contrário também pode ocorrer para outros aleloquímicos presentes na mesma planta (SOUZA FILHO et al., 2002). Apesar dessa variação, o aumento significativo da produção de aleloquímicos frequentemente é relatado em plantas expostas a condições estressantes, sendo respectivamente associado ao aumento do potencial alelopático (GOGA et al., 2016; FELIX, 2012; GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SOUZA FILHO et al., 2002).

Um dos fatores ambientais e agrônômicos que alteram a produção de metabólitos secundários é a disponibilidade hídrica (FRANZ, 1983; PALEVITCH, 1986; LARCHER, 2000). Vários fatores metabólicos e fisiológicos das plantas podem ser afetados em condições de baixa disponibilidade hídrica (e.g.: fechamento estomático, limitações na assimilação de CO₂, redução da biomassa, mobilização de reservas), e consequentemente alteram o metabolismo secundário (FRANCO 2012; GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SILVA et al., 2002). De acordo com Selmar (2013), as concentrações dos aleloquímicos geralmente são reforçados em plantas que sofreram estresse hídrico.

A espécie utilizada para este estudo é a *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe pertencente à família Zingiberaceae, conhecida popularmente como zedoária ou falso-açafrão (ALMEIDA, 2012; WOLF, 2008). É uma planta herbácea, aromática e provida de rizoma rico em óleo essencial (ALMEIDA, 2012). Sua multiplicação ocorre apenas pelos rizomas, que devem ser colhidos quando a planta perde suas folhas, após a floração. (WOLF, 2008). Originária de Bangladesh, Índia e Sri Lank (PORTELLA, 2016), suas propriedades medicinais já foram utilizadas para o tratamento de diversas doenças (ALMEIDA, 2012; LAKSHMI et al., 2011). Também apresenta potencial antimicrobiano e antiinflamatório (ALMEIDA, 2012), além de ser utilizada pela indústria para obtenção de corantes (WOLF, 2008). *C. zedoaria* possui um perfil químico constituído principalmente por compostos

terpênicos, dos quais as substâncias monoterpênicas e sesquiterpênicas são as principais (PORTELLA, 2016). Na composição química do óleo essencial foram identificados 24 compostos (RAHMAN et al., 2014). Diferentes atividades biológicas realizadas pela *C. zedoaria* estão relacionadas com a deidrocurdiona, que é um sesquiterpeno (ALMEIDA, 2012) e com a curcumina, um composto fenólico que possui atividade antioxidante e antineoplásica (POLAQUINI, 2016).

Entretanto, apesar das espécies medicinais apresentarem-se como um eficiente recurso biológico com potencial uso na indústria farmacêutica (MAGALHÃES et al., 2013), ainda não há muitas pesquisas acerca do real efeito da deficiência hídrica nas espécies vegetais (SELMAR, 2013; SOUZA FILHO et al., 2002), principalmente nas plantas medicinais (SILVA, 2002). Ou seja, os trabalhos referentes ao efeito da redução da disponibilidade hídrica no metabolismo secundário de plantas medicinais, não são muito relatados na literatura, e existe a possibilidade que a quantidade de compostos extraídos dessas plantas seja otimizado de acordo com as suas respostas frente às condições adversas.

Diante do exposto, a hipótese desse trabalho é que a deficiência hídrica influencia positivamente a produção dos metabólitos secundários do rizoma de *Curcuma zedoaria* e, por consequência, a planta apresenta um aumento no seu potencial alelopático.

2. Objetivo

- Avaliar a influência da deficiência hídrica no potencial alelopático do extrato aquoso de rizomas de *C. zedoaria* na germinação e no crescimento inicial de espécies sensíveis.

3. Material e Métodos

3.1. Material vegetal

Plantas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe foram cultivadas em casa de vegetação, onde um grupo foi submetido à deficiência hídrica (CDH) e outro grupo não (SDH). Durante este experimento preliminar os dados de condutância estomática e potencial água foliar (Ψ_w) foram avaliados. Após 35 dias os baixos valores dos parâmetros avaliados comprovaram o efeito da deficiência hídrica no nível de condutância estomática (gráfico 1) e do potencial água (tabela 1) dos indivíduos que tiveram o fornecimento de água suspenso. Após essa constatação, os rizomas foram recolhidos e guardados e armazenados a -20 °C.

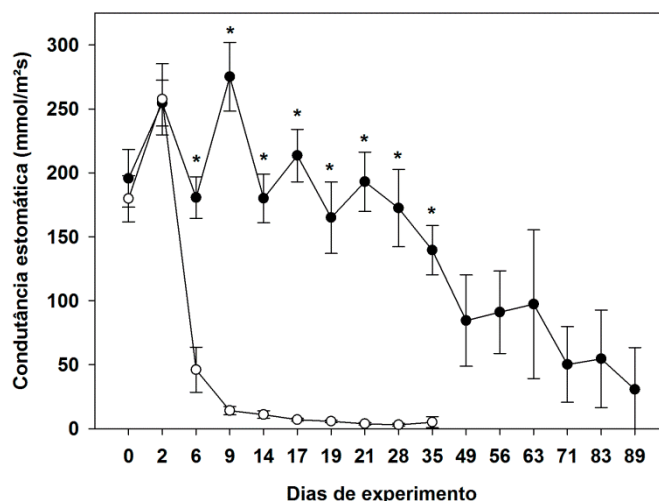


Gráfico 1: Níveis de condutância estomática de plantas de *C. zedoaria* submetidas à deficiência hídrica (CDH), círculo branco e não submetidas à deficiência hídrica (SDH), círculo preto.

Tabela 1: Potencial água foliar (Ψ_w) de *C. zedoaria*.

Dia	SDH	CDH
35	$-0,79 \pm 0,05a$	$-2,64 \pm 0,84b$

3.2. Preparo dos extratos

Os extratos foram preparados no laboratório de ecofisiologia vegetal do departamento de botânica do instituto de biociências da UNESP de Botucatu. Para obtenção do extrato aquoso os rizomas foram seccionados, pesados em um erlenmeyer e adicionado água deionizada a 100° C como solvente para extração. Os extratos foram levados ao banho ultrassônico por 15 minutos, 4 vezes com um intervalo de 5 minutos. Após este procedimento, os extratos foram armazenados na geladeira por 24h. Depois desse período as soluções foram filtradas para utilização nos bioensaios. Os extratos foram obtidos nas concentrações de 5, 10, 50 e 100 g L⁻¹. O controle foi realizado utilizando-se água deionizada.

3.3. Espécies testes

Foram utilizadas sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.cv. Aodai). Ambas as espécies escolhidas apresentam germinação rápida e são consideradas sensíveis aos efeitos dos metabólitos secundários (FRANCO, 2013; CASTAGNARA 2012).

3.4. Ensaios biológicos

Para os ensaios biológicos as sementes de sorgo utilizadas foram colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio 2,5 %. As sementes de sorgo ficaram na solução por 10 minutos e depois foram lavadas em água corrente com o auxílio de uma peneira por aproximadamente 2 minutos. As sementes de pepino utilizadas já apresentavam tratamento prévio para descontaminação e eram tratadas com fungicida.

As sementes de ambas as espécies foram colocadas para germinar em placas de Petri Ø 9cm, com duas folhas de papel para germinação em cada. As placas juntamente com o papel foram previamente autoclavados a 120° C, 1 atm por 20 minutos, assim como a água deionizada utilizada no controle. Em cada placa de petri foi adicionado 10ml da solução estoque de cada concentração dos extratos estudados (CDH e SDH). Cada placa continha 10 sementes e foram realizadas 4 repetições para cada tratamento e para o controle. As placas foram seladas com filme de PVC para evitar a evaporação dos extratos ou da água deionizada e a entrada de contaminantes, e mantidas em câmara de germinação (BOD) à 25°C, com fotoperíodo de 12h durante 120 horas (5 dias).

3.5. Parâmetros de avaliação

Em condições de laboratório foram avaliados os efeitos dos extratos sobre a germinação, percentagem final de germinação (% G), índice de velocidade de germinação (IVG), crescimento de raiz e parte aérea.

A germinação foi avaliada diariamente até o final do experimento, realizando-se a contagem do número de sementes germinadas. A contagem foi realizada preferencialmente no mesmo horário e iniciada após 24h da montagem do ensaio. Considerou-se como semente germinada aquela que apresentava aproximadamente 2 mm de raiz (BARREIRO et al., 2005).

A percentagem final de germinação (% G) representa o número total de sementes germinadas ao final do experimento.

O índice de velocidade de germinação (IVG) exibe o número de sementes germinadas a cada dia, sendo expresso pela seguinte fórmula: $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 \dots G_n/N_n$, onde G corresponde ao número de sementes germinadas e N é igual ao número de dias após o ensaio (CASTGNARA et al., 2012).

O crescimento de raiz e parte aérea foram mensurados com paquímetro, sendo os valores registrados em mm.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de *Holm-Sidak*, ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados obtidos foram transformados em percentagem relativa ao controle para apresentação gráfica.

4. Resultados e Discussão

4.1. Germinação

Para que ocorra a germinação é necessário que a semente viável esteja sob condições favoráveis. Essas condições são atendidas de acordo com a disponibilidade de água, oxigênio e temperatura compatíveis ao alongamento embrionário (FERREIRA & BORGUETTI, 2004). A quantidade ideal desses fatores varia de acordo com as características da semente de cada espécie, e ainda pode ser alterada por mudanças abióticas (e.g.: substâncias alelopáticas).

As alterações celulares que ocorrem durante a germinação são complexas e iniciam-se com a embebição da semente. Porém, visualmente, o indicativo que a germinação foi completada ocorre quando a radícula (ou outro tecido embrionário) emerge dos tecidos que a envolvem. Este ponto marca o fim da germinação e o início do crescimento da plântula. (BEWLEY et al. 2013). Independente do tratamento e da concentração (Tabela 2), a percentagem de sementes de pepino germinadas foi alta (97,5 ~ 100%) e não apresentou diferença. Esse resultado evidencia que o extrato não interfere na porcentagem final de sementes germinadas para a referida espécie, de modo que não há diferença entre os dados obtidos.

Tabela 2: Efeito do extrato aquoso de *C. zedoaria* submetida à deficiência hídrica (CDH) e não submetida à deficiência hídrica (SDH) na germinação de sementes de pepino.

Concentração	Germinação (%) *	
	CDH	SDH
Controle	100 a	100 a
5 g L ⁻¹	100 a	97,5 a
10 g L ⁻¹	100 a	97,5 a
50 g L ⁻¹	97,5 a	97,5 a
100 g L ⁻¹	100 a	97,5 a

*Após 120 horas de incubação. Letras iguais na mesma coluna representam que não houve diferença estatística.

A alta taxa de germinação de pepino, também foi encontrada em estudos realizados com o extrato aquoso da parte área de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (BARREIRO et al.; 2005) e de *Avena sativa*, *Cajanus cajan*, *Lolium multiflorum* e *Brachiaria brizantha*, sendo que os cinco últimos apresentaram um valor médio de germinação de 95,60% (CASTAGNARA et al.; 2012).

Dependendo da espécie estudada, o processo de germinação pode variar de horas a dias (FERREIRA & BORGUETTI, 2004) e ainda, os extratos podem ser seletivos a mono ou eudicotilidôneas. Deste modo, ao expor espécies diferentes ao mesmo extrato, podemos nos deparar com disparidades nas respostas. Fato observado na taxa de germinação das sementes de sorgo que apresentou um comportamento distinto comparado ao pepino. Apresentando diferença em relação ao controle em todas as concentrações e entre os tratamentos nas doses 5 e 50 g L⁻¹ (Tabela 3).

Tabela 3: Efeito do extrato aquoso de *C. zedoaria* submetida à deficiência hídrica (CDH) e não submetida a deficiência hídrica (SDH) na germinação de sementes de sorgo.

Concentração	Germinação (%) *	
	CDH	SDH
Controle	75 a	75 a
5 g L ⁻¹	40 b	15 b
10 g L ⁻¹	22,5 b	20 b
50 g L ⁻¹	25 b	52,5 b
100 g L ⁻¹	12,5 b	27,5 b

*Após 120 horas de incubação. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatísticas (p<0,05).

Na concentração 5 g L⁻¹ o tratamento que mais inibiu a percentagem de germinação foi o sem deficiência hídrica (SDH). Já na concentração 50 g L⁻¹ o efeito alelopático na germinação foi mais agressivo no tratamento com deficiência hídrica (CDH). Portella (2016) realizou estudos com *C. zedoaria* e comprovou que o déficit hídrico modifica os padrões metabólicos no ciclo da dormência do rizoma e causa a degradação das reservas de amido. O uso de açúcares solúveis e amido varia de acordo com a espécie, podendo ser utilizado durante o processo de germinação ou no estágio de plântula (FELIX, 2012). Contudo, a

variação química dos metabólitos dessa espécie é pouco relatada na literatura (LOBO et al., 2009).

De acordo com os resultados, é possível afirmar que existe uma diferença na produção dos metabólitos secundários de *C. zedoaria*, mas que somente em concentrações maiores do extrato CDH as mudanças nos compostos químicos causadas pelo déficit hídrico são prejudiciais ao processo de germinação do sorgo. Segundo Rakić et al. (2015), um dos eventos ambientais que mais promove mudanças na fisiologia das plantas é a deficiência hídrica. O ajuste às mudanças do meio é necessário para que as plantas mantenham sua performance fisiológica, uma vez que o período de seca modifica os padrões metabólicos e fisiológicos (SOUZA & LUTTGE, 2015). O rizoma de *C. zedoaria* apresenta um potencial de água elevado, indicando que essas estruturas acumulam água, favorecendo assim, a superação das condições desfavoráveis do ambiente (PORTELLA, 2016). Portanto, devido ao armazenamento de água pelo rizoma de *C. zedoaria* quando submetido a condições de déficit hídrico, é possível que o extrato aquoso em baixas concentrações não apresente efeito pois os componentes químicos provenientes do metabolismo secundário estão muito diluídos, no entanto, a alteração desses compostos em relação ao tratamento sem déficit hídrico, é comprovada justamente pelo fato das concentrações maiores apresentarem respostas diferentes entre os tratamentos.

4.2. Índice de velocidade de germinação (IVG)

Em muitas espécies o número de sementes germinadas não é afetado, porém podemos ver o efeito na diminuição do IVG. De acordo com os resultados do índice de velocidade de germinação (IVG) do pepino, todas as concentrações do tratamento SDH apresentam diferença em relação ao controle, no entanto, o tratamento CDH só apresenta diferença nas doses mais altas (50 e 100 g L⁻¹) (Gráfico 2).

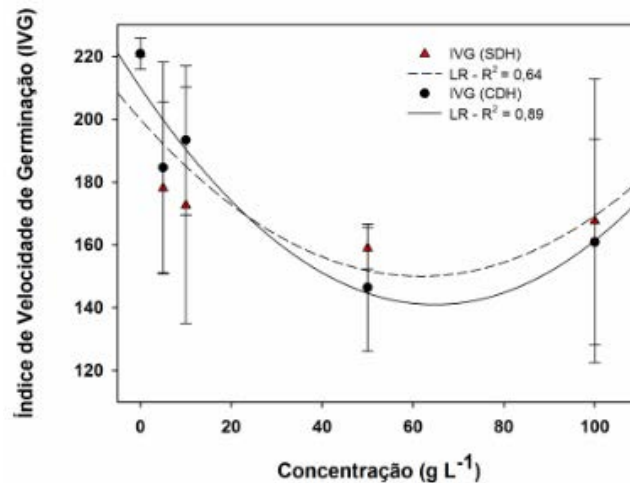


Gráfico 2: IVG de sementes de pepino sob efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos de *C. zedoaria* em diferentes condições de disponibilidade hídrica. SDH = Sem deficiência hídrica; CDH = Com deficiência hídrica; LR = Linha de regressão.

Apesar dos extratos não afetarem a percentagem final de germinação para a semente de pepino, os resultados evidenciam sua capacidade de diminuir a velocidade de germinação em ambos os tratamentos nas maiores concentrações, ocasionando, portanto, um atraso na emissão da radícula.

As sementes de sorgo apresentaram diferença no IVG de todas as concentrações em relação ao controle (Gráfico 3). Contudo, comparando-se os tratamentos, houve diferença somente na dose mais baixa (5 g L⁻¹), onde o IVG foi menor no tratamento SDH, evidenciando que assim como no processo de germinação, a concentração deste tratamento apresenta um potencial alelopático maior. A queda na velocidade de germinação indica que os compostos aleloquímicos, estão agindo de modo a afetar os mecanismos de divisão e alongamento celular (FRANCO, 2013). Esse atraso na germinação, também é relacionado a ativação dos mecanismos de detoxicação celular, que inativam o efeito dos aleloquímicos na germinação ao custo do maior tempo para o processo (HOAGLAND E WILLIAMS, 2004).

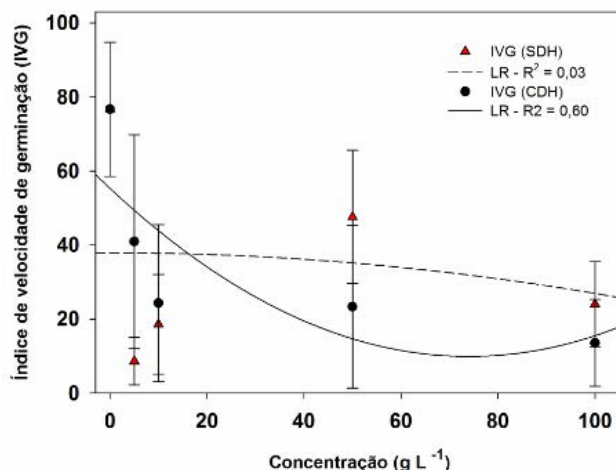


Gráfico 3: IVG de sementes de sorgo sob efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos de *C. zedoaria* em diferentes condições de disponibilidade hídrica. SDH = Sem deficiência hídrica; CDH = Com deficiência hídrica; LR = Linha de regressão.

França et al. (2008) ao comparar o efeito alelopático de diferentes extratos (matanólico, aquoso e hexanólico) produzidos com as folhas de *Azadirachta indica* A. Juss., também demonstrou que para a semente de sorgo, independente da concentração utilizada, o extrato aquoso foi o mais prejudicial ao IVG. No entanto, para sementes de picão preto, todos os extratos reduziram o IVG com o aumento da concentração. Esses dados comprovam que tanto as características das sementes, como o tipo de extrato utilizado são importantes para averiguar o efeito alelopático. Pois além de cada espécie responder de acordo com as suas peculiaridades, o extrato escolhido para o ensaio biológico também tem influência nessas respostas.

4.3. Crescimento raiz e parte aérea

Ambas as espécies estudadas, apresentam inibição no crescimento de raiz em comparação ao controle, independente do tratamento e da concentração (Tabela 4 e 5). Ou seja, a condição de deficiência hídrica na qual a *C. zedoaria* foi submetida, não é um fator determinante para o atraso de desenvolvimento de raízes, visto que ambos os tratamentos apresentam um potencial de inibição semelhante, evidenciado pela linha de regressão (Gráfico 4 e 5). Segundo Felix (2012) é possível observar os efeitos alelopáticos tanto no índice de crescimento da plântula quanto na percentagem de germinação. Porém, o desenvolvimento da radícula na maioria dos casos se mostra mais sensível aos aleloquímicos do que à germinação,

pois a emergência da raiz depende das reservas da semente, sendo assim, menos vulnerável à presença dos aleloquímicos do que o crescimento de raiz (FERREIRA & AQUILA, 2000; PRATES et al., 2000; BARREIRO et al., 2005). O fato do tratamento CDH não ter apresentado resultado diferente em nenhuma concentração, também pode estar relacionado ao tipo de extrato utilizado e seus respectivos compostos extraídos. De acordo com Franco (2013), a polaridade do solvente é um fator seletivo, pois os metabólitos presentes na planta são selecionados de acordo com a afinidade química de cada solvente.

Em testes realizados com diferentes tipos de flavonoides na germinação e no crescimento de radícula de *Lepidium sativum* L. e *Raphanus sativus* L., demonstrou-se que a germinação foi pouco comprometida, enquanto que o crescimento inicial da raiz apresentou índices de inibição estatisticamente significativos (DE MARTINO et al., 2012).

Tabela 4: Análise de variância do crescimento de raiz de pepino em diferentes concentrações em comparação ao controle.

Concentração (g L ⁻¹)	Tratamentos			
	Com deficiência hídrica (CDH)		Sem deficiência hídrica (SDH)	
	ANOVA	p	ANOVA	p
5	*	0,004	*	0,004
10	*	0,002	*	0,006
50	*	<0,001	*	<0,001
100	*	<0,001	*	<0,001

* Diferença entre médias (p<0,05).

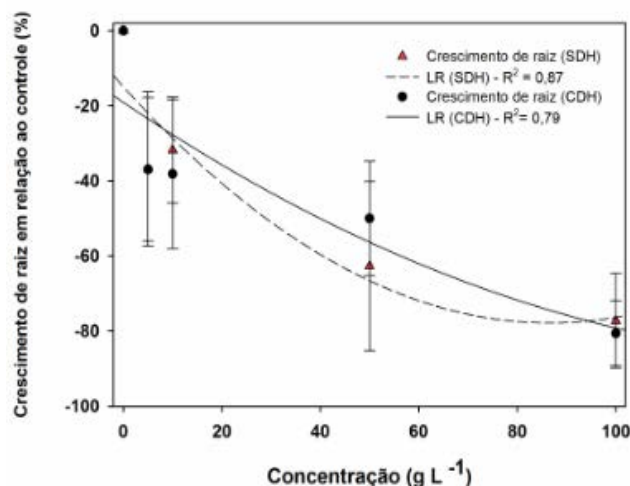


Gráfico 4: Comprimento de raiz de pepino, sob o efeito de diferentes concentrações e tratamentos. SDH= Sem deficiência hídrica; CDH = Com deficiência hídrica; LR = Linha de regressão.

Assim como nas sementes de pepino, as sementes de sorgo também apresentam diferença de ambos os tratamentos e em todas as concentrações em relação ao controle (Gráfico 5). O desenvolvimento inicial de raiz de sorgo também foi significativamente alterado, em estudos com extratos metanólicos de folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. independente da disponibilidade hídrica da época de coleta das folhas (FRANCO, 2013). Da Silveira et al. (2014) ao realizar estudos de atividade alelopática do extrato aquoso extraído das folhas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, em sementes de alface, constatou que houve um declínio no crescimento de raiz. Borella e Pastorini (2009) também encontraram diferença no comprimento deste órgão em plântulas de tomate e picão preto, avaliados com o extrato aquoso de folhas de *Phytolacca dioica* L.

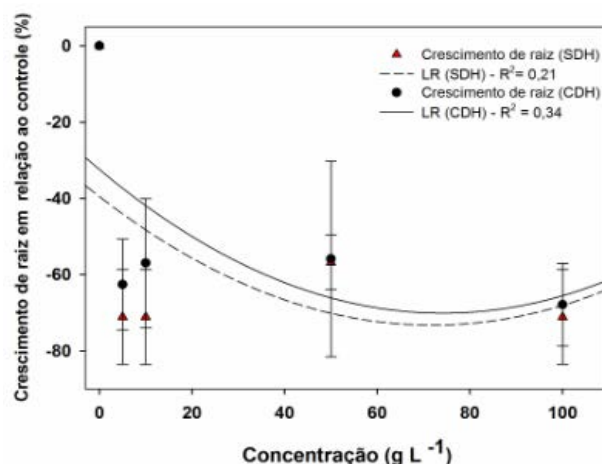


Gráfico 5: Comprimento de raiz de sorgo, sob o efeito de diferentes concentrações e tratamentos. SDH= Sem deficiência hídrica; CDH = Com deficiência hídrica; LR = Linha de regressão.

Tabela 5: Análise de variância do crescimento de raiz de sorgo em diferentes concentrações e tratamentos em comparação ao controle.

Concentração (g L ⁻¹)	Tratamentos			
	Com deficiência hídrica (CDH)		Sem deficiência hídrica (SDH)	
	ANOVA	p	ANOVA	p
5	*	<0,001	*	<0,001
10	*	<0,001	*	<0,001
50	*	<0,001	*	<0,001
100	*	<0,001	*	<0,001

* Diferença entre médias (p<0,05).

As respostas de crescimento de plântulas testadas com aleloquímicos, demonstram que o sistema radicular é o indicativo mais sensível (MIRÓ ET al., 1998). Nossos resultados evidenciam que para ambas as sementes, os efeitos alelopáticos no desenvolvimento da radícula são severos.

Em relação ao desenvolvimento da parte aérea das sementes de pepino, somente a dose mais alta (100 g L⁻¹) do tratamento CDH apresenta diferença em relação ao controle (Tabela 6). O potencial alelopático do tratamento CDH nas concentrações mais altas (50 e 100 g L⁻¹) também foi observado no IVG do pepino e na germinação do sorgo na dose 50 g L⁻¹, sendo mais uma vez comprovado que há uma alteração na composição química de rizomas de *C. zedoaria* que sofreram deficiência hídrica. O fato dessa alteração ser perceptível somente em altas concentrações, deve estar relacionada ao tipo de composto que é alterado e o nível de ação em diferentes concentrações. Ao comparar os tratamentos, as concentrações 10 e 100 g L⁻¹ apresentam diferença na interação, contudo vale relembrar que a dose mais alta do tratamento com CDH foi a única com efeito inibitório (Gráfico 6).

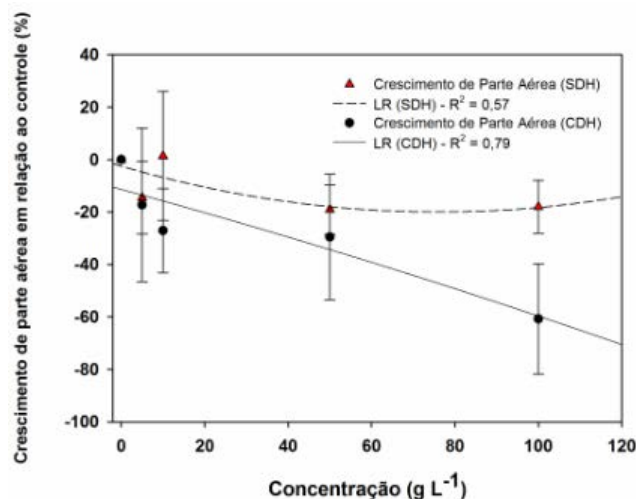


Gráfico 6: Comprimento de parte aérea de pepino, sob o efeito de diferentes concentrações e tratamentos. SDH = Sem deficiência hídrica; CDH = Com deficiência hídrica; LR = Linha de regressão.

Barreiro et al. (2005), ao analisar a massa seca da parte aérea de plântulas de pepino cultivadas no extrato aquoso da parte aérea de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville verificou que o extrato não prejudicou esse parâmetro.

Tabela 6: Análise de variância do crescimento de parte aérea de pepino em diferentes concentrações e tratamentos em comparação ao controle.

Concentração (g L ⁻¹)	Tratamentos			
	Com deficiência hídrica (CDH)		Sem deficiência hídrica (SDH)	
	ANOVA	p	ANOVA	p
5	ns	0,176	ns	0,445
10	ns	0,075	ns	0,915
50	ns	0,073	ns	0,449
100	*	<0,001	ns	0,407

* Diferenças entre médias ($p < 0,05$); ns (não significativo) representa que não há diferenças estatísticas ($p > 0,05$).

Em relação a parte aérea das plântulas de sorgo, todas as concentrações de ambos os tratamentos, apresentam diferença em relação ao controle. (Tabela 7). Fica evidente que a

parte aérea da semente de sorgo é mais sensível aos efeitos fitotóxicos do extrato aquoso de *C. zedoaria* do que a parte aérea das sementes de pepino. Também fica nítida a diferença entre os valores médios dos tratamentos SDH e CDH, sendo que, ao comparar os tratamentos, todas as concentrações apresentam diferença na interação (Gráfico 7).

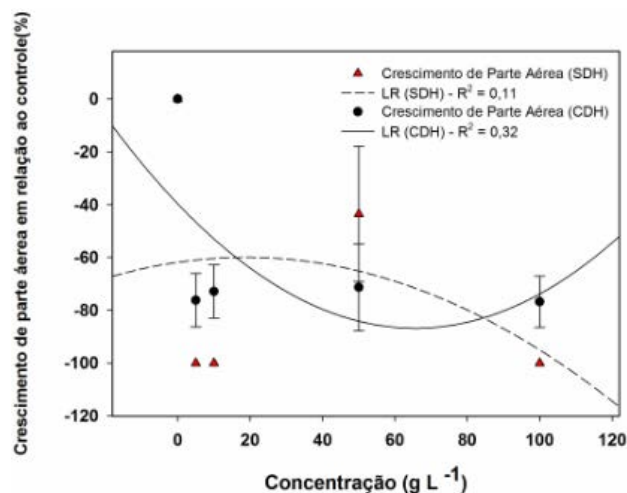


Gráfico 7: Comprimento de parte aérea de sorgo, sob o efeito de diferentes concentrações e tratamentos. SDH = Sem deficiência hídrica; CDH = Com deficiência hídrica; LR = Linha de regressão.

Neto (2010) demonstrou que o comprimento da parte aérea de plantas de sorgo, sofreu redução quando exposto ao extrato aquoso da folha de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth, de modo que o aumento da ação inibitória era corresponde ao aumento da concentração. Essa redução também ocorreu no extrato aquoso de folhas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. a partir da concentração de 60%. Em estudos realizados com extrato aquoso das folhas e das cascas de tronco de *Ocotea odorífera* (Vell.) Rohwer, comprovou-se que esses extratos inibiram o crescimento da parta aérea de sorgo em comparação ao controle (CARMO et al. 2007).

Tabela 7: Análise de variância do crescimento de parte aérea de sorgo em diferentes concentrações e tratamentos em comparação ao controle.

Concentração (mg L ⁻¹)	Tratamentos			
	Com deficiência hídrica		Sem deficiência hídrica	
	ANOVA	p	ANOVA	p
5	*	<0,001	*	<0,001
10	*	<0,001	*	<0,001
50	*	<0,001	*	<0,001
100	*	<0,001	*	<0,001

* Diferença entre médias (p<0,05).

É difícil estabelecer uma correlação entre as respostas das espécies utilizadas no bioensaio, pois de um modo geral, para cada parâmetro avaliado cada espécie apresentou um comportamento diferente. Essa falta de padrão nas respostas está relacionada às características específicas de cada espécie. Contudo, o crescimento de raiz foi afetado nas duas espécies independente do tratamento. É importante ressaltar que a inibição do desenvolvimento do sistema radicular pode ocasionar diminuição na pressão competitiva entre as espécies, favorecendo o estabelecimento da espécie alelopática, ou seja, há um aspecto ecológico muito importante relacionado a esse parâmetro (DA SILVA et al., 2014). Ao contrário do desenvolvimento da raiz, o processo de germinação apresenta padrões bem distintos, de modo que a semente de pepino superou as condições do meio e manteve sua percentagem de germinação elevada. Enquanto que as sementes de sorgo tiveram o seu processo de respiração comprometido, evidenciado pela diferença na taxa de germinação, pois durante este processo, ocorre um aumento rápido na atividade glicolítica associado a uma elevação na taxa de respiração (MAGALHÃES et al., 2013). As sementes de pepinos também mostraram-se mais resistentes do que o sorgo quanto ao desenvolvimento de parte aérea. Contudo, em elevadas concentrações o tratamento CDH afetou tanto esse parâmetro, quanto o IVG do pepino, evidenciando que apesar dessa espécie apresentar efeitos inibitórios menores em algumas avaliações, há alguma alteração nos compostos presentes nesse extrato que dependendo da concentração e do parâmetro estudado aumentam o seu efeito inibitório. Como a *C. zedoaria* é uma planta medicinal que apresenta compostos terpênicos, é possível que haja uma relação entre os resultados encontrados e essas substâncias.

5. Conclusão

Podemos constatar que existe uma alteração na composição/concentração dos metabólitos secundário do rizoma de *C. zedoaria* quando submetido a diferentes condições de disponibilidade hídrica. De modo que, a condição de deficiência hídrica potencializa os efeitos dos aleloquímicos nas concentrações mais altas nos seguintes parâmetros avaliados, como a germinação (sorgo), IVG e crescimento de parte aérea (pepino). Desse modo, seria interessante realizar a caracterização fitoquímica (qualitativa e quantitativa) dos extratos utilizados e isolar os compostos responsáveis pelas alterações observadas e relacioná-los aos efeitos encontrados.

6. Referências

- ALMEIDA, M.C. **Efeitos do processamento por radiação em espécies da família Zingiberaceae: Açafrão (*Curcuma longa* L.), Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e Zedoária (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe).** 122 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2012.
- BARREIRO, A.P. et al. Efeito alelopático de extratos de parte aérea de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] na germinação e desenvolvimento da plântula de pepino. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, p. 4-8, 2005.
- BELINELO, V.J. et al. Alelopatia de *Arctium minus* Bernh (Asteraceae) na germinação e crescimento radicular de sorgo e pepino. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 4, 2008.
- BEWLEY, J.D. et al. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormency*. New York, 3ª Edição Pág. 134 e 136, 2013.
- BORELLA, J; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 67-75, 2009.
- CARMO, F.M.S.; BORGES, E.E.L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, p. 697-705, 2007.
- CASTAGNARA, D.D. et al. Potencial alelopático de aveia, feijão guandu, azevém e braquiária na germinação de sementes e atividade enzimática do pepino. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 2, 2012.
- DA SILVA, M.A.P. et al. Potencial alelopático de *Caryocar coriaceum* Wittm na germinação e crescimento inicial de plântulas de alface. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 13, n. 1, p. 16-24, 2014.
- DA SILVA PAULA, C. et al. Potencial fitotóxico com enfoque alelopático de *Bauhinia unguolata* L. sobre sementes e plântulas de alface e cebola. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 3, 2015.
- DA SILVEIRA, B.D. et al. Atividade alelopática de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, p. 79-85, 2014.
- DE MARTINO, L. et al. b In Vitro Phytotoxicity and Antioxidant Activity of Selected Flavonoids. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, p.5406-5419, 2012.
- FAROOQ, M. et al. The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest management science**, v. 67, n. 5, p. 493-506, 2011.
- FELIX, R.A.Z. **Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (Fr.All.) A.C. Smith sobre a germinação e emergência de plântulas.** 100 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências de Botucatu, 2012.

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.175-204, 2000.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre. Artmed, 2004.

FRANCO, D.M. **Atividade alelopática de *Copaifera langsdorffii* Desf.: Abordagem fitoquímica e molecular**. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências de Botucatu, 2013.

FRANZ, C. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. **Acta Horticulturae**, 132: 203-21, 1983.

FRANÇA, A.C. et al. Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1374-1379, 2008.

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

GOGA, M. et al. Lichen secondary metabolites affect growth of *Physcomitrella patens* by allelopathy. **Protoplasma**, p. 1-9, 2016.

HABERMANN, E. et al. Phytotoxic potential of young leaves from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 531-538, 2016.

HOAGLAND, R.E.; WILLIAMS, R.D. Bioassays-useful tools of the study of allelopathy. In: MACIAS, F.A. et al. (Eds.) **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**. Boca Raton, Florida: CRC Press. . p.315-41, 2004.

HOFMANN, N.R. Epigenetic Battles Underfoot: Allelopathy among Plants Can Target Chromatin Modification. **The Plant Cell**, v. 27, n. 11, p. 3021-3021, 2015.

INDERJIT et al. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. **Trends in ecology & evolution**, v. 26, n. 12, p. 655-662, 2011.

IQBAL, A.; FRY, S.C. Potent endogenous allelopathic compounds in *Lepidium sativum* seed exudate: effects on epidermal cell growth in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Journal of experimental botany*, v. 63, n. 7, p. 2595-2604, 2012.

LAKSHMI, S.; PADMAJA, G.; REMANI, P. Antitumour effects of isocurcumenol isolated from *Curcuma zedoaria* rhizomes on human and murine cancer cells. **International Journal of Medicinal Chemistry**, 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RIMA, 531p, 2000.

LOBO, R. et al. *Curcuma zedoaria* Rosc. (white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p. 13-21, 2009.

MAGALHÃES, H. M. et al. Ação alelopática de óleos essenciais de alecrim-pimenta e capim santo na germinação de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 485-496, 2013.

MIRÓ, C.P.; FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileiro**, v. 33, n. 8, p. 1261-1270, 1998.

NETO, E.N.A. **Potencial alelopático de leucena e de sábia na germinação, na emergência e no crescimento do sorgo**. 29 f. TCC- Universidade Federal de Campina Grande, Patos – PB, 2010.

OYENIYI, T. A. et al. Allelopathic Effects of *Tithonia diversifolia* Extracts on Biochemical Parameters and Growth of *Vigna unguiculata*. **International Journal of Biology**, v. 8, n. 3, p. 45, 2016.

PALEVITCH, D. Recent advances in the cultivation of medicinal plants. **Acta Horticulturae**, 208: 29-36, 1986.

POLAQUINI, C.R. **Síntese e citotoxicidade de curcuminoides e híbridos curcuminacinaldeído**. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, 2016.

PORTELLA, R.O. **Padrão de respostas metabólicas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe sob a aplicação de reguladores vegetais e em condições de deficiência hídrica**. 92 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências de Botucatu, 2016.

PRATES, H.T. et al. Efeito do extrato aquoso de *Leucena* na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p. 909-14, 2000

RAHMAN, A. et al. In vitro antioxidant potential of the essential oil and leaf extracts of *Curcuma zedoaria* Rosc. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 4, n. 2, p. 17, 2014.

RAKIĆ et al. Effects of different light intensities, CO₂ concentrations, temperatures and drought stress on photosynthetic activity in two paleoendemic resurrection plant species *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*. **Environmental and Experimental Botany** 109, 63–72, 2015.

RICE, E. L. Allelopathy. Academic Press, New York – USA. 1ª Edição, 1974

RICE, E.L. Allelopathy: an update. **The Botanical Review**, Bronx, v. 45, 1979.

RICE, E. L. Allelopathy: an overview. In: waller, G. R. Allelochemical, role in agriculture and forestry. Washington, D.C.: **American Chemical Society**, p. 7-22. (ACS. Symposium Series, 330), 1987.

SELMAR D., KLEINWÄCHTER M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. **Plant Cell Physiol**, 54(6): 817-26, 2013.

SILVA, S.R.S et al. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 24, p. 1363-1368, 2002.

SOUZA. G. M.; LUTTGE. U. Stability as a Phenomenon Emergent from Plasticity Complexity Diversity in Eco-Physiology. **Progress in Botany**, v. 76, p. 211-239, 2015.

SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. Mecanismos de ação dos agentes alelopáticos. Alelopatia. Princípios Básicos e Aspectos Gerais. **Embrapa Amazônia Oriental**. Belém, Brasil, p. 132-154, 2002.

SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M.; DUTRA, S. Estádio de desenvolvimento e estresse hídrico e as potencialidades alelopáticas do capim-marandu. **Planta daninha**, v. 20, n. 1, 2002.

WANG, H. et al. Comparative seasonal variation and chemical composition of essential oils from the leaves and stems of *Schefflera heptaphylla* using microwave-assisted and conventional hydrodistillation. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n. 1, p. 229-237, 2012.

WEIR, T.L.; PARK, S-W.; VIVANCO, J.M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. Current opinion in plant biology, v. 7, n. 4, p. 472-479, 2004.

WOLF, L.G. **Avaliação da qualidade físico-química de drogas vegetais**. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia e Farmacologia, 2008.

YIN, W. Feedback control in a general almost periodic discrete system of plankton allelopathy. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

ZERBE, P. Small molecules with big impact: terpenoid phytoalexins as key factors in maize stress tolerance. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 11, p. 2193-2194, 2015.