

**PROPAGAÇÃO, CARACTERÍSTICAS
FOTOSSINTÉTICAS, ESTRUTURAIS,
FITOQUÍMICAS E CRESCIMENTO INICIAL
DE *Piper aduncum* L. (PIPERACEAE)**

SARA DOUSSEAU

2009

SARA DOUSSEAU

**PROPAGAÇÃO, CARACTERÍSTICAS
FOTOSSINTÉTICAS, ESTRUTURAIS,
FITOQUÍMICAS E CRESCIMENTO INICIAL DE
Piper aduncum L. (PIPERACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador
Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Dousseau, Sara.

Propagação, características fotossintéticas, estruturais,
fitoquímicas e crescimento inicial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae)
/ Sara Dousseau. – Lavras : UFLA, 2009.

129 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Bibliografia.

1. Anatomia de órgãos vegetativos. 2. Germinação. 3. Estaquia
caulinar. 4. Clorofila. 5. Carotenóides. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 583.9250416

SARA DOUSSEAU

**PROPAGAÇÃO, CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS,
ESTRUTURAIS, FITOQUÍMICAS E CRESCIMENTO INICIAL DE *Piper
aduncum* L. (PIPERACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 18 de Fevereiro de 2009.

Prof. Dr Eduardo Alves

UFLA

Profª. Dr Fernanda Carlota Nery

IFTE-MUZAMBINHO

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga
DBI-UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Jairo e Terezinha.

Ao meu companheiro, Lúcio.

Aos meus filhos, Rachel, Lucas e Lineu.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sinto sempre estar comigo.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio, fundamental na minha vida;

A meu querido companheiro Lúcio, por estar sempre presente;

Aos meus amados filhos, Rachel, Lucas e Lineu, que “sempre” compreenderam a minha luta;

Aos professores Amauri Alves de Alvarenga, Evaristo Mauro de Castro e José Eduardo Brasil Pereira Pinto, que me acolheram, sempre confiando, incentivando e me orientando;

Ao Marcelo Murad Magalhães, pelo exemplo de humanidade e companheirismo;

Ao Érico Lima Junior e Fernanda Carlota Nery, pelo exemplo de honestidade e determinação;

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de desenvolver este trabalho e concluir mais uma etapa de minha vida acadêmica.

A todos os professores do curso de Fisiologia Vegetal, pelos conhecimentos transmitidos dentro e fora da sala de aula.

A todos os meus colegas de curso, pelo apoio e amizade.

Aos meus companheiros de laboratório, em especial a Fernanda, Izabel, Elma, Joeferson, Eduardo, Túlio, Débora, Mariana e Diego, pela amizade, ajuda, disposição e incentivo.

Ao professor Renato Mendes Guimarães, do Departamento de Agricultura, pelo apoio e conhecimentos transmitidos.

Ao professor Eduardo Alves, do Departamento de Fitopatologia, pela dedicação e orientação fundamental na microscopia eletrônica.

Aos funcionários do Departamento de Biologia/Setor de Fisiologia Vegetal, em especial ao Joel, Odorêncio, Lena, Célen, Dartagnan e Evaristo, pela amizade e ajuda durante o curso.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram para tornar possível que se cumprisse mais essa etapa da minha vida.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral	2
2 Referencial teórico.....	3
2.1 Caracterização de <i>Piper aduncum</i> L.....	3
2.2 Importância de <i>Piper aduncum</i>	5
2.3 Características anatômicas e composição química dos órgãos vegetais	9
2.4 Características fisiológicas da propagação sexuada.....	11
2.5 Características fisiológicas e anatômicos da propagação assexuada	16
2.6 Influência da intensidade da radiação no desenvolvimento das plantas	24
CAPÍTULO 2: Características estruturais e análise histoquímica do limbo de <i>Piper aduncum</i> L. (Piperaceae)	40
1 Resumo	41
2 Abstract.....	42
3 Introdução	43
4 Material e métodos.....	44
4.1 Caracterização estrutural.....	44
4.2 Análise histoquímica.....	46
5 Resultados e discussão.....	46
5.1 Caracterização estrutural.....	46
5.2 Análise histoquímica.....	56
6 Conclusões.....	62
7 Referências bibliográficas.....	63
CAPÍTULO 3: Características fisiológicas e anatômicas da propagação sexuada de <i>Piper aduncum</i> L. (Piperaceae).....	66

1 Resumo	67
2 Abstract.....	68
3 Introdução	69
4 Material e métodos.....	71
5 Resultados e discussão.....	73
6 Conclusões.....	81
7 Referências bibliográficas.....	82
CAPÍTULO 4: Características fisiológicas e anatômicas da propagação assexuada de <i>Piper aduncum</i> L. (Piperaceae).....	
1 Resumo	87
2 Abstract.....	88
3 Introdução	89
4 Material e métodos.....	90
4.1 Estudos com diferentes substratos	90
4.2 Caracterização anatômica das estacas.....	92
5 Resultados e discussão.....	93
5.1 Estudo de diferentes substratos.....	93
5.2 Caracterização anatômica	101
6 Conclusões.....	105
7 Referências bibliográficas.....	106
CAPÍTULO 5: Desenvolvimento inicial e produção de óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> L. (Piperaceae), sob diferentes condições de sombreamento	
1 Resumo	111
2 Abstract.....	112
3 Introdução	113
4 Material e métodos.....	115
5 Resultados e discussão.....	117
6 Conclusões.....	125

7 Referências bibliográficas.....	126
-----------------------------------	-----

RESUMO

DOUSSEAU, Sara. **Propagação, características fotossintéticas, estruturais, fitoquímicas e crescimento inicial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae)**. 2009. 129p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Piper aduncum L. (Piperaceae), conhecida como pimenta-de-macaco, possui propriedades inseticidas e fungicidas, com ampla aplicação na agricultura e medicina. É uma espécie arbustiva com potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas, principalmente de mata ciliar. Embora seja uma espécie de interesse comercial, poucos são os estudos referentes aos fatores que influenciam sua propagação e desenvolvimento inicial. Sendo assim, objetivou-se realizar uma caracterização estrutural da espécie e de suas estruturas reprodutivas, bem como avaliar a influência de fatores anatômicos, fisiológicos e bioquímicos que poderiam influenciar na germinação dos diásporos e a rizogênese de estacas caulinares. Buscou-se, ainda, verificar a influência de diferentes níveis de sombreamento no desenvolvimento inicial e na produção de óleo essencial de mudas de *P. aduncum*. A espécie possui características estruturais no limbo que podem subsidiar a identificação. Os diásporos são diminutos e de constituição protéica. A germinação é epígea fanerocotiledonar, com protrusão da radícula aos sete dias após semeadura e emergência da plântula aos 16 dias. O comportamento dos diásporos é fotoblástico positivo e a temperatura de 20-30°C possibilita maior germinabilidade e melhor expressão do vigor. Estacas caulinares possuem diferenças bioquímicas e anatômicas, que podem constituir barreiras à rizogênese; para melhor enraizamento, recomenda-se a utilização de estacas retiradas das porções apicais ou medianas de ramos plagiotrópicos, efetuando-se o plantio em substrato areia. O desenvolvimento da espécie é favorecido sob 50% de sombreamento, não havendo influência no teor de óleo essencial de toda a parte aérea.

Comitê Orientador: Amauri Alves de Alvarenga (Orientador) – UFLA, Evaristo Mauro de Castro (Coorientador) – UFLA e José Eduardo Brasil Pereira Pinto (Coorientador) – UFLA

ABSTRACT

DOUSSEAU, Sara. **Propagation, photosynthetic characteristics, structural, phytochemistry and initial growing of *Piper aduncum* L. (Piperaceae)**. 2009. 129p. Dissertation (Master Degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Piper aduncum L. (Piperaceae) is known as “pimenta -de - macaco”. For its fungicide and insecticide proprieties, it has large application in both agriculture and medicine. This shrub species has the potential to be used in the recovery of degraded areas, mainly in native forests. Although it has commercial importance, a few publications are related to the factors influencing on its propagation and initial growth. This work was carried out with the objective of characterizing the reproductive structures and evaluating the effect of anatomical, biochemical and physiological factors on the germination of diaspores and rhizogenesis of shoot cuttings, as well as verifying the influence of different levels of shading on the initial growth and the essential oil production in *P. aduncum* seedlings . The species has structural characteristics in the leaf blade that could help its identification. The diaspores are small and proteic. The germination - epigea fanerocotyledon - shows root protrusion seven days afer sowing. The plantled emergence occurs at 16 days. The diaspore behavior is photoblastic positive. The temperature of 20-30 °C was found to cause higher germination and betler vigor. Shoot cuttings have different anatomical and biochemical differences. Such differences might become barriers to rhizogenesis. For better rooting, cuttings from apical or median regions of plagiotropic shoots should be planted in the sand substrate. This species development is favoured by 50% of shading. This technique has no influence upon the essential oil level of the areal part of the plant.

Guidance Committe: Amauri Alves de Alvarenga (Major Professor) – UFLA,
Evaristo Mauro de Castro – UFLA and José Eduardo Brasil Pereira
Pinto – UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O extrativismo de plantas de uso medicinal da flora nativa nos ecossistemas tropicais tem levado a reduções drásticas das populações naturais, seja devido ao processo predatório de exploração, seja pelo desconhecimento dos seus mecanismos de perpetuação. Assim, a domesticação e o cultivo são opções para a obtenção da matéria-prima de interesse farmacêutico e redução do extrativismo nas formações florestais (Reis et al., 2007).

Piper aduncum L. (Piperaceae), conhecido como pimenta-de-macaco, é nativo da América Tropical e amplamente distribuído em quase todo o território brasileiro, principalmente na Região Sudeste, onde ocorre espontaneamente em pastagens e beiras de matas. É uma espécie umbrófila, encontrada em várias formações florestais (Lorenzi & Matos, 2002).

A espécie apresenta grande importância ecológica, devido à sua frutificação prolongada e dispersão zoocórica, sendo seus frutos bastante atrativos para a fauna. É colonizadora de áreas alteradas, podendo ser utilizada para recomposição de ambientes degradados, além de ser considerada invasora em diversas regiões do mundo. Apresenta elevado potencial econômico em razão das diversas aplicações do óleo essencial extraído da parte aérea, o qual é utilizado principalmente como inseticida e fungicida, na agricultura e medicina.

Entretanto, poucos são os estudos referentes à propagação, tanto pela forma sexuada quanto pela assexuada e ao crescimento inicial em resposta a fatores do ambiente físico, que favorecem o extrativismo dessa espécie. Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho realizar estudos sobre duas vias de propagação (sexuada e assexuada), caracterização estrutural do espécime e de suas estruturas reprodutivas, e a influência de diferentes níveis de sombreamento sobre o crescimento inicial e a produção de óleo essencial de *P. aduncum*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Caracterização de *Piper aduncum* L.

Piper aduncum L. é popularmente conhecido como falso-jaborandi, aperta-ruão, aperta-joão, jaborandi do mato, pimenta-do-fruto-ganchoso, matico e pimenta-de-macaco (Vianna & Akisue, 1997; Lorenzi & Matos, 2002).

Segundo a classificação taxonômica de Cronquist (1981), pertence à divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Magnoliidae, ordem Piperales, família Piperaceae e gênero *Piper*. A família Piperaceae tem larga distribuição no mundo, sendo composta por cerca de 10 a 12 gêneros, possuindo em torno de 1400 espécies, distribuídas em todas as regiões tropicais. No Brasil, essa família está representada por cinco gêneros (*Piper*, *Peperomia*, *Potomorphe*, *Ottonia* e *Sarcorhachis*) e cerca de 460 espécies (Barroso et al. 2002; Souza & Lorenzi, 2005).

As espécies do gênero *Piper* são comumente mais conhecidas em razão de seu uso comercial e na medicina tradicional. As sementes de *Piper nigrum* constituem a conhecida pimenta-do-reino, sendo muito utilizada como tempero na preparação de alimentos. Na Jamaica, *Piper aduncum* e *Piper hispidum* são considerados remédios para dor de estômago. *Piper amalago*, com distribuição do México até o Brasil, é utilizada para aliviar dores no peito, e como agente anti-inflamatório. Raízes e frutos de *Piper chaba* têm numerosas aplicações na medicina e são usados contra asma e bronquite (Parmar et al., 1997).

A taxonomia de espécies de Piperaceae é considerada complexa (Jaramillo et al., 2004). Souza & Lorenzi (2005) consideram preliminar os dados atualmente disponíveis sobre a classificação de gêneros e espécies, dentro da família Piperaceae, ressaltando haver possibilidades de mudança na taxonomia atual. Jaramillo et al. (2004) apresentaram relações filogenéticas dos gêneros da ordem Piperales e ressaltam haver necessidade de mais estudos. Kato & Furlan

(2007) discutiram a química e a bioatividade dos compostos secundários isolados de membros da família Piperaceae, considerando as suas relações biossintéticas no contexto da taxonomia.

Essa espécie é nativa da América Tropical e amplamente distribuída em quase todo o território brasileiro, principalmente na Região Sudeste, onde ocorre espontaneamente em pastagens e beiras de matas. É considerada umbrófila, sendo encontrada em várias formações florestais, preferencialmente em solos com elevado teor de matéria orgânica e umidade (Lorenzi & Matos, 2002).

Segundo Vianna & Akisue (1997), possui porte arbustivo, medindo cerca de 1,5 a 2,0 m de altura e 2,5 a 3,5 cm de diâmetro na base do caule. Os caules perfilhados são cilíndricos, em geral, com 1,5 a 2,0 cm de diâmetro, tem aspecto áspero devido ao grande número de lenticelas muito protuberantes. São angulosos, nodosos e sua coloração verde clara a verde escura, predomina em toda sua extensão, sendo a tonalidade castanha, observada nas partes suberizadas. As regiões jovens são pubescentes.

As folhas possuem filotaxia alterna e formato oval-lanceoladas, agudas, inteiras, integras, apresentando limbo com 10,0 a 15,0 cm de comprimento por 6,0 a 7,5 cm de largura; o pecíolo é curto, com 3,0 a 5,0 mm de comprimento. A base foliar é assimétrica e cordada. Na superfície adaxial, o limbo é verde-escuro, bulado e com depressões nas regiões das nervuras, enquanto na superfície abaxial, é verde mais claro, com aspecto faveolado devido às nervuras serem proeminentes. Ambas as superfícies são pubescentes. A consistência é membranácea e flexível (Vianna & Akisue, 1997).

As flores são reunidas em espigas com até 15,0 cm de comprimento e 4,0 a 6,0 mm de diâmetro, pedunculadas, laterais e opostas as folhas, são diminutas aclamídeas, sésseis e hermafroditas. As inflorescências, quando jovens, possuem coloração verde-clara e, quando madura, pulverulento acastanhado. O fruto é uma drupa diminuta, com formato obovóide, séssil,

glanduloso-pubescente no ápice, provido de três estigmas sésseis (Vianna & Akisue, 1997).

Na figura 1, pode ser observada a planta adulta em condições de ambiente natural.

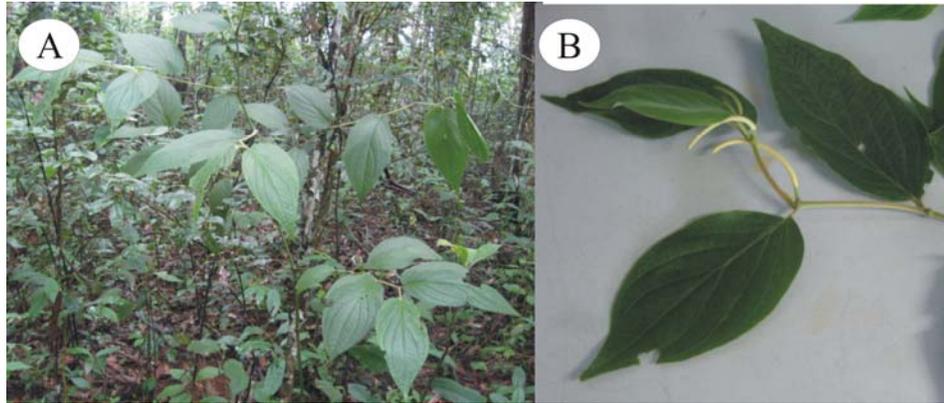


FIGURA 1 Aspecto de *Piper aduncum*. **A-** Planta adulta em condições de ambiente natural; **B-** detalhe do ramo plagiotrópico, evidenciando as infrutescências.

A planta é considerada autógama, formando agrupamento muito homogêneo, com baixa diversidade genética, com possibilidade de ocorrência de elevadas taxas de autofecundação (Wadt et al., 2004).

2.2 Importância de *Piper aduncum*

A espécie apresenta grande importância ecológica, devido a sua frutificação prolongada e dispersão zoocórica, sendo seus frutos bastante atrativos para a fauna e muito apreciados por morcegos (Barrese, 2005). Pode ser considerada com elevado potencial de utilização na recomposição de áreas degradada, pois além da dispersão quiropterocórica (Barrese, 2005), é colonizadora de áreas alteradas, promovendo uma maior regeneração natural e densidade relativa ao longo do tempo (Alvarenga et al., 2006).

No início das pesquisas, com as atividades dos derivados da droga vegetal, obtidos de plantas de *P. aduncum*, o foco foi direcionado às propriedades medicinais, atribuídas a tinturas (Cáceres et al., 1995) e extratos (Okunade et al., 1997; Lentz et al., 1998; Lemos et al., 2000; Kloucek et al., 2005).

Cáceres et al. (1995) testaram a tintura obtida das folhas de *P. aduncum* contra *Neisseria gonorrhoeae* e verificaram forte inibição nas colônias isoladas com 80% de espectro.

Okunade et al. (1997) testaram o extrato etanólico das folhas de *P. aduncum* e verificaram boa atividade contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium intracellulare*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Posteriormente, Lentz et al. (1998) também testaram o extrato etanólico e verificaram atividade contra *C. neoformans*, *C. albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *M. intracellulare*. Entretanto *A. fumigatus* e *E. coli* demonstram uma pequena susceptibilidade ao extrato, sendo apenas *P. aeruginosa* resistente.

Lemos et al. (2000) testaram a atividade de diversos extratos de *P. aduncum* contra o *Staphylococcus aureus*, isolado de vacas com mastite bovina. O extrato clorofórmio foi efetivo, ao passo que o acetato de etila, o hexanóico, o metanólico e o aquoso não.

Kloucek et al. (2005) testaram o extrato etanólico da parte aérea de *P. aduncum* e verificaram concentração mínima inibitória variando de 1,0 a 2,0 mg.mL⁻¹ contra bactérias Gram positivas (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus pyogenes*). Entretanto, não foi efetivo contra bactérias Gram negativas (*Bacteroides fragilis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*), sendo a concentração mínima inibitória superior a 16 mg.mL⁻¹.

Recentemente, as pesquisas têm sido direcionadas ao óleo essencial, extraídos também das partes aéreas da planta, demonstrando uso promissor tanto na agricultura como na medicina.

O óleo essencial apresenta ação inseticida sobre *Sitophilus zeamais* Motsch., praga de grãos armazenados, principalmente de milho, arroz e trigo (Estrela et al., 2006); *Cerotoma tingomarianus* Bechyné, causador de desfolhamento severo no feijoeiro (Fazolin et al., 2005); *Tenebrio molitor* L. que infesta farinhas, rações e grãos quebrados ou anteriormente danificados (Fazolin et al., 2007) e *Callosobruchus maculatus* (Fabr.), considerado a praga mais importante do feijão caupi, armazenado em regiões tropicais e subtropicais (Pereira et al., 2008).

O óleo essencial de *P. aduncum* é efetivo contra os fungos *Colletotrichum musae*, causador da antracnose em frutos de banana (Bastos & Albuquerque, 2004); *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton tonsurans*, que causam dermatoses em mamíferos e *Magnaporthe grisea*, que causa danos em arroz e trigo (Guerrini et al., 2009) e *Cladosporium sphaerospermum* C. *cladosporioides*, ambos fitopatógenos (Navickiene et al., 2006).

O óleo essencial extraído de folhas frescas demonstrou elevada atividade contra os protozoários *Leishmania amazonensis* e *Trichomonas vaginalis*, que causam doenças infecciosas em humanos (Fidalgo et al., 2004).

Sousa et al. (2008) verificaram que o óleo essencial apresenta baixa toxicidade sobre camundongos, não alterando os parâmetros hematológicos e bioquímicos desses mamíferos, exceto quanto à redução nos níveis de creatinina, apresentando uma dose que causa 50% de mortalidade (DL50), de $2,400 \pm 191,7$ mg.kg⁻¹.

As diversas propriedades atribuídas ao óleo essencial de *P. aduncum* é fruto de uma composição química bastante variada, de plantas coletadas de diversas regiões do mundo. Na maior parte dos trabalhos, tem-se o predomínio

do fenilpropanóide dilapiol; contudo, o rendimento do óleo é variável, como foi verificado em plantas oriundas da província ocidental de Cuba, com 0,96% de rendimento e 82,2% de dilapiol (Pino et al., 2004); do Estado do Acre, com cerca de 2% de rendimento e 73,97% de dilapiol (Fazolin et al., 2005; Estrela et al., 2006; Fazolin et al., 2007) e do Estado do Pará, com 2,5% de rendimento e 88,9% de dilapiol (Sousa et al., 2008).

Existem também plantas com menores teores de dilapiol, como em Papua Nova Guiné, com 0,35% de rendimento e 43,3% de dilapiol (Rali et al., 2007) e em Macas, no Equador, com 0,8% de rendimento e 45,92% de dilapiol (Guerrini et al., 2009).

Por outro lado, há trabalhos em que se relatam plantas com óleo contendo uma mistura de monoterpenos e sesquiterpenos, sendo desprovidos de dilapiol, como as plantas do Estado de Minas Gerais, com 0,7% de rendimento de óleo essencial (Mesquita et al., 2005) e do Estado de São Paulo, com 2% de rendimento (Navickiene et al., 2006).

No Estado de Pernambuco, foi encontrada ainda plantas com rendimento entre 1,2 a 2,5% e com predomínio do sesquiterpeno *E* - nerolidol, com teor próximo a 80% (Oliveira et al., 2006).

Diferenças no ambiente de desenvolvimento, como temperatura, pluviosidade, altitude, intensidade e direção do vento, luminosidade, entre outras, poderiam levar ao surgimento de diferentes quimiotipos de *P. aduncum* distribuídos em todo o mundo (Mesquita et al., 2005; Oliveira et al., 2006). Para Guerrini et al. (2009), esse aparente polimorfismo químico pode ter sido causado por identificações botânicas errôneas ou diferentes tempos de coletas.

Wadt et al. (2004) observaram que a diversidade genética representada na Coleção de Germoplasma de Pimenta Longa da Embrapa Acre foi elevada, sendo as espécies *P. aduncum* e *P. hispidinervum* muito diferentes geneticamente. Contrariando esses resultados, Nunes et al. (2007), trabalhando

com acessos dessas duas espécies, também pertencentes à Coleção de Germoplasma da Embrapa Acre, verificaram pela análise de cariótipos, que não há diferença entre as duas espécies. Concluíram, que se trata de uma única espécie, sendo *P. hispidinervum* uma variedade de *P. aduncum*, com distribuição geográfica restrita.

Desses, apenas no trabalho de Gottlieb et al. (1981) distinguiram duas variedades *cordulatum*, encontrada no Estado do Amazonas, com 88,4% de dilapiol, e *aduncum*, encontrada no Estado do Pará, com 74,5% de dilapiol.

2.3 Características da anatomia e composição química dos órgãos vegetais

A descrição estrutural do limbo possibilita a identificação de espécies de interesse em estágio vegetativo, especialmente em locais onde ocorrem outras espécies do mesmo gênero. Informações estruturais obtidas nesse tipo de estudo poderão auxiliar na caracterização ecofisiológica da espécie e fornecerão elementos para a identificação macro e microscópica de fitoterápicos produzidos a partir desse órgão vegetal. Além disso, os resultados dos testes histoquímicos servem como elementos de comparação qualitativa para identificação de drogas fitoterápicas e para a prospecção dos princípios ativos do vegetal (Fank-de-Carvalho & Graciano-Ribeiro, 2005).

O conhecimento das características anatômicas e histoquímicas dos órgãos responsáveis pela síntese e pelo armazenamento dos princípios ativos das plantas é de fundamental importância nas decisões agronômicas, uma vez que auxilia na definição de estratégias específicas para o cultivo e a pós-colheita, considerando os procedimentos de coleta, armazenamento e manipulação das plantas medicinais (Reis & Mariot, 2001).

Por outro lado, estudos estruturais detalhados são necessários para subsidiar o controle de qualidade da matéria-prima empregada em escala

industrial, contribuindo, dessa forma, para a conservação e exploração racional das espécies (Jacomassi et al., 2007).

As características morfoanatômicas de espécies do gênero *Piper* têm sido relatadas por diversos autores, como para *P. diospyrifolium* Kunth (Souza et al., 2004), *P. crassinervium* H.B. & K. (Albiero et al., 2005a), *P. gaudichaudianum* Kuntze (Albiero et al., 2005b) e *P. hispidum* Sw. (Albiero et al., 2006). No entanto, para o *P. aduncum*, foi encontrado na literatura apenas o trabalho de Vianna & Akisue (1997), não havendo informações de caracterização anatômica utilizando microscopia eletrônica de varredura, bem como não há referências sobre os testes histoquímicos detalhados.

O conhecimento das espécies envolvendo as características morfoanatômicas dos frutos, sementes, plântulas, muda ou germinação têm fundamental importância para estudos taxonômicos, ecológicos e agronômicos (Gentil & Ferreira, 2005). A análise morfológica das plântulas tem papel relevante no estudo da vegetação, seja para compreender o ciclo de vida, processos de germinação e crescimento das espécies, seja para obtenção de mudas ou mesmo para classificar plântulas com finalidade taxonômica (Pilati & Souza, 2006).

O conhecimento da morfologia da semente permite, ainda, entender a fitogenia e as tendências evolutivas dessas estruturas, constituindo-se, assim, uma ferramenta útil para iniciar a identificação de sementes desconhecidas, as quais se apresentam com frequência durante o manejo, análises e na produção de plantas agrícolas e florestais; em estudos relacionados com o desenvolvimento da vegetação; em manejo da fauna silvestre, em áreas de reserva e em estudos arqueológicos e paleobotânicos (Silva et al., 2003).

Estudos de caracterização morfológica e anatômica dos diásporos (frutos maduros) de espécies do gênero *Piper* são escassos, restringindo-se ao uso de

técnicas em microscopia de luz, para *P. aduncum* (Vianna & Akisue, 1997) e *Piper amalago* var. *medium* Linnaeus (Rosa & Souza, 2004).

A composição química das sementes é definida geneticamente, apesar de poder ser, até certo ponto, influenciada pelas condições ambientais a que foram submetidas as plantas que as originaram. O conhecimento da composição química é do interesse prático para a tecnologia de sementes, porque, tanto o vigor como a longevidade no armazenamento são influenciados pelos compostos presentes nas sementes (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Os aspectos referentes à composição química de sementes de espécies de Piperaceae têm sido pouco estudados. No entanto, frutos maduros de *Piper* são ricos em proteína, apresentam baixo teor de fibras e são rapidamente consumidos pelos morcegos (Fleming, 1981; Thies et al., 1998, citados por Teixeira, 2003).

2.4 Características fisiológicas da propagação sexuada

Diásporos são unidades de dispersão das espécies vegetais, que quando destinadas à reprodução sexuada, devem conter essencialmente um embrião, podendo ser sementes ou frutos (Aqüila, 2004). O diásporo de *P. aduncum* é um fruto diminuto, tipo drupa, que se forma em infrutescência de tamanho variado (Figura 1B), conforme observado por Vianna & Akisue (1997).

Conceitualmente, a germinação é o primeiro estágio do biociclo vegetal, caracterizada por uma sequência de eventos fisiometabólicos complexos, que iniciam com a embebição de água pelos diásporos e culminam na protrusão da radícula. Os diásporos germinam quando as exigências em água, temperatura e luz (presença ou ausência) são supridas e, sobretudo, quando não apresentam dormência.

A água é um fator determinante no processo germinativo, sendo fundamental para a retomada do metabolismo em sementes quiescentes, além de

provocar a ruptura do tegumento, em consequência do aumento de volume da semente devido à absorção (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Em *P. aduncum*, diásporos submetidos à germinação em potencial osmótico -0,1 MPa sofrem uma redução significativa na porcentagem e velocidade de germinação, sendo a -0,2 MPa nula nas temperaturas de 24 °C e 30 °C, demonstrando a sensibilidade dessa espécie à restrição hídrica (Lobato et al., 2007; Silva et al., 2007).

A temperatura tem sido considerada como um dos principais fatores responsáveis tanto pela germinabilidade como pela velocidade de germinação, por afetar especialmente a velocidade de absorção de água e as reações metabólicas. As sementes são capazes de germinar sob ampla faixa de temperatura, definida para cada espécie com uma temperatura máxima e uma mínima, acima e abaixo das quais a germinação não ocorre (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000; Castro & Hilhorst, 2004). Muitas vezes, existe uma faixa de temperatura ótima, na qual ocorre germinabilidade máxima em menor intervalo de tempo (Labouriau & Agudo, 1987).

Muitas espécies silvestres produzem sementes que requerem flutuação diária de temperatura para que o processo germinativo ocorra adequadamente (Cardoso, 2004; Zaidan & Barbedo, 2004). Embora esse requerimento esteja associado à dormência da semente, a alternância de temperatura pode acelerar a germinação em sementes não dormentes, destacando-se a 20-30 °C (Lopes & Pereira, 2005; Andrade et al., 2006; Passos et al., 2008). Em algumas espécies, a alternância de temperatura pode substituir a exigência à luz na germinação (Zaidan & Barbedo, 2004).

Sementes de diferentes espécies e classificação ecológica apresentam respostas diferenciais à temperatura do meio de germinação. Contudo, pouco se sabe sobre a influência desse fator sobre a germinação das espécies da família Piperaceae.

Em *P. aduncum*, diásporos submetidos à germinação nas temperaturas de 24 °C, 27 °C e 30 °C não diferiram quanto à porcentagem e velocidade de germinação (Lobato et al., 2007; Silva et al., 2007).

Segundo Cardoso (2004), a qualidade e a quantidade de luz podem influenciar decisivamente a germinação de algumas espécies. De acordo com as exigências à luz, as sementes podem ser divididas em três categorias: fotoblásticas positivas, que só germinam na presença de luz; fotoblásticas negativas, cuja germinação é inibida na presença de luz; e neutras ou indiferentes à luz para a germinação (Carvalho & Nakagawa, 2000).

A percepção da luz pela semente ocorre por meio do pigmento fotorreversível denominado fitocromo, que possui massa molecular de aproximadamente 250 kDa. Ele ocorre como um dímero composto por duas subunidades equivalentes, cada uma consistindo de dois componentes, o cromóforo, que é uma molécula de pigmento que absorve luz (tetrapirrol linear, a fitocromobilina); e a apoproteína, que é formada por uma cadeia polipeptídica. Juntos, o cromóforo e a apoproteína formam a haloproteína; somente quando formada, o cromóforo pode absorver luz (Taiz & Zeiger, 2004).

O fitocromo é fotorreversível, de modo que a absorção de luz pelo cromóforo provoca uma isomerização *cis-trans* entre os carbonos 15 e 16, formando isômero *cis* (Fv) ou isômero *trans* (Fve), dependendo da qualidade da luz (Taiz & Zeiger, 2004). Quando submetido à luz vermelha (666 nm), a maior parte das moléculas de Fv absorvem luz e sofrem isomerização transformando-se em Fve; porém, alguns Fve também absorvem luz nesse comprimento de onda e são convertidos de volta a Fv, de modo que o equilíbrio é mantido quando Fve atinge 85%. Por outro lado, quando expostas a luz vermelho extremo (730 nm), o Fve absorve luz e transforma-se em Fv; contudo, poucos Fv também absorvem luz e transformam-se em Fv, sendo o equilíbrio atingido com 97% de Fv e 3% de Fve (Taiz & Zeiger, 2004).

Essa fotorreversibilidade do fitocromo é dinâmica e, quando é formada determinada concentração de Fve, a forma fisiologicamente ativa, a resposta é elicitada (Cardoso, 2004).

A razão de luz vermelho (V) para vermelho extremo (VE) é representada como V/VE e pode ser definida como a razão entre taxa de fluência de fótons em bandas de 10 nm centradas em 660 nm e a taxa de fluência de fótons em bandas de 10 nm centradas em 730 nm (Taiz & Zeiger, 2004).

Os ambientes variam muito quanto os comprimentos de onda do vermelho/vermelho escuro, alterando a razão V/VE, de modo que as plantas utilizam essa variação para se localizar no ambiente, por intermédio do fitocromo (Borghetti, 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

Há relativamente mais luz vermelho extremo ao pôr-do-sol, em uma profundidade de 5 mm de solo, ou sob um dossel de outras plantas (como no sub-bosque de uma floresta), em comparação com a luz solar direta. O fenômeno do dossel resulta do fato de que as folhas verdes absorvem a luz vermelha devido ao seu alto teor de clorofila, porém são relativamente transparentes à luz vermelho extremo (Taiz & Zeiger, 2004).

O ambiente de desenvolvimento da planta-matriz, durante o período de maturação da semente, pode influenciar a resposta das sementes à qualidade da luz. Se a planta for mantida em um ambiente com mais luz vermelho extremo, pode fazer com que predomine a forma Fv no embrião ao final de seu desenvolvimento, fazendo com que necessite de exposição à luz vermelha para que se inicie o processo germinativo. De forma semelhante, a espessura do tecido que envolve a semente durante a maturação também pode aumentar a incidência de vermelho extremo no embrião (Cardoso, 2004).

Em geral, a exigência de luz é frequentemente observada nas sementes pequenas de espécies herbáceas e gramíneas, muitas das quais não germinam, mesmo quando hidratadas, se estiverem enterradas no solo ou serrapilheira ou

sob dossel da vegetação, pois não possuem reservas suficientes para suportar o período de sombreamento (Taiz & Zeiger, 2004). Milberga et al. (2000), estudando 54 espécies, observaram que a germinação tornou-se menos dependente à luz com o aumento da massa de sementes, provavelmente para permitir a noção de profundidade, sugerindo que a resposta à luz e a massa das sementes coevoluíram.

De acordo com algumas características ecológicas as espécies podem ser classificadas como pioneiras ou tolerantes a sombra. As espécies que são denominadas pioneiras geralmente produzem sementes em abundância, com tamanho pequeno e contendo pouca reserva, muitas vezes apresentando dormência, com produção de plântulas pequenas e dotadas de cotilédones fotossintetizantes, exigindo luz vermelho para germinação, recrutamento, desenvolvimento e sobrevivência das plântulas, indivíduos jovens e adultos (Melo et al., 2004).

Espécies do gênero *Piper* são classificadas como pioneiras e têm sido bastante caracterizadas, com relação à exigência em luz vermelha para que a germinação ocorra, e a relação dessa exigência com a colonização de clareiras e bordas de mata, definindo o seu estabelecimento nos diferentes ambientes (Vazquez-Yanes & Smith, 1982; Orozco-Segovia & Vazquez-Yanes, 1989; Rocha et al., 2005). *Piper auritum* estabeleceu-se bem no centro das clareiras, sendo reduzida e retardada, com o sombreamento e inibida no interior da floresta, indicando uma germinação controlada pelo fitocromo. A germinação é desencadeada quando a relação V/VE aumenta, devido à redução na densidade do dossel (Vazquez-Yanes & Smith, 1982).

Rocha et al. (2005) verificaram que sementes de dois ecotipos (SP e PR) de *P. aduncum*, mantidas sob luz vermelho extremo, adquiriram dormência induzida. Essa dormência, no entanto, foi reversível, tendo um regime transitório

consistente com sombreamento à luz solar direta em ambientes como áreas recém-desmatadas, clareiras, florestas e fronteiras agrícolas.

A germinação induzida pela luz vermelha é resultado de um aumento no nível da forma biologicamente ativa do hormônio giberelina. Assim, o fitocromo pode promover a germinação de sementes por meio de seus efeitos na biossíntese da giberelina. A germinação de sementes pode exigir giberelina para a ativação do crescimento vegetativo do embrião, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento ou a mobilização dos compostos de reserva (Taiz & Zeiger, 2004).

A síntese de giberelina também é estimulada à baixa temperatura, pois a atividade da enzima ácido ent-caurenóico hidrolase é estimulada, aumentando a quantidade do ácido ent-caurenóico, precursor na rota biossintética da giberelina. Assim, há uma relação entre requerimento por luz, temperatura e síntese de giberelina (Taiz & Zeiger, 2004).

2.5 Características fisiológicas e anatômicas da propagação assexuada

A propagação vegetativa ou assexuada é a forma de obtenção de plantas a partir de algum propágulo retirado de uma planta-matriz, que deve ser constituído apenas por células somáticas, ou seja, que não sejam zigóticas (sementes). Baseia-se em duas características: a totipotência (toda célula carrega a informação necessária para originar um novo indivíduo geneticamente igual ao que lhe deu origem) e a desdiferenciação (capacidade de células diferenciadas retornarem ao estado meristemático) (Pinto et al., 2001).

A maior vantagem desse método ocorre pelo fato de plantas originadas serem idênticas entre si e à planta-matriz (clones), o que possibilita a formação de uma população uniforme, constituída por um grande número de indivíduos. É um método eficiente, rápido e relativamente de fácil aplicação (Hartmann et al., 2002). É uma alternativa para espécies cujas sementes germinam com

dificuldade, para aquelas que produzem poucas sementes ou mesmo não produzem.

Pode ser alcançada pela micropropagação, que é realizada por meio da técnica da cultura de tecidos, ou pela macropropagação, que envolve técnicas diversas, como estaquia, alporquia, enxertia e miniestaquia (Higashi et al., 2000).

A estaquia é a técnica mais utilizada na produção de mudas pela via assexuada, podendo-se utilizar propágulos caulinares, foliares ou radiculares, que devem conter pelo menos uma gema vegetativa, que pode ser apical ou lateral (Hartmann et al., 2002). Em estacas caulinares, o sistema vascular já está formado, sendo necessária apenas a formação de um novo sistema radicular, para obter uma planta completa, dado o potencial de regeneração das gemas já existentes. No entanto, a falta de conhecimento das bases fisiomoleculares dificulta o desenvolvimento e a utilização de tecnologias viáveis para algumas espécies (Ahkami et al., 2009).

As estacas caulinares podem ser classificadas, ainda, em três grupos quanto ao grau de lignificação: em estacas lenhosas, com tecidos lignificados; herbáceas, que possuem tecidos tenros e coloração verde e semi-lenhosas ou semi-herbáceas, com estágio intermediário entre os dois extremos. As estacas lenhosas devem ser coletadas durante o período de repouso vegetativo (dormência) e, as semilenhosas deve ser realizada durante o crescimento vegetativo, geralmente na primavera ou verão (Hartmann et al., 2002). No geral, as estacas herbáceas apresentam maior facilidade de formar raízes do que as estacas lenhosas da mesma espécie (Bastos et al., 2006; Garbui et al., 2007).

A formação de um novo sistema radicular em estacas ocorre pela formação de raízes adventícias. Raízes adventícias são as raízes pós-embrionárias, que surgem a partir do caule, folhas e partes velhas das raízes (Li et al., 2009). Na maioria das espécies, as raízes adventícias apresentam origem e

desenvolvimento endógeno, a partir de células que mantêm a capacidade meristemática (Syros et al., 2004; Peixe et al., 2007), conhecidas como meristemas laterais (câmbio vascular e felogênio), segundo Taiz & Zeiger (2004).

Porém, para algumas espécies de difícil enraizamento, cita-se a existência de origem exógena, ou seja, a partir células parenquimatosas do recém-formado calo de cicatrização, que estão na origem dos campos morfogênicos da raiz (Peixe et al., 2007). Para Silva et al. (2006), a calogênese é um prenúncio importante para a formação de raízes adventícias em estacas, ao passo que para Hartmann et al. (2002), o calo é um tecido cicatricial e a sua formação e a de raízes são processos independentes na maioria das plantas.

O desenvolvimento das raízes adventícias em estacas está associado a fatores anatômicos e fisiológicos complexos. Quando a estaca é retirada da planta matriz, ela normalmente sofre várias mudanças na atividade metabólica e de expressão gênica, em decorrência do dano mecânico causado pelo corte e do isolamento da integridade funcional da planta inteira, que culminam na resposta a rizogênese (Ahkami et al., 2009).

Em estacas de *Petunia hybrida* cv. *mitchell*, a rizogênese ocorre em três fases distintas: fase de iniciação, formação do primórdio radicular e alongamento ou emergência da raiz através do córtex. A fase de iniciação compreende as mudanças na atividade metabólica e de expressão gênica que ocorrem em decorrência do dano mecânico. O surgimento de células com características meristemáticas, ou seja, de tamanho pequeno, citoplasma denso e um grande núcleo, marca o início da fase de formação do primórdio radicular, que se completa quando surgem estruturas, ainda no interior do caule, com características morfológicas de uma raiz completa, com exceção de pêlos radiculares. Elas marcam a transição para a fase de alongamento da raiz, que resulta na emergência das raízes (Ahkami et al., 2009).

A rizogênese em estacas pode ser influenciada por uma série de fatores, que embora interligados, podem ser divididos quanto à natureza, em fatores intrínsecos e extrínsecos (Hartmann et al., 2002). Os fatores intrínsecos estão relacionados com a planta-matriz, como a idade, nutrição, sanidade, hidratação, lignificação, composição química (amido, proteína e compostos fenólicos, entre outros), presença e número de folhas e gemas, bem como o balanço hormonal. Esses fatores são influenciados principalmente pelo potencial genético da espécie ou cultivar, época do ano e posição de coleta da estaca.

O desenvolvimento e a utilização de tecnologias viáveis para as diversas espécies vegetais é, muitas vezes, limitada pela falta de conhecimento sobre as bases fisiológicas, anatômicas e moleculares que regulam a rizogênese em estacas. A formação de raízes adventícias é modulada por uma combinação de diferentes vias, incluindo a biossíntese hormonal e o metabolismo primário.

O ferimento provocado pelo processo de corte da estaca conduz a um aumento na biossíntese dos jasmonatos, que leva à expressão gênica para diversas enzimas, como as envolvidas no metabolismo dos açúcares, influenciando nas relações fonte e dreno (Ahkami *et al.*, 2009).

Estacas com concentrações mais elevadas de carboidratos normalmente apresentam melhores taxas de enraizamento (Hartmann et al. 2002). Em *P. hybrida cv. mitchell* ocorre um contínuo acúmulo de carboidratos solúveis e insolúveis, ácidos orgânicos e aminoácidos essenciais após a retirada da estaca. Durante a divisão e expansão celular, para a formação das raízes adventícias, há grande exigência no suprimento de energia e esqueletos de carbono. A sacarose é formada nos tecidos fotossintetizantes e translocada para a região do corte, onde poderá ser utilizada como uma fonte direta de carbono ou convertido em outros compostos para armazenamento, tais como amido, para posterior uso (Ahkami et al., 2009).

A presença de folhas e gemas são fatores que exercem grande estímulo à iniciação de raízes, uma vez que estão relacionados à produção de auxinas, carboidratos e outros co-fatores importantes para o enraizamento (Hartmann et al., 2002). Por outro lado, por ser o órgão onde ocorre a maior taxa de transpiração, a sua presença pode promover estresse hídrico nas estacas.

Garbuio et al. (2007) verificaram que estacas medianas e apicais de *Pogostemon clablin*, com duas e uma folha não diferiram entre si, sendo superiores às estacas sem folhas para a porcentagem de enraizamento e brotação. Estacas destituídas de folhas apresentaram maior mortalidade e maior número de estacas vivas não enraizadas. A retenção foliar foi superior nas estacas com duas folhas, sendo a porcentagem de enraizamento proporcional à retenção foliar obtida, demonstrando que a folha é fundamental para a rizogênese nessa espécie. Estacas basais sobreviveram mais; contudo, apresentaram menor enraizamento e pouco desenvolvimento do sistema radicular.

Para muitas espécies, os níveis de auxina endógena são determinantes para a indução de raízes adventícias. A produção de auxina ocorre principalmente pela gema apical e folhas jovens, seguido pelo transporte polar, ou seja, em direção basípeta (Taiz & Zeiger, 2004). Contudo, em *Dianthus caryophyllus* L., as folhas maduras são a principal fonte desse fitohormônio, e a remoção do ápice e/ou das folhas mais jovens não reduz o enraizamento. Para essa espécie, a aplicação de auxina na base de estacas desfolhadas promoveu um enraizamento de 60% em relação às estacas nas quais as folhas maduras foram mantidas (Garrido et al., 2002).

Para diversas espécies, a aplicação de auxina exógena é decisiva no enraizamento de estacas (Syros et al., 2004). Entre as auxinas sintéticas, têm-se o ácido indolacético (AIA), o ácido-indolbultírico (AIB), o ácido naftaleno acético (ANA) e o 2-4- diclorofenoacético (2,4-D) (Taiz & Zeiger, 2004). O AIB é um dos mais empregados e mais eficientes (Husen & Mohinder, 2006;

Syros et al., 2004). Em estacas de *Tectona grandis* L. f., o tratamento com ANA induz apenas enraizamento, reprimindo a brotação (Husen & Mohinder, 2006).

Por outro lado, a ação da auxina no enraizamento é influenciada pelas características anatômicas e bioquímicas das estacas (Hartmann et al. 2002).

Husen & Mohinder (2006) verificaram que, em plantas de *Tectona grandis* L. f., o aumento na idade da planta matriz (2 meses, 15 anos e 30 anos), implicou reduções na porcentagem de enraizamento e de brotações, bem como no número e comprimento das raízes adventícias; contudo aumentou a formação de calos. Aumentou, ainda, a necessidade de concentrações maiores de auxinas para promover o enraizamento, que alegaram poder ser devido a uma diminuição do conteúdo de auxinas endógenas ou diminuição da sensibilidade dos tecidos causada pelo envelhecimento e/ou devido ao acúmulo de substâncias inibidoras. Ressalta-se que a concentração de auxinas que suprimiu o enraizamento de estacas retiradas de plantas jovens promoveu o enraizamento de estacas de plantas mais maduras, demonstrando a interação entre esses fatores; com variações anatômicas mais marcantes, observaram aumento conforme a idade, principalmente do número e largura dos elementos de vaso.

As características anatômicas podem influenciar também a fase de expansão/emergência da raiz adventícia em estacas caulinares, uma vez que pode conter a presença de fibras (Mayer et al., 2006) ou mesmo de um anel contínuo de esclerênquima na região cortical, bloqueando mecanicamente o crescimento do primórdio radicular formado (Peixe et al., 2007).

Mayer et al. (2006) verificaram que o caule da *Vitis rotundifolia* Michx. cv. *topsail*, cultivar com baixo potencial de enraizamento em relação a outras cultivares da mesma espécie, possui diferenças anatômicas que poderiam estar influenciando na rizogênese. Essa cultivar mantém as calotas de fibras do floema primário, apresentam floema secundário reduzido com faixas radiais de fibras envolvendo o parênquima axial e os elementos condutores e possui xilema

menos desenvolvido, com raios mais estreitos e elementos de vaso de menor diâmetro. Detectaram, também, reações mais intensas para compostos fenólicos, principalmente nos raios parenquimáticos e no parênquima axial do floema secundário. Assim, concluíram que não só a existência de barreiras anatômicas, mas também a presença de compostos fenólicos poderiam influenciar na resposta à rizogênese.

A presença de compostos fenólicos pode influenciar a rizogênese em estacas, e o enraizamento pode ser estimulado pela presença de monofenóis e inibido por polifenóis (Ono & Rodrigues 1996). Os flavonóides podem atuar como inibidores do transporte de auxinas, agindo como reguladores endógenos, pois são capazes de competir pelo sítio de ligação dos transportadores (Taiz & Zeiger, 2004).

Os fatores extrínsecos, referentes ao ambiente de propagação, são a temperatura, umidade, substrato e luminosidade (Hartmann et al. 2002). A exigência por esses fatores variam muito conforme as condições fisiológicas e anatômicas da estaca, sendo, portanto, necessário efetuar estudos prévios.

No que diz respeito ao substrato, pode-se dizer que esse influencia sobremaneira na rizogênese, devendo possuir baixa densidade, boa capacidade de absorção e retenção de água, boa aeração e drenagem para evitar o acúmulo de umidade, além de estar isento de pragas, doenças e substâncias tóxicas. Entre os mais utilizados, destacam-se areia, vermiculita, turfa, casca de pinus, musgo turfoso, casca de arroz carbonizada, serragem de madeira, fibra ou pó de coco, isolados ou em misturas com outros substratos (Hartmann et al., 2002). Como normalmente é difícil encontrar todas as características ideais num único componente, são utilizadas misturas de materiais para proporcionar a obtenção de um substrato mais adequado (Kämpf, 2000).

A propagação assexuada de espécies de Piperaceae tem sido pouco estudada, tendo em vista sua importância pelas propriedades farmacológicas e

agronômicas. Em plantas de João-Brandinho (*Piper* sp), Silva et al. (2004) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de AIB (0; 1000; 2000; 3000; 4000; 5000 ppm), em estacas lenhosas com 12 cm de comprimento e substrato areia lavada. Eles observaram efeito positivo do incremento de AIB, com comportamento linear para número de estacas enraizadas e para comprimento da maior raiz, ao passo que para número de raízes, foi cúbico, com maior valor a 5000 ppm de AIB. Concluíram que provavelmente a espécie apresenta cofatores, existentes em seu caule e gemas, favoráveis à propagação vegetativa por estaquia, com baixa quantidade de substâncias inibidoras de enraizamento, sendo seu enraizamento mais eficiente após tratamento com AIB.

Pescador et al. (2007) avaliaram o efeito de quatro concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 1500 ppm) e dois substratos (areia e vermiculita), na estaquia de *Piper mikanianum* (Kunth) Steud var. *mikanianum*. Eles utilizaram estacas de ramos com tamanho médio de 12 ± 3 cm, retirados da porção mediana das plantas, e observaram que estacas não tratadas apresentaram um índice de mortalidade de 73%. Obtiveram interação entre índice de sobrevivência das estacas e substrato utilizado, sendo maior em areia e com 1000 ppm de AIB e na vermiculita com 500 ppm e 1500 ppm. Verificaram, ainda, que estacas cultivadas na vermiculita formaram maior número de folhas, raízes e brotações, cujos valores foram proporcionais ao aumento da concentração de AIB. Os autores concluíram que o efeito benéfico se deve ao fato de a vermiculita possuir boa retenção de água e ótimo espaço de ar na capacidade de retenção, fatores que lhe capacitam a manutenção de um adequado suprimento de água para o enraizamento de estacas.

No que diz respeito à propagação assexuada de *P. aduncum*, existe apenas um resumo expandido de Leme et al. (2002), no qual verificaram que estacas com cerca de 30 cm de comprimento, 2 a 4 cm de diâmetro, 2 a 4 gemas e de 2 a 4 folhas, submetidas a um tratamento com RAIZON (Laboratório

OKOCHI Ltda), na dosagem de quatro pílulas de hormônio diluídas em um litro de água, onde se imergiu as bases das estacas por 24 horas, posteriormente plantadas em areia lavada como substrato, causou 100% de mortalidade de estacas. Verificaram, ainda, que sem o uso de hormônio, o enraizamento foi elevado (90%).

Devido à escassez dos resultados para essa espécie, é necessário maiores esclarecimentos quanto à influência dos fatores fisiológicos e anatômicos que influenciam no enraizamento. Nesse contexto, estudos referentes à análise histológica pode ser uma ferramenta muito valiosa, por ser uma técnica rápida e sensível na visualização de primórdios radiculares, como, por exemplo, para determinar com antecedência a eficácia de um tratamento aplicado para acelerar e melhorar o enraizamento, sem a necessidade de esperar o período completo (Syros et al., 2004; Husen & Mohinder, 2006; Ferriani et al., 2008; Bortolini et al., 2008). Contudo, esses estudos inexistem para espécies da família Piperaceae.

2.6 Influência da intensidade da radiação no desenvolvimento das plantas

As plantas utilizam a luz como uma fonte de energia, a qual pode estimular ou limitar o processo fotossintético e como um sinal do ambiente que regula processos vitais durante o desenvolvimento do vegetal, como a fotomorfogênese (Taiz & Zeiger, 2004). Fotossíntese e fotomorfogênese estão intimamente relacionadas, pois processos como síntese de clorofila e expansão foliar, os quais são necessários para a planta fazer fotossíntese, são diretamente regulados pela fotomorfogênese (Carvalho & Peres, 2007).

Os processos biológicos dos vegetais, que são influenciados pela luz, ocorrem na faixa do espectro denominado luz visível, entre 400 e 700 nm, pois os pigmentos envolvidos na percepção dos sinais trazidos pela luz possuem picos de absorção nesses comprimentos de onda. Esses fotorreceptores são os fitocromos, que absorvem luz vermelho (650 a 680 nm) e vermelho extremo

(710 a 740 nm), semelhante ao que ocorre com germinação de sementes e os criptocromos, que absorvem luz azul, na faixa de 320 a 400 nm (Taiz & Zeiger, 2004).

De acordo com o ambiente luminoso a que são submetidas, plantas podem exibir características fisiológicas e anatômicas distintas, constituindo dois grupos, plantas de sol (heliófitas) e plantas de sombra (umbrófilas).

As espécies heliófitas, quando expostas a ambientes com maior conteúdo de vermelho extremo, são capazes de alocar a maior parte dos seus recursos para crescimento em altura, exibindo aumento na área foliar e redução na espessura do limbo, no número de ramificações, na relação sistema radicular/parte aérea e no acúmulo de biomassa seca. Em curto prazo, essa adaptação à sombra parece funcionar, pois pode aumentar as chances de crescer acima do dossel e adquirir uma maior porção de radiação fotossinteticamente ativa não filtrada (Larcher, 2000; Taiz & Zeiger, 2004). Em longo prazo, essas plantas poderão não sobreviver, caso o sombreamento persista (Felfili et al., 1999).

Por outro lado, espécies umbrófilas exibem pouca ou nenhuma redução na taxa de alongamento de seus caules, à proporção que são sombreadas (Larcher, 2000; Taiz & Zeiger, 2004). Muitas vezes, o excesso de luz pode prejudicar o desenvolvimento das plantas, podendo ser considerado um fator de estresse. As quantidades de luz e CO₂ determinam as respostas fotossintéticas das folhas. Em algumas situações, a fotossíntese é limitada por um suprimento inadequado de luz ou CO₂. Em outras situações, a absorção demasiada de luz pode provocar problemas sérios, razão pela qual mecanismos especiais protegem o sistema fotossintético de luz excessiva. Os níveis múltiplos de controle da fotossíntese permitem as plantas crescer com êxito em um ambiente em constante mudança e em habitats diferentes (Taiz & Zeiger, 2004).

Algumas plantas têm suficiente plasticidade de desenvolvimento para se adaptarem a uma amplitude de regimes de luz, crescendo como plantas de sol

em áreas ensolaradas e como plantas de sombra em habitats sombreados (Taiz & Zeiger, 2004). Essas espécies apresentam bom desenvolvimento das mudas sob pleno sol e toleram o sombreamento de 30% e 50% (Scalon et al., 2003).

De acordo com a resposta ao ambiente luminoso, as espécies podem definir estratégias para a recuperação de áreas degradadas. As espécies heliófitas podem ser introduzidas em estádios iniciais de recuperação de áreas degradadas ou mesmo para reflorestamento (Ramos et al., 2004). As espécies pioneiras são plantas heliófitas, de rápido crescimento, que irão sombrear o terreno num curto espaço de tempo, controlando de forma natural o aparecimento das ervas invasoras e proporcionando o tutoramento das plantas umbrófilas (Gonçalves et al. 2005).

Jacaranda puberula Cham. (Bignoniaceae) apresentaram elevados índices de mortalidade a pleno sol, sendo a condição ideal para a formação de mudas, 30% de sombreamento, podendo ser introduzidas em clareiras, para a recuperação de áreas degradadas (Almeida et al., 2005).

Os maiores valores de biomassa e do diâmetro de coleto sob 50% de sombreamento são característicos de espécies heliófilas de fases iniciais de sucessão, como *Sclerolobium paniculatum* Vog. var. *rubiginosum* (Tul.) Benth. (Leguminosae), que pode ser utilizada em conjunto com espécies pioneiras de rápido crescimento, nas fases iniciais de recuperação de matas degradadas, sendo pioneira e adequada ao plantio em clareiras e em áreas degradadas (Felfili et al., 1999).

Estudos de desenvolvimento das plantas em resposta à radiação solar são fundamentais para definir estratégias de manejo na produção de mudas. Para diversas espécies, o sombreamento inicial é favorável a formação de muda, uma vez que em resposta à luz, as plantas podem aumentar à altura, biomassa seca, a relação raiz/parte aérea e o diâmetro do coleto (Alvarenga et al., 2003; Lima

Junior et al., 2005), características essas favoráveis para posterior transplante e sobrevivência no campo.

A resposta à intensidade de luz depende da espécie em estudo; para as espécies da família Piperaceae, são raros os trabalhos sobre a influência desse fator no desenvolvimento inicial. Santiago et al. (2001) avaliaram a anatomia foliar de plantas de *Piper hispidinervium* C. (DC.), desenvolvidas sob casa-de-vegetação, pleno sol e sub-bosque e comprovaram plasticidade em função dos ambientes luminosos.

O metabolismo secundário dos vegetais também é influenciado pela luz. Embora a biossíntese e a composição do óleo essencial de uma planta sejam determinadas geneticamente, geralmente é específica para um determinado órgão e dependente do seu estágio de desenvolvimento. As condições ambientais são capazes de causar variações significativas.

Os óleos essenciais podem ocorrer em tricomas glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas; quanto mais profunda é a sua estrutura de síntese, mais a composição do óleo é constante; contudo, não existe um padrão definido, pois cada espécie responde de forma diferenciada (Simões & Spitzer, 2007).

A influência da radiação solar no rendimento do óleo essencial também varia conforme a espécie, sendo esses estudos raros para as espécies da família Piperaceae.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHKAMI, A.H.; LISCHEWSKI, S.; HAENSCH, K. T.; PORFIROVA, S.; HOFMANN, J.; ROLLETSCHKE, H.; MELZER, M.; FRANKEN, P.; HAUSE, B.; DRUEGE, U.; HAJIREZAEI, M.R. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, Cambridge, v.181, n.3, p.613-625, 2009.

ALBIERO, A.L.M.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A. de; MOURÃO, K.S.M. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* H.B. & K. (Piperaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.19, n.2, p.305-312, abr./jun. 2005a.

ALBIERO, A.L.M.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A.; MOURÃO, K.S.M. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper hispidum* Sw. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.16, n.3, p.379-391, jul./set. 2006.

ALBIERO, A.L.M.; SOUZA, L.A. de; MOURÃO, K.S.M.; ALMEIDA, O.J.G. de; LOPES, W.A.L. Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper gaudichaudianum* Kuntze (Piperaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v.24, n.4, p.550-554, 2005b.

ALMEIDA, L.S. de; MAIA, N. da; ORTEGA, A.R.; ANGELO, A.C. Crescimento de mudas de *Jacaranda puberula* Cham. em viveiro submetidas a diferentes níveis de luminosidade. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.15, n.3, p.323-329, 2005.

ALVARENGA, A.A. de; CASTRO, E.M. de; LIMA JUNIOR, É. de C; MAGALHÃES, M.M. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.27, n.1, p.53-57, Jan. 2003.

ALVARENGA, A.P.; BOTELHO, S.A.; PEREIRA, I.M. Avaliação da regeneração natural na recomposição de matas ciliares em nascentes na região sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v.12, n.4, p.360-372, dez. 2006.

ANDRADE, A.C.S. de; PEREIRA, T.S.; FERNANDES, M. de J.; CRUZ, A.P.M.; CARVALHO, A.S. da R. Substrato, temperatura de germinação e desenvolvimento pós-seminal de sementes de *Dalbergia nigra*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.3, p.517-523, mar. 2006.

AQUILA, M.E.A. Tipos de diásporos e suas origens. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.69-92.

BARRESE, C. **Fenologia de plantas do gênero *Piper* (Linnaeus, 1737) (Piperales: Piperaceae)**: implicações em quiropterocoria. 2005. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista.

BARROSO, G.M.; GUIMARÃES, E.F.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; PEIXOTO, A.L. **Sistemática das angiospermas do Brasil**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 307p.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p.555-557, set./out. 2004.

BASTOS, D.C; PIO, R.; SCARPARE FILHO, J.A.; LIBARDI, M.N.; ALMEIDA, L.F.P. de; GALUCHI, T.P.D; BAKKER, S.T. Propagação da pitaya 'vermelha' por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1106-1109, nov./dec. 2006.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2.ed. New York: Plenum, 1994. 445p.

BORGHETTI, F. Dormência embrionária. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 109-123.

BORTOLINI, M.F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; KOEHLER, H.S.; CARPANEZZI, A.A.; DESCHAMPS, C.; OLIVEIRA, M. de C.; BONA, C.; MAYER, J.L.S. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.18, n.2, p.159-171, abr./jun. 2008.

CÁCERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, B.E.; JAUREGUI, E.; PERALTA, E.; CARRILLO, G. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.48, p.85-88, July 1995.

CARDOSO, V.J.M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.95-108.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, R.F.; PERES, L.E.P. **Fotomorfogênese**. Disponível em: <<http://www.miniweb.com.br/Ciencias/artigos/fotomorfogenese.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2007.

CASTRO, R.D. de; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.149-162.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1981. 1260p.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.2, p.217-222, fev. 2006.

FANK-DE-CARVALHO, S.M.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.F. (Amaranthaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.19, n.2, p.377-390, 2005.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.113-120, jan./fev. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S. de; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.3, p.485-489, maio/jun. 2005.

FELFILI, J.M.; HILGBERT, L.F.; FRANCO, A.C.; SILVA, J.C.S.; RESENDE, A.V.; NOGUEIRA, M.V.P. Comportamento de plântulas de *Sclerolobium paniculatum* Vog. var. *rubiginosum* (Tul.) Benth. sob diferentes níveis de sombreamento, em viveiro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.22, n.2, p.297-301, out. 1999.

FERRIANI, A.P.; MAYER, J.L.S.; RIBAS, K.C.Z.; BONA, C.; KOEHLER, H.S.; DESCHAMPS, C.; CARPANEZZI, A.A.; OLIVEIRA, M. de C. Estaquia e anatomia de vassourão-branco. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.9, n.2, p.159-166, 2008.

FIDALGO, L.M.; RAMOS, I.S.; ALVAREZ, A.M.M.; LORENTE, N.G.; LIZAMA, R.S.; PAYROL, J.A. Propiedades antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v.56, n.3, p.230-233, 2004.

FLEMING, T.H.; HEITHAUS, E.R. Frugivorous bats, seed shadows, and the structure of tropical forests. **Biotropica**, Washington, v.13, p.45-53, jun. 1981.

GARBUIO, C.; BIASI, L.A.; KOWALSKI, A.P. de J.; SIGNOR, D.; MACHADO, E.M.; DESCHAMPS, C. Propagação por estaquia em patchouli com diferentes números de folhas e tipos de estacas. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.4, p.435-438, 2007.

GARRIDO, G.; GUERRERO, J.R.; CANO, E.A.; ACOSTAA, M.; SÁNCHEZ-BRAVO, J. Origin and basipetal transport of the IAA responsible for rooting of carnation cuttings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.114, n.2, p.303-312, 2002.

GENTIL, D.F. de O.; FERREIRA, S.A. do N. Morfologia da plântula em desenvolvimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Arecaceae). **Acta Amazonica**, Manaus, v.35, n.3, p.337-342, jul./set. 2005.

GONÇALVES, R.M.G.; GIANNOTTI, E.; GIANNOTTI, J. di G.; SILVA, A.A. da. Aplicação de modelo de revegetação em áreas degradadas, visando à restauração ecológica da microbacia do córrego da fazenda Itaqui, no município de Santa Gertrudes, SP. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.17, n.1, p.73-95, jun. 2005.

GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, A.I. da R.; SILVA, M.L. da; WILBERG, V.C. Óleos essenciais da Amazônia. VII. **Acta Amazonica**, Manaus, v.11, n.1, p.143-148, jan. 1981.

GUERRINI, A.; SACCHETTI, G.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADO, M.E.; BRUNI, R. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from eastern ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v.27, n.1, p.39-48, Jan. 2009.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7.ed. New York: Englewood Clipp, 2002. 880p.

HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A.; GONÇALVES, A.N. Monitoramento nutricional e fertilização em macro, mini e microjardim clonal de *Eucalyptus*. In: GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p.191-217.

HUSEN, A.; MOHINDER, P. Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). **New Forests**, Dordrecht, v.31, n.1, p.57-73, Jan. 2006.

JACOMASSI, E.; MOSCHETA, I.S.; MACHADO, S.R. Morfoanatomia e histoquímica de *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae). **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v.21, n.3, p.575-597, July/Sept. 2007.

JARAMILLO, M.A.; MANOS, P.S.; ZIMMER, E.A. Phylogenetic relationships of the perianthless piperales: reconstructing the evolution of floral development. **Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.165, n.3, p.403-416, 2004.

KÄMPF, A.N. Substrato. In: KÄMPF, A.N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p.45-73.

KATO, M.J.; FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v.79, n.4, p.529-538, 2007.

KLOUCEK, P.; POLESNY, Z.; SVOBODOVA, B.; VLKOVA, E.; KOKOSKA, L. Short communication antibacterial screening of some peruvian medicinal plants used in Callería district. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.99, p.309-312, Apr. 2005.

LABORIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.59, n.1, p.37-56, 1987.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. 529p.

LEME, R.L.; COUTO, L.B.; LEAL FILHO, N.; GRIBEL, R. Propagação por estaquia de duas espécies de piperáceas, *Piper aduncum* L. e *Piper arboreum* Aublet., estratégicas para a recuperação de áreas degradadas na amazônia central. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 5., 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SOBRADE, 2002. p.365-367.

LEMONS, G.C.S.; OLIVEIRA, L.O.; EBERLI, B.B.; MOTTA, O.V.; FOLLY, M.M. Bactericidal activity of macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) and jaborandi-falso (*Piper aduncum* L.) against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.3, n.1, p.67-72, Oct. 2000.

LENTZ, D.L.; CLARK, A.M.; HUFFORD, C.D.; MEURER-GRIMES, B.; PASSREITER, C.M.; CORDERO, J.; IBRAHIMI, O.; OKUNADE, A.L. Antimicrobial properties of honduran medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.63, n.3, p.253-263, Dec. 1998.

LI, S.W.; XUE, L.; XU, S.; FENG, H.; AN, L. Hydrogen peroxide acts as a signal molecule in the adventitious root formation of mung bean seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.65, n.1, p.63-71, Jan. 2009.

LIMA JÚNIOR, É. de C.; ALVARENGA, A.A. de; CASTRO, E.M. de; VIEIRA, C.V.; OLIVEIRA, H.M. de. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.5, p.1092-1097, set./out. 2005.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C.; CASTRO, D.S.; TORRES, G.I.O.P.S.; OLIVEIRA, C.F.N.; SILVA, M.H.L.S. Avaliação dos efeitos da temperatura e da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.2, p.297-299, jul. 2007. Suplemento.

LOPES, J.C., PEREIRA, M.D. Germinação de sementes de cubiu em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.27, n.2, p.146-150, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MAYER, J.L.S.; BIASI, L.A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.20, n.3, p.563-568, 2006.

MELO, F.P.L.; AGUIAR NETO, A.V.; SIMABUKURO, E.A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.1-323.

MESQUITA, J.M.O.; CAVALEIRO, C.; CUNHA, A.P.; LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.15, n.1, p.6-12, jan./mar. 2005.

MILBERG, P.; ANDERSSON, L.; THOMPSON, K. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. **Seed Science Research**, Wallingford, v.10, p.99-104, 2000.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A. de A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V. da S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, p.467-470, May/June 2006.

NUNES, J.D.; TORRES, G.A.; DAVIDE, L.C.; SALGADO, C.C. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.1049-1052, jul. 2007.

OKUNADE, A.L.; HUFFORD, C.D.; CLARK, A.M.; LENTZ, D. Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*. **Phytotherapy Research**, London, v.11, n.2, p.142-144, 1997.

OLIVEIRA, J.C.S. de ; DIAS, I.J.M.; CAMARA, C.A.G. da; SCHWARTZ, M.O.E. Volatile constituents of the leaf oils of *Piper aduncum* L. from different regions of Pernambuco (Northeast of Brazil). **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.18, n.5, p.557-559, 2006.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83p.

OROZCO-SEGOVIA, A.; VAZQUEZ-YANES, C. Light effect on seed germination in *Piper* L. **Acta Oecologica**, Paris, v.10, n.2, p.123-146, 1989.

PARMAR, V.S.; JAIN, S.C.; BISHT, K.S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O.D.; PRASAD, A.K.; WENGEL, J.; OLSEN, C.E.; BOLL, P.M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, Oxford, v.46, n.4, p.597-673, Oct. 1997.

PASSOS, M.A.A.; SILVA, F.J.B.C. da; SILVA, E.C.A. da; PESSOA, M.M. de L.; SANTOS, R.C. dos. Luz, substrato e temperatura na germinação de sementes de cedro-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.2, p.281-284, fev. 2008.

PEIXE, A.; SERRAS, M.; CAMPOS, C.; ZAVATTIERI, M.A.; DIAS, M.A.S. Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.30, n.1, p.476-482, jan. 2007.

PEREIRA, A.C.R.L.; OLIVEIRA, J.V. de; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; CÂMARA, C.A.G. da. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.717-724, maio/jun. 2008.

PESCADOR, R.; VOLTONI, A.C.; GIRARDI, C.G.; ROSA, F.A.F. da. Estaquia de pariparoba-do-rio grande do sul sob efeito do ácido indol-butírico em dois substratos. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.4, p.391-398, 2007.

PILATI, R.; SOUZA, L.A. de. Morfoanatomia da plântula de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Ulmaceae). **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, Maringá, v.28, n.1, p.1-6, jan./mar. 2006.

PINO, J.A.; MARBOT, R.; BELLO, A.; URQUIOLA, A. Essential oils of *Piper peltata* (L.) Miq. and *Piper aduncum* L. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.16, p.124-126, Mar./Apr. 2004.

PINTO, J.E.B.P.; LAMEIRA, O.A.; SANTIAGO, E.J. de; SILVA, F.G. **Cultivo de plantas medicinais aromáticas e condimentares**. Lavras: FAEPE, 2001. 185p. Apostila.

RALI, T.; WOSSA, S.W.; LEACH, D.N.; WATERMAN, P.G. Volatile chemical constituents of *Piper aduncum* L and *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae). Papua New Guinea. **Molecules**, v.12, n.3, p.389-394, Mar. 2007.

RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; FAGG, C.W.; SOUSA SILVA, J.C.; FRANCO, A.C. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemao) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.18, n.2, p.351-358, 2004.

REIS, A.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. p.39-60.

REIS, M.S. dos; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007. p.45-69.

ROCHA, S.F.R.; MING, L.C.; CHAVES, F.C.M.; SCARDA, F.M. Role of light and phytochrome on *Piper aduncum* L. germination: an adaptive and environmental approach. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Birmingham, v.11, n.3, p.85-96, 2005.

ROSA, S.M. da; SOUZA, L.A. de. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *medium* Linnaeus (Piperaceae). **Acta Científica Venezuelana**, Caracas, v.55, n.1, p.27-34, jan. 2004.

SANTIAGO, E.J.A. de; PINTO, J.E.B.P.; CASTRO, E.M. de; LAMEIRA, O.A.; CONCEIÇÃO, H.E. O. da; GAVILANES, M.L. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.5, p.1035-1042, set./out. 2001.

SCALON, S. de P.Q.; MUSSURY, R.M.; RIGONI, M.R.; SCALON FILHO, H. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.27, n.6, p.753-758, nov. 2003.

SILVA, G.M. da C.; SILVA, H.; ALMEIDA, M.V.A. de; CAVALCANTI, M.L.F.; MARTINS, P. de L. Morfologia do fruto, semente e plântula do Mororó (ou pata de vaca) – *Bauhína forficata* Linn. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v.3, n.2, p.1-16, set. 2003.

SILVA, I.D. da; FAQUIM, R.; CARVALHO, R.I.N. de. Calogênese em diferentes estacas de caqui tratado com frio e ácido indolbutírico. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.7, n.1-2, p.113-118, 2006.

SILVA, J.M.M. da; RAPOSO, A.; SOUSA, J.A. de; MIRANDA, E.M. de. Indução de enraizamento em estacas de João-Brandinho (*Piper* sp.) com ácido indolbutírico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.35, n. esp., p.248-252, fev. 2004.

SILVA, M.H.L. da; COSTA, R.C.L.; LOBATO, A.K. da S.; OLIVEIRA NETO, C.F. de; LAUGHINGHOUSE, D.H. Effect of temperature and water restriction on *Piper aduncum* L. seed germination. **Journal of Agronomy**, v.6, n.3, p.472-475, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007. p.467-495.

SOUSA, P.J.C.; BARROS, C.A.L.; ROCHA, J.C.S.; LIRA, D.S.; MONTEIRO, G.M.; MAIA, J.G.S. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.2, p.217-221, abr./jun. 2008.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S.; OLIVEIRA, J.H.G. Comparative morphology and anatomy of the leaf and stem of *Peperomia dahlstedtii* C.DC., *Ottonia martiana* MIQ. and *Piper diospyrifolium* Kunth (Piperaceae). **Gayana Botânica**, Concepcion, v.61, n.1, p.6-17, 2004.

SYROS, T.; YUPSANIS, T.; ZAFIRIADIS, H.; ECONOMOU, A. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.161, n.1, p.69-77, Jan. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TEIXEIRA, S.D. Estudo fitoquímico de *Piper gaudichaudianum* e sua interação com morcegos frugívoros. 2003. 105p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

THIES, W.; KALKO, E.K.V.; HANS, U.S. The roles of echolocation and olfaction in two neotropical fruit-eating bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea*, feeding on *Piper*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v.42, n.6, p.397-409, 1998.

VAZQUEZ-YANES, C.; SMITH, H. Phytochrome control of seed germination in the tropical rain forest pioneer trees *Cecropia obtusifolia* and *Piper auritum* and its ecological significance. **New Phytologist**, Cambridge, v.92, n.4, p.477-485, July 1982.

VIANNA, W.O.; AKISUE, G. Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L. **Lecta**, Bragança Paulista, v.15, n.1-2, p.11-62, 1997.

WADT, L.H. de O.; EHRINGHAUS, C.; KAGEYAMA, P.Y. Genetic diversity of “Pimenta Longa” genotypes (*Piper* spp., Piperaceae) of the Embrapa Acre germplasm collection. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.27, n.1, p.74-82, 2004.

ZAIDAN, L.B.P.; BARBEDO, C.J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. São Paulo: Artmed, 2004. p.135-145.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E ANÁLISE HISTOQUÍMICA DO LIMBO DE *Piper aduncum* L. (PIPERACEAE)

RESUMO

Piper aduncum L. (Piperaceae), popularmente conhecida como pimenta-de-macaco, é uma espécie arbustiva umbrófila encontrada em várias formações florestais, preferencialmente em solos com elevado teor de matéria orgânica e umidade. De suas folhas é extraído óleo essencial com ação inseticida, fungicida e bactericida, de ampla aplicação nas áreas agrária e medicinal. Objetivando auxiliar trabalhos taxonômicos, farmacobotânicos e agrônômicos, foram realizados estudos anatômicos e histoquímicos do limbo de *P. aduncum*. Foi efetuada a caracterização anatômica de secções transversais e paradérmicas, da região apical, mediana e basal do limbo, preparadas segundo técnicas usuais de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Para a caracterização histoquímica, secções transversais foram submetidas à coloração específica, para a histolocalização de amido, proteínas totais, ligninas, lipídeos totais e insaturados, lactonas sesquiterpênicas, terpenóides com grupo carbonilo, compostos fenólicos gerais (ortodihidroxifenóis) e taninos. O mesofilo é dorsiventral, com camada subcelular em ambas as epidermes. Estão presentes idioblastos unicelulares nas camadas subcelulares, epidermes ou mesofilo. É hipostomática, com estômatos tetracíticos e salientes. Foram observados tricomas tectores unicelulares curtos de extremidades afiladas, pluricelulares de extremidade afilada e captado e tricomas glandulares saculiformes e glândulas peroladas. Nas epidermes e camadas subcelulares, só foi encontrada a presença de proteínas totais. Nos parênquimas paliçádicos e esponjosos, foram observados amido, lipídeos totais e insaturados. No parênquima fundamental foram encontrados amido, proteína, lipídeos totais, ortodihidroxifenóis e terpenóides com grupo carbonilo. Na porção basal dos tricomas tectores foram encontradas proteínas totais. Nos idioblastos oleíferos, foi detectado a presença de lipídeos totais, ortodihidroxifenóis, lactonas sesquiterpênicas e terpenóides com grupo carbonilo, ao passo que, nos tricomas saculiformes, proteína, lipídeos totais e ortodihidroxifenóis.

ABSTRACT

Piper aduncum L. known as “pimento de macaco”, is a shrub specie, found in various forest formation, mainly in soil with elevated organic matter and humidity. The essential oil containing insecticide and bactericide action, and also has broad application in agricultural and medicinal areas. Humming to help taxonomia, pharmobotanic and agronomic researches, there were made anatomical and histochemical studies of *P. aduncum* leaf blades. There was realized anatomical characterization of paradermic and transversal sections from apical region, median and basal of leaf blade, prepared according to usual technique of light and electronic microscopy of scanning. For the histochemical characterization, transversal sections were subjected to the specific coloration, for the histolocalization of starch, total protein, lignin, total and unsaturated lipids, sesquiterpenic lactones, terpenoid with carbonil group phenolic compound (ortodihidroxi phenols and tannins). The mesophyll is dorsiventral with subcelular layer in both epiderms. There are present unicellular idioblasts in subcelular layers, epiderm or mesophyll. It is hipoestomatic, containg tetracitic stomates. There were observed short thrichom tector unicellular with fine cap, pluricelular with fine cap and glandular thrichom saculiform and perolated glandula. In the epidermis and subcelular layers, it was only found the presence of total protein. In the palissadic and spongyous parenchyma were foun starch total and insaturated lipids. In the fundamental parenchyma there were visualized starch, protein, total lipids, ortodihidroxi phenols and terpenoid with carbonil group. In the basal portion of the tector thrichomes there were found total protein. In the oil idioblast there were observed the presence of total lipids, ortodihidroxi phenols, sesquiterpenic lactones and terpenoid with carbonil group, while it was possible to observe in the saculiform thricomes, protein, total lipids and ortodihidroxi phenols.

1 INTRODUÇÃO

Piper aduncum L. (Piperaceae), popularmente conhecido como falso-jaborandi, aperta-ruão e pimenta-de-macaco, é um arbusto medicinal nativo da América Tropical, amplamente distribuído em quase todo o território brasileiro. É uma planta umbrófila, encontrada em várias formações florestais, preferencialmente em solos com elevado teor de matéria orgânica e umidade (Lorenzi & Matos, 2002).

De suas folhas é extraído óleo essencial com elevado rendimento (1,8-2,2%), de ampla aplicação na agricultura devido à sua ação inseticida (Fazolin et al., 2005; Estrela et al., 2006; Fazolin et al., 2007) e fungicida (Bastos & Albuquerque, 2004; Navickiene et al., 2006) e também no tratamento contra microrganismos patogênicos no homem (Fidalgo et al., 2004; Duarte et al., 2005).

O conhecimento das características anatômicas e histoquímicas, dos órgãos responsáveis pela síntese e pelo armazenamento dos princípios ativos das plantas, é de fundamental importância nas decisões agronômicas, uma vez que auxilia na definição de estratégias específicas para o cultivo e a pós-colheita, considerando os procedimentos de coleta, armazenamento e manipulação das plantas medicinais (Reis & Mariot, 2001).

No âmbito estrutural do limbo, sua descrição possibilita a identificação de espécies de interesse em estágio vegetativo, especialmente em locais onde ocorrem outras espécies do mesmo gênero. Informações estruturais obtidas nesse tipo de estudo poderão auxiliar na caracterização ecofisiológica da espécie e fornecerão elementos para a identificação macro e microscópica de fitoterápicos produzidos a partir desse órgão vegetal. Além disso, os resultados dos testes histoquímicos servem como elementos de comparação qualitativa para

identificação de drogas fitoterápicas e para a prospecção do(s) princípio(s) ativo(s) do vegetal (Fank-de-Carvalho & Graciano-Ribeiro, 2005).

As características morfoanatômicas das espécies do gênero *Piper* têm sido amplamente estudadas, como *P. diospyrifolium* Kunth (Souza et al., 2004), *P. crassinervium* H.B. & K. (Albiero et al., 2005a), *P. gaudichaudianum* Kuntze (Albiero et al., 2005b) e *P. hispidum* Sw. (Albiero et al., 2006). No entanto, para *P. aduncum*, foi encontrada na literatura apenas a referência de Vianna & Akisue (1997), não havendo informações de caracterização anatômica utilizando microscopia eletrônica de varredura, bem como não há referência sobre testes histoquímicos. Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho, caracterizar estruturalmente o limbo de *P. aduncum*, visando a levantar caracteres imprescindíveis que possam ser utilizados na sua identificação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Folhas completamente expandidas localizadas no terceiro nó a partir da gema apical de ramos plagiotrópicos foram coletadas de cinco espécimes de *Piper aduncum* L., localizadas no câmpus da Universidade Federal de Lavras. A espécie foi identificada pela Dra. Valéria Evangelhista Gomes e as exsicatas encontram-se depositadas como documento taxonômico no Herbário da Universidade Federal de Lavras, sob número de registro 20275.

2.1 Caracterização estrutural

Para a caracterização anatômica por meio de microscopia de luz, as folhas foram fixadas em álcool 70% e analisadas em secção transversal ao longo do limbo. As secções transversais foram obtidas a mão-livre, clarificadas em hipoclorito de sódio comercial diluído a 50%, seguida de lavagens com água destilada, coradas com safrablal (safranina e azul de Astra, 1:1) e novamente

lavadas em água destilada. As secções paradérmicas foram obtidas pela dissociação química das epidermes adaxial e abaxial, mediante imersão de fragmentos de 1 cm² em mistura de Jeffrey (ácido nítrico e ácido crômico a 10%, 1:1), durante 12 horas (Johansen, 1940). A epiderme adaxial foi clarificada em hipoclorito de sódio comercial diluído a 50%, seguida de lavagens em água destilada, coradas com safranina 1% e novamente lavadas em água destilada. A epiderme abaxial não foi clarificada. Foram obtidas lâminas semi permanentes com água glicerinada (1:1), analisadas e microfotografadas em microscópio Olympus modelo BX 60, com câmera digital Canon A630 acoplada. As escalas referentes às ilustrações foram obtidas utilizando-se lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

Para a caracterização anatômica por meio de microscopia eletrônica de varredura, fragmentos da região mediana do limbo foram coletados e fixados em Karnovsky modificado - Glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2, CaCl₂ 0,001 M. Esses foram armazenados nessa solução por um mês em geladeira. As secções paradérmicas foram lavadas em tampão cacodilato, pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% por 2h, desidratadas em gradiente progressivo de acetona, submetidas à secagem ao ponto crítico (BAL-TEC, modelo CPD-030, Principality of Liechtenstein), montadas em stubs de alumínio com fita dupla-face e metalizados em evaporador de ouro Sputtering (BAL-TEC, modelo SCD-050, Principality of Liechtenstein). Para a obtenção das secções transversais, as amostras foram imersas em solução de glicerol 30% em água destilada por 30 minutos, congeladas em nitrogênio líquido e fraturadas com bisturi. Essas secções foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio e preparadas conforme descrito acima. Todas as secções foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (LEO, modelo EVO 40 XVP, Cambrigde-UK).

2.2 Análise histoquímica

Para a caracterização histoquímica, foram analisadas em microscopia de luz secções transversais obtidas a mão livre, da região mediana do limbo, recém-coletado. As secções foram coradas de maneira distinta, com o intuito de identificar a presença e localização de diferentes compostos químicos. Foi utilizado lugol para amido; azul de comassie R250 para proteínas totais; floroglucinol em meio ácido para ligninas; Sudan III para lipídeos totais; tetroxido de ósmio para lipídeos insaturados; ácido sulfúrico para lactonas sesquiterpênicas; dinitrofenilhidrazina para terpenóides com grupo carbonilo; cloreto férrico e dicromato de potássio para compostos fenólicos gerais (ortodihidroxifenóis); e vanilina clorídrica para taninos. As secções foram montadas em lâminas semi-permanentes com água glicerinada (1:1) ou meio próprio, dependendo da especificação do método (Ascensão, 2004).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização estrutural

Os feixes vasculares da nervura central são do tipo colateral aberto, havendo redução do número de feixes vasculares da base para o ápice para das folhas, ocorrendo de um a seis ao longo do limbo (Figura 2). O aumento no número de feixes ocorre exatamente quando encontra uma nervura de segunda ordem.

Vianna & Akisue (1997), estudando indivíduos de *P. aduncum* do Estado de São Paulo - Brasil, também observaram aumento no número de feixes da nervura central do ápice para a base foliar, assim como observado para *P. diospyrifolium* Kunth (Souza et al., 2004), *P. crassinervium* H.B. & K. (Albiero et al., 2005a), *P. gaudichaudianum* Kuntze (Albiero et al., 2005b) e *P. hispidum*

Sw. (Albiero et al., 2006). No entanto, nenhum deles relacionou com o encontro entre as nervuras primárias e secundárias.

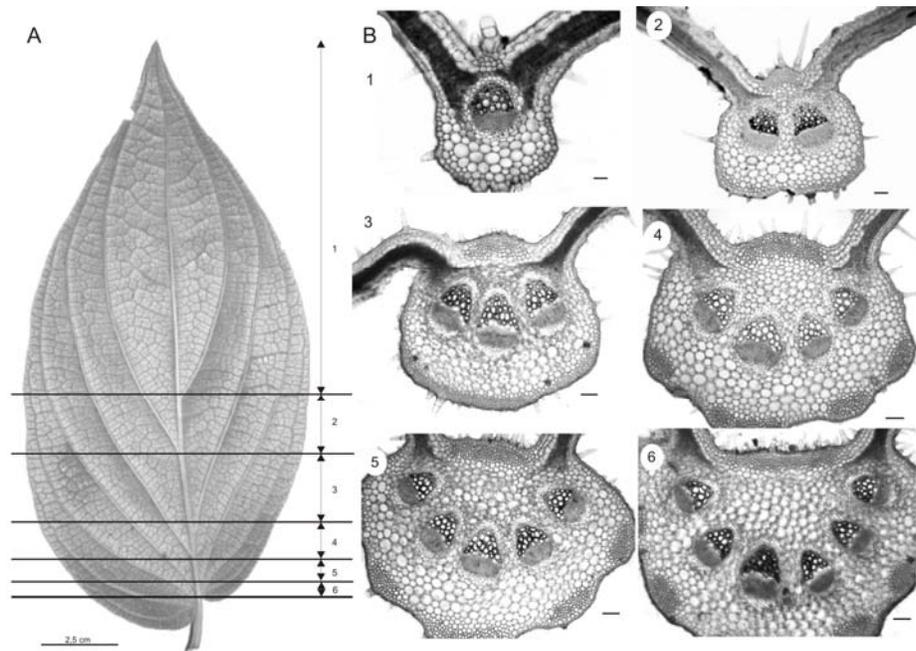


FIGURA 1 **A**- Fotografia de uma folha indicando as regiões com aumento progressivo do número de feixes, sentido ápice à base de *Piper aduncum*; **B**- Fotomicrografias da nervura central mostrando o aumento no número de feixes vasculares em cada intervalo, entre o encontro com a nervura principal e às de segunda ordem. As barras correspondem a 50 μ m.

Na região da nervura central, o colênquima é angular e encontra-se disposto em faixas contínuas subepidérmicas na superfície abaxial e adaxial (Figuras 1B - 1, 2 e 3). À medida que aumenta o número de feixes, as faixas de colênquima restringem-se às células subepidérmicas das regiões lobadas da nervura central (Figuras 1B - 4, 5 e 6). O colênquima abrange um número variado de fileiras de células.

Vianna & Akisue (1997) relatam que em *P. aduncum* o colênquima é angular, sempre contínuo, formado por oito a nove fileiras de células na superfície abaxial e quatro a cinco fileiras de células na superfície adaxial, independentemente da região do limbo.

A presença de colênquima angular na região subepidérmica da nervura central é bastante comum nas espécies do gênero *Piper*, sendo na maioria das vezes contínuo (Albiero et al., 2005a, Albiero et al., 2005b). Entretanto, em *P. hispidum* (Albiero et al., 2006), ocorre uma faixa muito reduzida de colênquima na superfície adaxial do ápice da folha.

Na secção transversal, o limbo de *P. aduncum* (Figura 2) possui epiderme adaxial e abaxial com formato variável, tendendo ao retangular, alongadas no sentido periclinal. Logo abaixo de ambas as epidermes, foram observadas a presença de uma a duas camadas de células grandes desprovidas de cloroplastos (Figura 2). Essa camada de célula é sempre contínua e bem desenvolvida abaixo da epiderme adaxial; porém, menor e algumas vezes ausente na abaxial; na região da nervura central, essa camada subcelular é interrompida pelo colênquima. Poderia ser hipoderme ou epiderme multisseriada; porém, a identificação correta do tecido só é possível com o estudo ontogênico da folha.

A existência da camada subcelular é comum e bastante discutida entre as Piperaceae. Vianna & Akisue (1997) observaram a presença dessa camada subcelular apenas na epiderme adaxial, e a denominaram de hipoderme sem, contudo, terem realizado o estudo ontogênico da folha. Souza et al. (2004), em estudo ontogênico da folha de *P. diospyrifolium*, verificaram a existência de divisões periclinais na protoderme, formando uma epiderme adaxial multisseriada. Em *P. crassinervium*, Albiero et al. (2005a) verificaram a presença dessa camada subepidérmica em ambas as epidermes e, com estudo ontogênico, observaram raras divisões periclinais nas células protodérmicas;

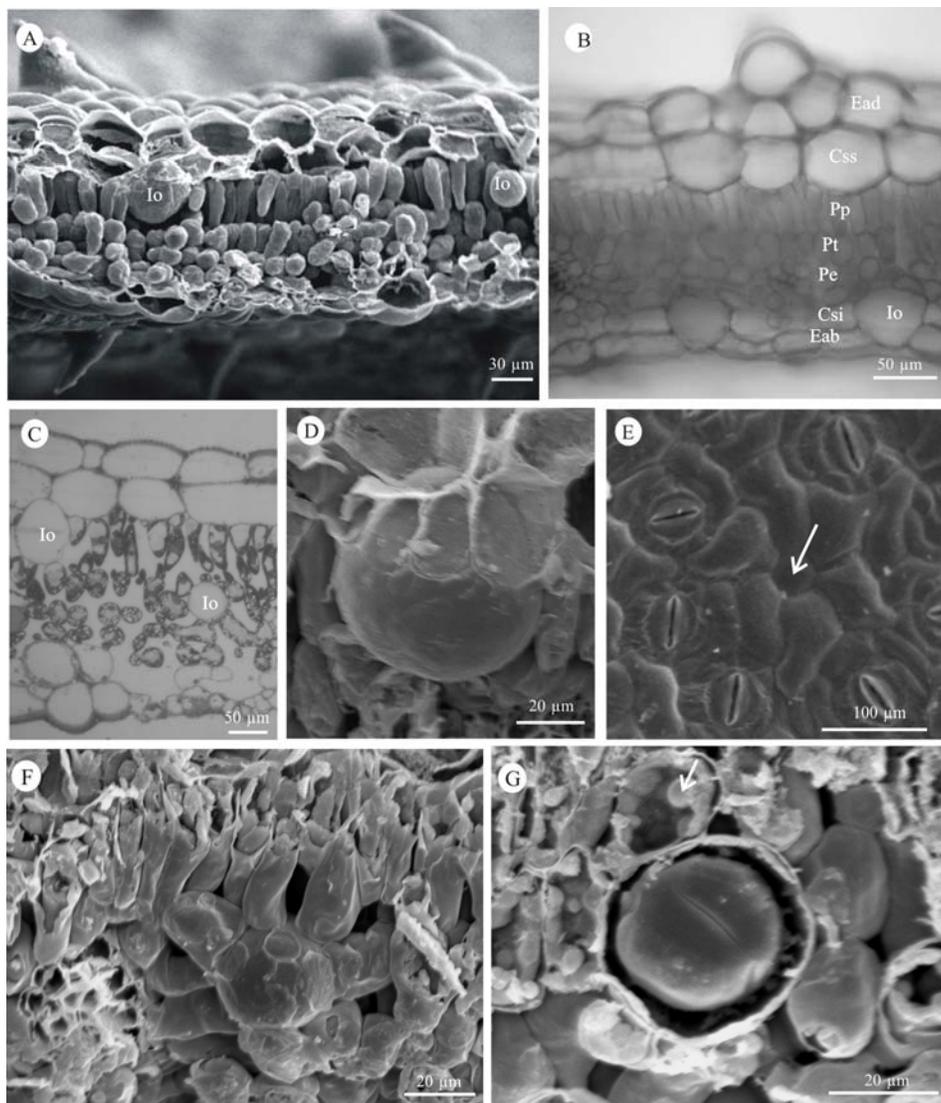


FIGURA 2 Detalhes da secção transversal (Figura A-E e G) e da paradérmica (F) do limbo de *P. aduncum*. **A**- Eletromicrografia de varredura; **B** e **C**- Fotomicrografia; **D**- Eletromicrografia de varredura evidenciando a presença de idioblasto oleífero inserido entre o tecido epidérmico; **E**- Eletromicrografia de varredura evidenciando a parte superior do idioblasto oleífero (seta); **F**- Eletromicrografia de varredura mostrando o idioblasto oleífero inserido no mesofilo; **G**- Eletromicrografia de varredura evidenciando o idioblasto oleífero do mesofilo, expondo o conteúdo interno e inúmeros grãos de amido

nos parênquimas (seta). Legenda: Io- idioblasto oleífero, Ead-epiderme adaxial, Css-camada subcelular superior, Pp-parênquima paliçádico, Pt-parênquima de transição, Pe-parênquima esponjoso, Csi-camada subcelular inferior, Eab-epiderme abaxial.

entretanto, não concluíram se é hipoderme ou epiderme múltipla. Albiero et al. (2005b) também verificaram a presença de uma ou duas camadas subepidérmicas, em ambas as superfícies foliares de *P. gaudichaudianum*, e por não terem efetuado o estudo ontogênico, não concluíram a natureza dessas camadas. Em *P. hispidum*, Albiero et al. (2006) verificaram essa camada subcelular em ambas as superfícies, sendo descontínuo na face adaxial com uma a três camadas e, contínuo e frouxo na face abaxial, constituído por dois a três estratos de células. Essa estrutura foi denominada de hipoderme, embora não tenha sido feito o estudo ontogênico da folha.

Não foi observada a presença de nenhum idioblasto cristalífero na camada subcelular, ao contrário de Vianna & Akisue (1997), que encontraram cristais de oxalatos de cálcio aciculares e cristais prismáticos em *P. aduncum*.

O mesofilo foliar possui parênquima clorofiliano com disposição dorsiventral (Figura 2B), constituído por um extrato de parênquima paliçádico ou dois, com o segundo extrato apresentando morfologia transicional entre os parênquimas paliçádico e esponjoso. O parênquima esponjoso é constituído por três a quatro camadas de células isodiamétricas com disposição aleatória e poucos espaços intercelulares do tipo meatos.

Mesofilo dorsiventral e parênquima paliçádico uniestratificado são características comuns em Piperaceae; contudo, o número das camadas do tecido esponjoso varia bastante, conforme citado a seguir. Vianna & Akisue (1997), observaram em *P. aduncum* de quatro a cinco extratos células no parênquima esponjoso, bem como os espaços intercelulares do tipo meatos. Souza et al. (2004), em *P. diospyrifolium* e Albiero et al. (2005a) em *P. crassinervium*,

verificaram a presença de três a quatro camadas de células; Albiero et al. (2005b), encontraram dois a três extratos de parênquima esponjoso em *P. gaudichaudianum*; e Albiero et al. (2006), observaram de dois a quatro extratos em *P. hispidum*.

De acordo com Fahn (1990) e Esau (1985), o parênquima esponjoso apresenta uma organização mais variada que o paliçádico e, se esse último é pluriestratificado, a camada mais interna apresenta forma e disposição cada vez mais semelhante com o esponjoso, como observado em *P. aduncum*.

Foi observada a presença de idioblastos unicelulares de tamanho variado; contudo, sempre maior que as demais células, que apresentaram distribuição variada na folha, alojando-se sob uma leve depressão ou em mesmo nível das células vizinhas, principalmente nas camadas subcelulares e epidermes, principalmente na abaxial (Figuras 2 A - D), ou distribuídos ao longo do mesofilo (Figuras 2 A, 2 C, 2 F e 2 G). Quando está no mesofilo, esses idioblastos possuem formato arredondado e, quando inseridos na epiderme, apresentam formato ovalado. Os idioblastos são circundados por células epidérmicas alongadas, dispostas radialmente em forma de roseta.

Alguns idioblastos sobressaem à epiderme, sendo possível visualizar um detalhe em visão superior (Figura 2 E). Em *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., (Piperaceae), também foi observado esse detalhe na epiderme.

A presença de idioblastos oleíferos é bastante comum entre as espécies do gênero *Piper*; contudo, a localização é variável. Nos trabalhos de Vianna & Akisue (1997), com *P. aduncum*, denominaram esses idioblastos de células oleíferas e só relataram a ocorrência deles inseridos no mesofilo, assim como observado para *P. crassinervium* (Albiero et al., 2005a) e *P. hispidum* (Albiero et al., 2006). De acordo com Nascimento & Vilhena-Potiguara (1999) e Albiero et al. (2005b), respectivamente em *Piper hispidinervium* e *Piper gaudichaudianum*, essas estruturas foram encontradas no mesofilo e nas

camadas subcelulares, enquanto que em *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (Pessini et al., 2003), foi verificada somente na camada subcelular.

As nervuras, tanto as de menor calibre do mesofilo, quanto as da nervura central, são circundadas por uma bainha de células parenquimáticas, que é simples nas de menor calibre e dupla ou tripla, mas interrompida em alguns pontos ao redor dos feixes da nervura central.

Em secção paradérmica, as células epidérmicas de ambas as superfícies foliares possuem formato bastante variado, como poligonal, cúbicas e retangulares, alongadas no sentido periclinal, com contorno liso e recoberta por cutícula delgada (Figuras 3 A - C, 3 E e 3 F), corroborando ao que já foi descrito por Albiero et al. (2005a) em *P. crassinervium*. Entretanto, Vianna & Akisue (1997) relatam que as células da epiderme abaxial de *P. aduncum* possuem contorno sinuoso, ao passo que as da adaxial, contorno liso, semelhante ao que foi descrito por Albiero et al., (2005b), para *P. gaudichaudianum*.

A baixa intensidade luminosa do ambiente de desenvolvimento de algumas plantas pode levar ao aumento da sinuosidade das paredes anticlinais das células epidérmicas, favorecendo o desenvolvimento em ambientes sombrios, uma vez que aumenta a superfície específica de absorção de luz (Castro & Pereira, 2007). Esse fator pode ter contribuído para as diferenças encontradas nos trabalhos de Vianna & Akisue (1997).

Foi observada a presença de estômatos apenas na superfície abaxial do limbo, sendo a folha classificada como hipoestomática, com seus complexos estomáticos do tipo tetracíticos (Figura 3 B e C). Entretanto, Vianna & Akisue (1997) encontraram estômatos anomocíticos além dos tetracíticos.

Folhas hipoestomáticas e estômatos tetracíticos têm sido encontrados em diversas espécies do gênero *Piper*, como *P. diospyrifolium* (Souza et al., 2004), *P. crassinervium* (Albiero et al., 2005a), *P. gaudichaudianum* (Albiero et al., 2005b) e *P. hispidum* (Albiero et al., 2006). Dessas espécies, também se

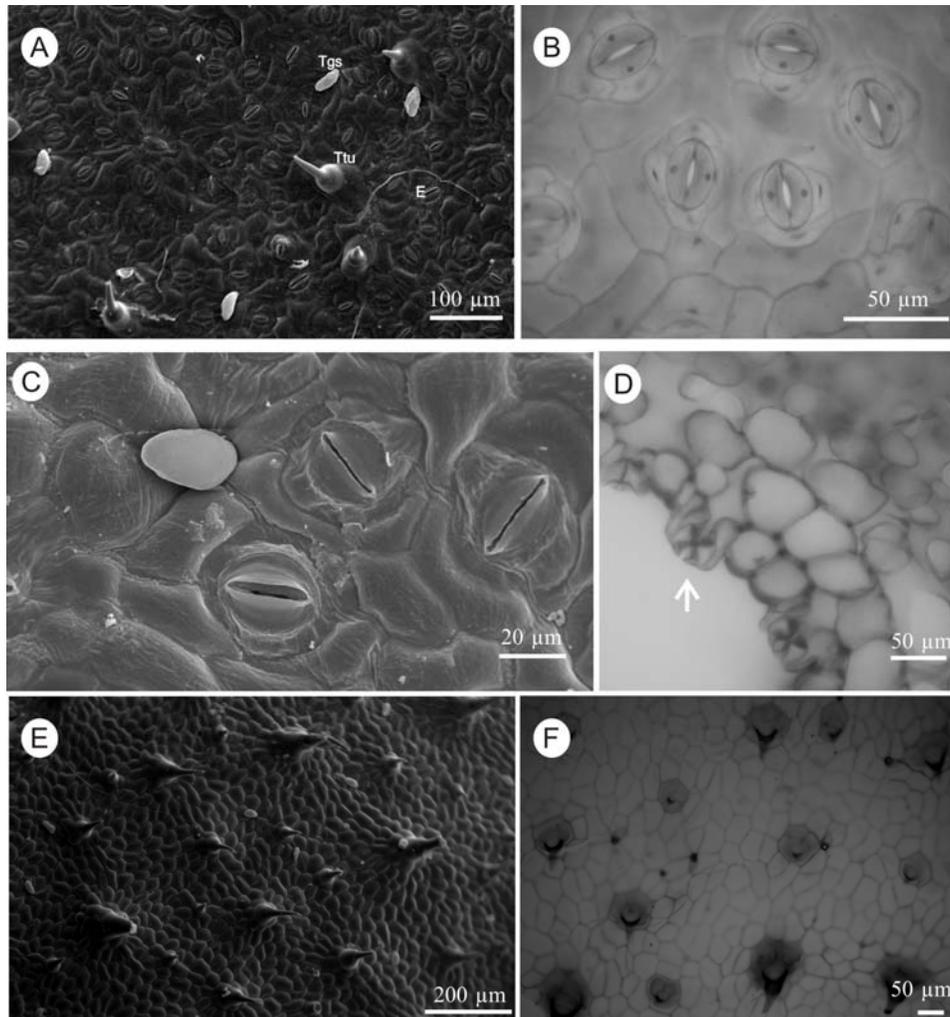


FIGURA 3 Seção paradérmica (A, B, C, E, F) e transversal (D) do limbo *Piper aduncum*. **A**- Eletromicrografia de varredura da superfície abaxial **B**- Fotomicrografia evidenciando estômatos tetracíticos; **C**- Eletromicrografia de varredura evidenciando estômatos tetracíticos **D**- Fotomicrografia evidenciando os estômatos salientes (seta); **E**- Eletromicrografia de varredura da superfície adaxial; **F**- Fotomicrografia da superfície adaxial. **Legenda:** Tgs-tricoma glandular saculiforme, Ttu-tricoma tector unicelular, E-estômato.

observaram outros tipos de estômatos, como ciclocíticos para *P. crassinervium* e raros anisocíticos para *P. hispidum*.

Como pode ser observado na Figura 3D, os estômatos de *P. aduncum* são salientes, fato não relatado para nenhuma espécie do gênero *Piper*. Segundo Castro & Pereira (2007), a posição dos estômatos possui função ecológica; quando situado acima das demais células epidérmicas, estão associadas a um habitat em que o suprimento hídrico é grande (hidrófitas), ao passo que os estômatos localizados em depressões relacionam-se a um habitat caracterizado pela baixa disponibilidade hídrica (xerófitas). Esse fato condiz com o local de ocorrência dessa espécie, que segundo Lorenzi & Matos (2002), é umbrófila, encontrada em várias formações florestais, preferencialmente em solos com elevado teor de matéria orgânica e umidade.

Foram observados tricomas tectores (Figuras 4 A e 4 B) e glandulares (Figuras 4 C - G), distribuídos em ambas as superfícies do limbo. Os tipos de tricomas tectores encontrados foram dois: unicelular curto de extremidade afilada (Figura 4 B) e pluricelular de extremidade afilada (Figura 3 A).

Os tricomas unicelulares e pluricelulares possuem a base envolta por células epidérmicas dispostas em roseta. No limbo, os tricomas tectores unicelulares foram encontrados em maior abundância, ao passo que os tectores pluricelulares estavam restritos praticamente às nervuras, e os tectores captados, somente na nervura central, sendo ainda mais raros.

Os tricomas glandulares são de três tipos morfológicos: com pedúnculo nítido e porção secretora unicelular de formato globular (Figuras 4 D e 4 E); com pedúnculo mais curto e inserido entre as células epidérmicas e com porção secretora ovóide, recoberta por cutícula e que apresenta-se curvada sobre a epiderme (Figuras 4 F e 4 G) e outro com base assemelhando-se ao tricoma pluricelular com porção secretora ovóide na extremidade (Figura 4 C). Esse último denominado de tricoma tector captado por Vianna & Akisue (1997).

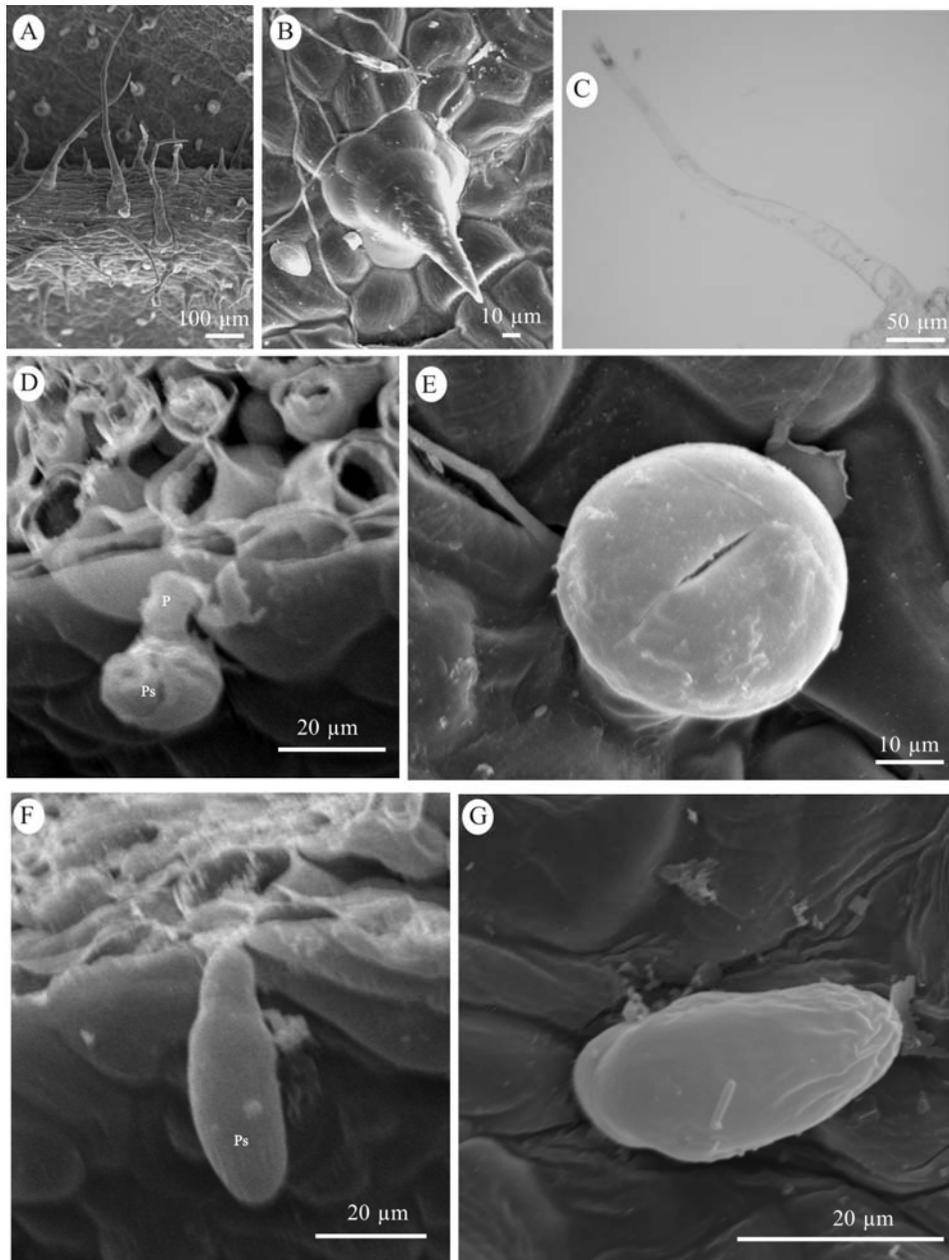


FIGURA 4 Eletromicrografia de varredura (A, B, E e G) da secção paradérmica da superfície abaxial e da secção transversal (D e F) e fotomicrografia (C) da secção transversal (D) do limbo de *Piper aduncum*. A- evidenciando nervuras de saliente recoberta por

tricomas tectores; **B**- Tricoma tector unicelular; **C**- Tricoma tector captado **D** e **E**-Tricoma glandular globular; **F** e **G**- Tricoma glandular fusiforme. **Legenda:** P-pedúnculo, Ps- porção secretora unicelulares.

O mais comum foi o tricoma glandular ovóide, que se encontra distribuído em ambas às superfícies do limbo. Tanto o tricoma secretor globular como o captado são bastante raros e foram localizados apenas na epiderme abaxial.

O tricoma glandular globular assemelha-se muito as glândulas peroladas encontradas por Silva & Machado (1999) durante estudo ontogênico de *P. regnellii* var. *regnellii*, destacando que sua ocorrência é frequente nos estádios iniciais de desenvolvimento e rara na maturação da folha, pois sofrem processo de abscisão, ficando apenas uma cicatriz, conforme pode ser visualizado na figura 2 E (seta). Esse tipo de tricoma foi descrito para *P. regnellii* var. *pallescens* (Pessini et al., 2003), também encontrado com maior frequência em folhas jovens.

O tricoma glandular ovóide assemelha-se ao que também foi descrito no trabalho de Silva & Machado (1999), como tricoma saculiforme. Nesse trabalho, os autores demonstraram que a base desse tipo de tricoma desenvolve-se e, posteriormente, se torna-se tricomas glandulares capitados. A presença de tricoma glandular ovóide é bastante comum dentre as Piperaceae (Vianna & Akisue 1997; Nascimento & Vilhena-Potiguara 1999; Pessini et al., 2003; Albiero et al., 2005a; Albiero et al., 2005b; Albiero et al., 2006).

3.2 Análise histoquímica

Foi verificada presença marcante de amido em todo o tecido paliçádico e esponjoso do mesofilo foliar (Figura 2 A) e em menor quantidade no parênquima fundamental da nervura central, em especial próximo aos feixes vasculares (Figura 2 B). Esse amido encontra-se armazenado em grandes

grânulos que ocupam quase todo o cloroplasto, distribuídos ao longo das células do tecido paliçádico e esponjoso. A sua presença também foi confirmada nas células-guarda dos estômatos (Figura 2 A, seta).

As proteínas totais foram encontradas em todo o limbo, exceto nos parênquimas paliçádico e esponjoso (Figura 5 D a H e 5 J). Essas proteínas foram evidenciadas na porção basal dos tricomas tectores (Figura 5 F) e na porção secretora dos tricomas saculiformes (Figura 5 G e 5H), não sendo detectadas na glândula perolada (Figura 5 I) e nos idioblastos oleíferos (Figura 5 J).

Apenas nos parênquimas paliçádico e esponjoso foi evidenciada presença de lipídeos insaturados (Figuras 5 K a 5 P), enquanto a presença de lipídeos totais foi notada em todos os parênquimas do limbo (Figuras 5 Q a 5 T), na porção secretora dos tricomas saculiformes (Figuras 5 S) e nos idioblastos oleíferos (Figuras 5 T).

A presença de lignina ficou restrita às calotas de fibra sobre o floema e nas paredes do xilema (Figura 6 A e B), já os taninos estiveram ausentes (Figura 6 C). Nos idioblastos oleíferos, foi detectada a presença de ortodihidroxifenóis (Figura 6 D a H), lactonas sesquiterpênicas (Figura 6 I) e terpenóides com grupo carbonilo (Figura 6 J). Distribuídos ao acaso no parênquima fundamental, também foram encontrados ortodihidroxifenóis (Figura 6 G) e terpenóides com grupo carbonilo (Figura 6 K). Nos tricomas saculiformes, foram encontrados apenas ortodihidroxifenóis (Figura 6 H).

Silva & Machado (1999), trabalhando com *Piper regnellii* var. *regnellii*, observaram que a secreção produzida pelas glândulas peroladas presentes no limbo em desenvolvimento consiste de lipídios, proteínas e, principalmente, de polissacarídeos. No presente estudo, os resultados não foram conclusivos quanto à natureza da secreção das glândulas peroladas, provavelmente por terem sido utilizadas folhas maduras, tendo em vista que esses órgãos sofrem abscisão com

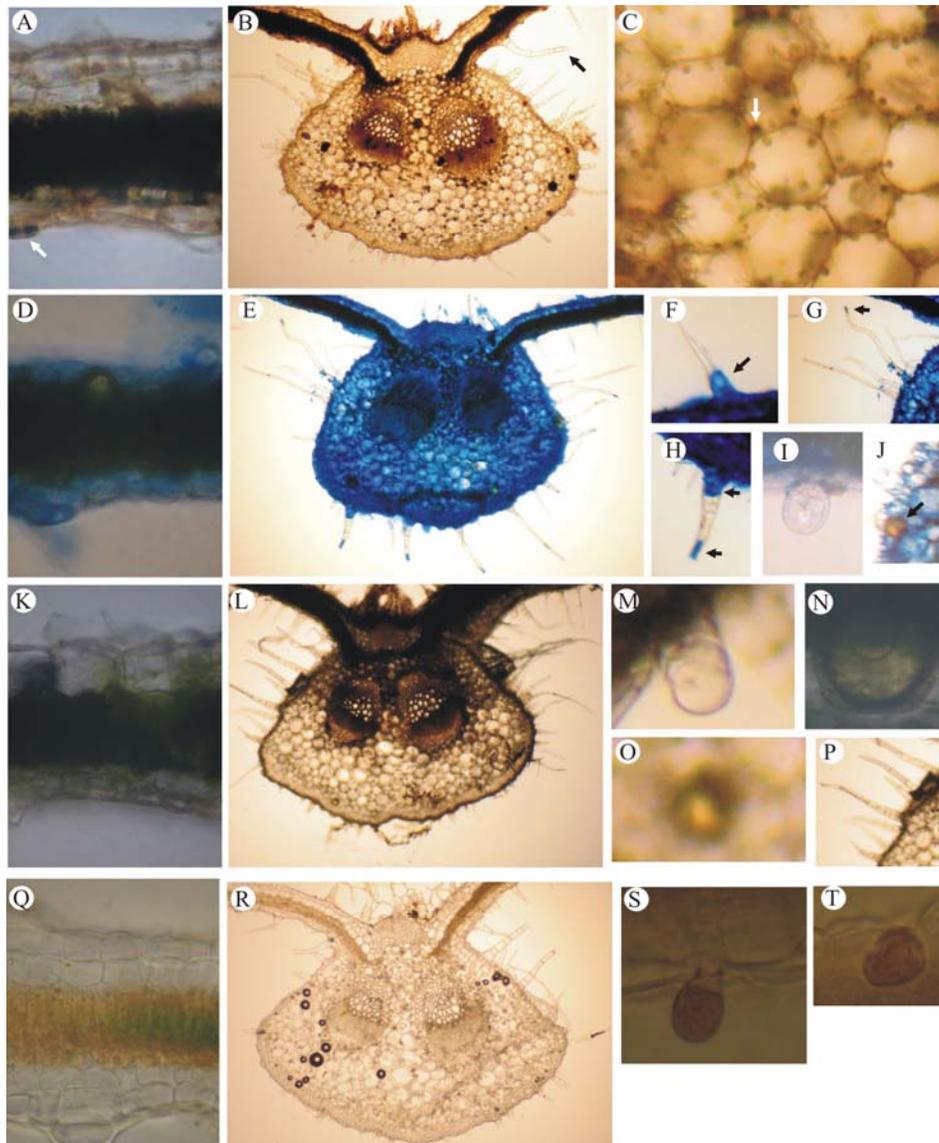


FIGURA 5 Fotomicrografia das secções transversais do limbo de *Piper aduncum*, coradas com lugol (A a C), comassie blue (D a J), tetróxido de ósmio (K a P) e sudan (Q a T). **A-** mesofilo e célula guarda (seta) intensmente corados de roxo; **B-** nervura central evidenciando tricoma glandular saculiforme (seta) e tricomas tectores não corados; **C-** parênquima fundamental com acúmulo de amido (seta); **D-** mesofilo não corado de azul; **E-** nervura central

com parênquima fundamental intensamente corado; **F**- tricoma tector evidenciando base corada (seta); **G**- tricoma glandular saculiforme evidenciando porção secretora corada (seta); **H**- tricoma glandular saculiforme evidenciando porção secretora e base coradas (seta); **I**- tricoma glandular globular não corado; **J**- célula oleífera não corada (seta); **K**- mesofilo corado de negro; **L**- nervura central; **M**- tricoma glandular globular não corado; **N e O**- célula oleífera não corada; **P**- tricomas não corados; **Q**- mesofilo corado de castanho; **R**- nervura central; **S**- tricoma glandular saculiforme com porção secretora corada; **T**- célula oleífera corada.

o desenvolvimento foliar. Por outro lado, observaram que a secreção do tricoma saculiforme corresponde a proteínas, polissacarídeos e, principalmente, lipídios, corroborando os resultados obtidos neste trabalho.

O resumo da histolocalização pode ser observado na tabela 1.

TABELA 1 Histolocalização de amido, proteínas e lipídeos em folhas de *Piper aduncum*, por meio de testes histoquímicos.

Tecido/estrutura anatômica	Amido	Proteínas totais	Lipídeos insaturados	Lipídeos totais
Epiderme	-	+	-	-
Camada subcelular	-	+	-	-
Parenquima paliçádico	+	-	+	+
Parenquima esponjoso	+	-	+	+
Idioblastos oleíferos	-	-	-	+
Parênquima fundamental	+	+	-	+
Célula guarda	+	*	-	-
Tricoma tector	-	+	-	-
Tricoma saculiforme	-	+	-	+
Glândula perolada	-	-	*	*

* os resultados não foram conclusivos

Corroborando os resultados do presente estudo, Pessini et al. (2003) observaram presença marcante de amido, bem como reação para lipídeos totais, lactonas sesquiterpênicas e ligninas, no limbo de *P. regnellii* var. *pallescens*; contudo, sem especificar a histolocalização desses compostos.

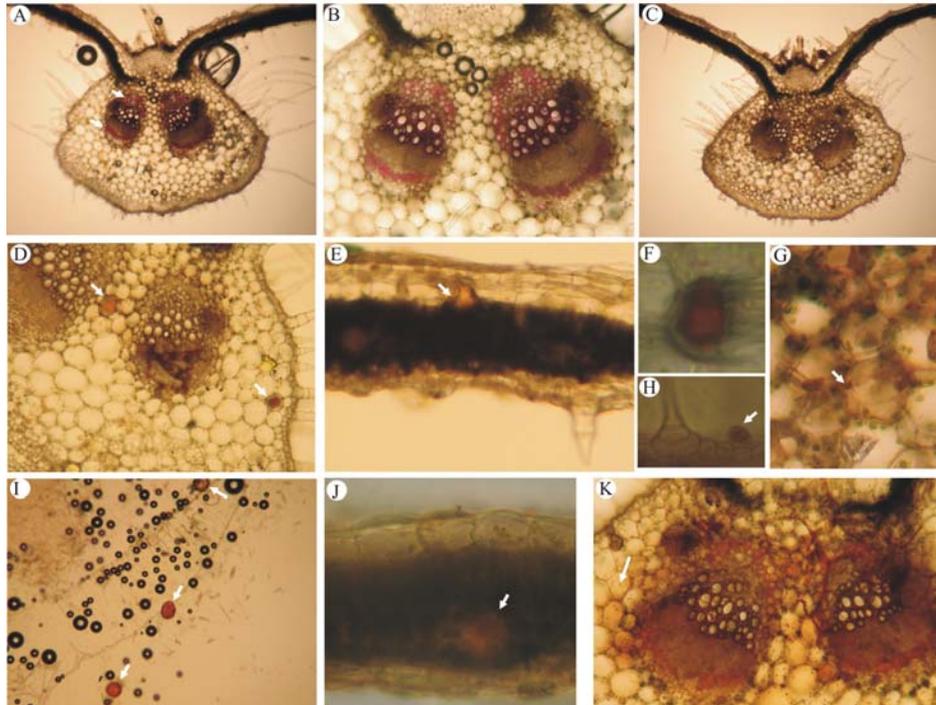


FIGURA 6 Fotomicrografia das secções transversais do limbo de *Piper aduncum*, coradas com floroglucinol em meio ácido (A e B), vanilina clorídrica (C), cloreto férrico ou dicromato de potássio (D a H), ácido sulfúrico (I) e dinitrofenilhidrazina (J e K). **A-** nervura central evidenciando lignina associada apenas aos feixes vasculares (seta); **B-** detalhe dos feixes vasculares contendo lignina; **C-** reação negativa para tanino; **D-** nervura central evidenciando idioblasto oleífero contendo ortodihidroxifenóis (seta); **E-** mesofilo com idioblasto oleífero corado (seta); **F-** detalhe do idioblasto oleífero corado; **G-** compostos fenólicos no parênquima fundamental (seta); **H-** tricoma saculiforme com a porção secretora corada (seta); **I-** idioblasto oleífero corado (seta); **J-** idioblasto oleífero corado (seta); **K-** terpenóides no parênquima fundamental (seta).

A histolocalização dos compostos do metabolismo secundário pode ser observada na tabela 2.

TABELA 2 Histolocalização de compostos fenólicos e terpênicos em folhas de *Piper aduncum*, por meio de testes histoquímicos.

Tecido/estrutura anatômica	Compostos fenólicos			Compostos terpênicos	
	Lignina	Taninos	Ortodihidr.	Lactonas sesquiterp.	Terpenóides com grupo carbonilo
Epiderme	-	-	-	-	-
Camada subcelular	-	-	-	-	-
Parenquima paliçádico	-	-	-	-	-
Parenquima esponjoso	-	-	-	-	-
Idioblastos oleíferos	-	-	+	+	+
Parênquima fundamental	-	-	+	-	+
Célula guarda	-	-	-	-	-
Tricoma tector	-	-	-	-	-
Tricoma saculiforme	-	-	+	-	-
Glândula perolada	-	-	*	*	*

* os resultados não foram conclusivos

Assim como ocorre com outras espécies de Piperaceae, conforme relatado por Marinho et al. (2008), em *Pothomorphe umbellata*, a anatomia foliar de *P. aduncum* está diretamente relacionada com seu ambiente natural. Possuem células com cutícula delgada, estômatos salientes e escassa lignificação, provavelmente estando relacionada com o ambiente úmido em que essa espécie é encontrada.

Como essa espécie não investe em tecidos de lignificação, provavelmente a sua defesa seja prioritariamente química (Marinho et al., 2008), haja vista a grande quantidade de estruturas secretoras e metabólitos secretados, o que também pode estar relacionado com as diversas atividades terapêuticas atribuídas à espécie.

4 CONCLUSÕES

O limbo de *Piper aduncum* possui como características marcantes: Mesofilo dorsiventral e camada subcelular em ambas as superfícies. Idioblastos unicelulares nas camadas subcelulares, epidermes ou mesofilo.

Hipoestomática, com estomáticos tetracíticos e salientes.

Pilosa em ambas as superfícies, com tricomas tectores unicelular e pluricelular de extremidade afilada e tricomas glandulares saculiformes e glândulas peroladas.

Nas epidermes e camadas subcelulares, encontravam-se presentes apenas proteínas totais.

Nos parênquimas paliçádicos e esponjosos, foram observadas as presenças de amido e de lipídeos totais e insaturados.

No parênquima fundamental, foram encontrados amido, proteína, lipídeos totais, ortodihidroxifenóis e terpenóides com grupo carbonilo.

Nos idioblastos oleíferos, foi detectada a presença de lipídeos totais, ortodihidroxifenóis, lactonas sesquiterpênicas e terpenóides com grupo carbonilo; já nos tricomas saculiformes, proteína, lipídeos totais e ortodihidroxifenóis.

As folhas apresentam células com cutícula delgada, estômatos salientes e ausência de depósito de lignina, provavelmente estando relacionada com o ambiente úmido em que esta espécie é encontrada.

Como as plantas de *P. aduncum* não investem em tecidos de lignificação e possui grande quantidade de estruturas secretoras e metabólitos secretados, provavelmente a sua defesa é prioritariamente química.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBIERO, A.L.M.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A. de; MOURÃO, K.S.M. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* H.B. & K. (Piperaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.19, n.2, p.305-312, 2005a.
- ALBIERO, A.L.M.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A.; MOURÃO, K.S.M. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper hispidum* Sw. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.16, n.3, p.379-391, jul./set. 2006.
- ALBIERO, A.L.M.; SOUZA, L.A. de; MOURÃO, K.S.M.; ALMEIDA, O.J.G. de; LOPES, W.A.L. Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper gaudichaudianum* Kuntze (Piperaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v.24, n.4, p.550-554, 2005b.
- ASCENSÃO, L. **Métodos histoquímicos em vegetais**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 22p. Apostila.
- BARRESE, C. **Fenologia de plantas do gênero *Piper* (Linnaeus, 1737) (Piperales: Piperaceae)**: implicações em quiropterocoria. 2005.40p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista.
- BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p.555-557, set./out. 2004.
- CASTRO, E.M. de; PEREIRA, F.J. **Anatomia comparada das fanerógamas em diferentes ecossistemas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2007. 87p. Apostila.
- DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V.L.G.; DELARMELINA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.97, p.305-311, Jan. 2005.
- ESAU, K. **Anatomía vegetal**. 3.ed. Barcelona: Omega, 1985. 779p.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.2, p.217-222, fev. 2006.

FAHN, A. **Plant anatomy**. 4.ed. Oxford: Pergamon, 1990. 588p.

FANK-DE-CARVALHO, S.M.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.F. (Amaranthaceae). **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v.19, n.2, p.377-390, 2005.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.113-120, jan./fev. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S. de; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.3, p.485-489, maio/jun. 2005.

FIDALGO, L.M.; RAMOS, I.S.; ALVAREZ, A.M.M.; LORENTE, N.G.; LIZAMA, R.S.; PAYROL, J.A. Propiedades antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v.56, n.3, p.230-233, 2004.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARINHO, C.R. **Características anatômicas, histoquímica das estruturas secretoras e ontogenia de idioblastos da folha de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. (Piperaceae)**. 2008. 59p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

NASCIMENTO, M.E.; VILHENA POTIGUARA, V.C.R. Aspéctos anatômicos dos órgãos vegetativos de *Piper hispidinervium* C. DC. (Piperaceae) e suas estruturas secretoras. **Boletim do Museu do Pará Emílio Goeldi**, Belém, v.15, n.1, p.39-104, 1999.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A. de A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V. da S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, May/June 2006.

PESSINI, G.L.; ALBIERO, A.L.M.; MOURÃO, K.S.M.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; CORTEZ, D.A.G. Análise Farmacognóstica de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. Aspéctos botânicos e enfoque físico-químico preliminar. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v.22, n.3, p.209-16, 2003.

REIS, A.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. p.39-60.

SILVA, E.M.J.; MACHADO, S.R. Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *regnellii* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.22, n.2, p.117-124, ago. 1999.

SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S.; OLIVEIRA, J.H.G. Comparative morphology and anatomy of the leaf and stem of *Peperomia dahlstedtii* C.DC., *Ottonia martiana* MIQ. and *Piper diospyrifolium* Kunth (Piperaceae). **Gayana Botânica**, Concepcion, Chile, v.61, n.1, p.6-17, 2004.

VIANNA, W.O.; AKISUE, G. Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L. **Lecta**, Bragança Paulista, v.15, n.1-2, p.11-62, 1997.

CAPÍTULO 3

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS DA PROPAGAÇÃO SEXUADA DE *Piper aduncum* L. (PIPERACEAE)

RESUMO

Piper aduncum L., conhecido como pimenta-de-macaco, é um arbusto com características de espécie pioneira, produtora de óleo essencial, com uso promissor tanto na agricultura como na medicina, devido à sua ação inseticida e fungicida. Embora haja interesse comercial pela espécie, são escassos os estudos sobre a sua propagação sexuada. Sendo assim, buscou-se efetuar a caracterização dos diásporos maduros e do processo germinativo, bem como verificar a influência de diferentes temperaturas sobre a germinabilidade, o vigor e a resposta fotoblástica. As infrutescências foram colhidas na maturação e beneficiadas, e os diásporos secos por 12 horas sob bancada. Foram realizadas caracterizações morfológica e anatômica dos diásporos, das plântulas e do processo germinativo. Foi calculado o peso de mil sementes (PMS) e realizadas análises bioquímicas quanto ao grau de umidade, carboidratos (açúcares redutores totais, glicose, sacarose e amido), extrato etéreo; proteína bruta e polifenóis (taninos). Foram avaliados quatro regimes térmicos (25 °C, 30 °C, 15-25 °C e 20-30 °C) e duas condições de luminosidade (fotoperíodo de 12 horas e escuro), sobre a germinabilidade e o vigor, utilizando como parâmetro a protrusão \geq a 1 mm de radícula. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Como características marcantes para a identificação de *P. aduncum* através dos diásporos, cita-se a presença de inúmeras saliências e placas de cera na superfície do endocarpo e do tegumento, com coloração acastanhada e aspecto levemente faveolado. O PMS resultou em 0,3645 g. Os diásporos contêm 13% de umidade e são proteicos. A protrusão da radícula ocorre aos 7 dias após a semeadura (DAS), o gancho hipocotiledonar forma-se aos 12 DAS e a plântula, aos 16 DAS. As plântulas possuem tamanho reduzido, com cotilédones fotossintetizantes, sendo a germinação epígea fanerocotiledonar. Foi observado poliembrionia. As temperaturas testadas não foram capazes de reverter o comportamento fotoblástico positivo dos diásporos e a temperatura de 20-30°C possibilita maior germinabilidade e melhor expressão do vigor.

ABSTRACT

Piper aduncum L. known as “pimento de macaco”, is a shrub specie containing pioneer characteristics, essential oil producer and has a promising usage in agriculture and medicine, due its insecticide and fungicide action. Although there is a commercial interest in this specie, research about sexual propagation is rare. This study aiment to characterize the mature dispore and the geminative process, and also verify the influence of different temperatures on germination, the vigor and photoblastic response. The infrutescence were harvested during maturation and processed, and the diaspore dried during 12 h at room temperature. There were made morphological and anatomical characterizations of the diaspore, planted and in germinative process. There were calculated the weight of thousand seeds (PMS) and realized biochemical analysis in relation to the humidity level, carbohydrate, eteral extract, crude protein and poliphenols (tannins). There were evaluated four temperature treatments (25 °C, 30 °C, 15-25 °C and 20-30 °C) and two light conditions (photoperiod of 12 h and dark), on the germination and vigour, using as parameter the radicle protrusion ≥ 1 mm. The averages were compared by Tukey test ($p < 0,05$). The main characteristics for the identification of *P. aduncum* based in diaspores are the various was plaque and protuberance in the endocarp surface and the brown colour of tegument. The PMS resulted in 0,3645 g. The diaspore contain 13% of humidity and it is proteic. The radicle protrusion occur at 7 days after sowing (DAS), the hypocotiledonar hook emerge at 12 DAS and the plantled at 16 DAS. The plantlets have the size reduced, with green cotyledons, and the germination is epigea fanerocotiledonar. It was observed poliembryony. The temperature tested were not capable to change the positive photoblastic behavior of diaspore, and the temperature 20-30 °C, paused higher germination rate and vigour.

1 INTRODUÇÃO

Piper aduncum L., conhecido como pimenta-de-macaco, é um arbusto nativo da América Tropical e amplamente distribuído em quase todo o território brasileiro, principalmente em pastagens e bordas de matas (Lorenzi & Matos, 2002). Apresenta potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas (Alvarenga et al., 2006) e, da parte aérea, é extraído óleo essencial, com uso promissor tanto na agricultura como na medicina, devido à baixa toxicidade a mamíferos (Sousa et al., 2008), possui também ação inseticida (Fidalgo et al., 2004; Fazolin et al., 2005; Fazolin et al., 2007; Pereira et al., 2008) e fungicida (Bastos & Albuquerque, 2004; Navickiene et al., 2006; Guerrini et al., 2009).

A estrutura destinada à reprodução sexuada (diásporos) dessa espécie é um fruto diminuto, tipo drupa, que se forma em infrutescência de tamanho variado (Vianna & Akisue, 1997). Estudos de caracterização morfoanatômica dos diásporos de espécies do gênero *Piper* são escassos, restringindo-se ao trabalho de Vianna & Akisue (1997) para *P. aduncum* e de Rosa & Souza (2004), para *Piper amalago* var. *medium* L., ambos utilizando apenas microscopia de luz.

O conhecimento da germinação e das plântulas, envolvendo as características morfoanatômicas, são de fundamental importância para estudos taxonômicos, ecológicos e agronômicos (Gentil & Ferreira, 2005; Pilati & Souza, 2006; Guimarães et al., 2007). Ainda, para a taxonomia, possibilita entender a fitogenia e as tendências evolutivas dessas estruturas, constituindo, assim, uma ferramenta útil para iniciar a identificação de sementes desconhecidas, as quais se apresentam com frequência durante o manejo, análises e na produção de plantas agrícolas e florestais (Silva et al., 2003).

A composição química das sementes é definida geneticamente, embora possa, até certo ponto, ser influenciada pelas condições ambientais a que as

plantas foram submetidas. O conhecimento da composição química é do interesse prático para a tecnologia de sementes, uma vez que tanto o vigor como a longevidade no armazenamento podem ser influenciados por compostos presentes nas sementes (Carvalho & Nakagawa, 2000). Ainda não foram encontradas na literatura informações sobre a composição química dos diásporos de espécies de Piperaceae.

Segundo Rocha et al. (2005), as sementes de *P. aduncum* são fotoblásticas positivas, não germinando na ausência de luz. A sensibilidade das sementes à luz pode variar em função da temperatura, sendo essa resposta diferencial entre as espécies (Garcia et al., 2007; Reyes-Ortega et al., 2009). A síntese das giberelinas também é estimulada por baixas temperaturas, pois a atividade da enzima ácido ent-caurenóico hidrolase é estimulada sob essas condições, aumentando a quantidade do ácido ent-caurenóico, precursor na rota biossintética da giberelina. Assim, há uma relação entre requerimento por luz, temperatura e síntese de giberelina (Taiz & Zeiger, 2004).

Contudo, pouco se sabe sobre a influência da temperatura na germinação das Piperaceae, sendo inexistentes estudos de sua interação com a luz. Para *P. aduncum*, diásporos submetidos à germinação nas temperaturas de 24 °C, 27 °C e 30 °C não diferiram quanto à porcentagem e velocidade de germinação (Lobato et al., 2007; Silva et al., 2007).

Diante do exposto, buscou-se com este trabalho estudar as características morfoanatômicas e bioquímicas dos diásporos maduros de *P. aduncum*, assim como efetuar a caracterização morfológica da germinação até a formação da plântula, visando a fornecer informações para fins taxonômicos, ecológicos e agrônômicos. Adicionalmente, serão avaliadas também algumas características fisiológicas das drupas submetidas a diferentes regimes térmicos e condições de luminosidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A espécie foi identificada pela Dr. Valeria Evangelhista Gomes, sendo as exsiccatas depositadas como documento taxonômico no Herbário da Universidade Federal de Lavras, sob número de registro 20275. Os frutos foram coletados de plantas matrizes selecionadas, situadas na microrregião de Lavras (MG), no período de outubro de 2007 a fevereiro de 2008.

Em condições de laboratório, procedeu-se ao beneficiamento, com lavagem em água corrente sob peneira, seguida de secagem sobre papel de filtro em bancada por 12 horas.

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, utilizando-se três repetições de 0,1 g de drupas beneficiadas, após secagem por 12 horas em bancada. Os resultados foram expressos em porcentagens em base úmida (Brasil, 1992).

As análises químicas foram realizadas no Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, utilizando-se 2 g de sementes beneficiadas e trituradas em moinho refrigerado. As amostras foram desengorduradas em Soxhlet. O pó desengordurado obtido foi submetido à caracterização química, segundo os métodos oficiais da AOAC (1990): para quantificação dos teores de carboidratos (açúcares redutores totais, glicose, sacarose e amido), utilizou-se o método redutométrico de Somogy modificado por Nelson (1944); para o extrato etéreo, utilizou-se o extrator contínuo de Soxhlet; na determinação do teor de nitrogênio total, utilizou-se o método de micro-Kjeldahl, aplicando-se o fator 6,25 para o cálculo do teor de proteína bruta; para polifenóis (taninos), utilizou-se o método de Folin-Denis.

O peso de mil sementes (PMS) foi determinado segundo Brasil (1992), com 8 repetições de 100 sementes em duplicata, sendo os resultados expressos

em gramas. Foram calculados a variância, o desvio-padrão e o coeficiente de variação de (CV).

Para a caracterização morfológica das drupas, foram analisados a coloração, superfície, formato e contorno de 100 unidades, com auxílio de lupa de mesa estereoscópica. As descrições das características morfológicas basearam-se nos trabalhos de Vianna & Akisue (1997), Aquila (2004) e Cocucci & Mariath (2004).

A caracterização anatômica foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural da Universidade Federal de Lavras. Foram analisados 50 diásporos, que foram fixados e preparados conforme procedimentos usuais em microscopia eletrônica de varredura, descritos por Alves (2004). Para a observação das estruturas internas, os diásporos foram congelados em nitrogênio líquido, seccionados longitudinalmente, preparados e observados em Microscópio Eletrônico de Varredura.

Para o acompanhamento das fases de germinação, foram semeadas 4 repetições de 50 diásporos, sobre papel mata-borrão, em germinador do tipo Mangelsdorf, a 25 °C, na presença de luz contínua e 100% de umidade relativa. Para a descrição morfológica, foram utilizados critérios baseados em Brasil (1992) e Aquila (2004).

Para avaliar a influência da temperatura e luz na germinação, as drupas foram desinfestadas com cercobin a 1% durante 5 minutos e semeadas sobre papel mata-borrão, umedecido 2,5 vezes o peso do papel e acondicionadas em caixas de acrílico do tipo gerbox (Brasil, 1992). Foram avaliados quatro regimes térmicos (25°C, 30°C, 15-25°C e 20-30°C), sob duas condições de luminosidade (fotoperíodo de 12 horas e escuro), mantidas em câmara de germinação modelo BOD 347 Fanem, com umidade relativa do ambiente em torno de 65%. Para simular a condição escura, as caixas gerbox foram envoltas com papel-alumínio

e novamente em sacolas pretas de polietileno, sendo a avaliação efetuada sob luz verde.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 100 sementes cada uma, em esquema fatorial 4x2, sendo, respectivamente, temperaturas, presença e ausência de luz. As avaliações de germinação foram realizadas diariamente, sendo o parâmetro utilizado a protrusão \geq a 1 mm de radícula. Foram calculados a germinabilidade (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962). A análise estatística foi realizada mediante o uso do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999), sendo realizada a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos de *P. aduncum* são diminutos, tipo drupas, que se formam em infrutescência de tamanho variado (Figura 1 B), conforme observado também por Vianna & Akisue (1997). Foi observada uma intensa predação das infrutescências (Figura 1 A, seta), provavelmente por morcegos, sendo necessário ensacar os frutos com embalagens de polietileno perfuradas, amarrando-as junto ao pedicelo e prendendo-as aos ramos, com o intuito de se obter diásporos na maturidade fisiológica, as quais apresentavam amolecimento da polpa e facilidade de abscisão na região do pedicelo. Mesmo fato foi observado por Barrese (2005), que verificou que 68% das infrutescências de *P. aduncum* caíram ou desapareceram, sugerindo que as que “desapareceram” tenham sido levadas por morcegos.

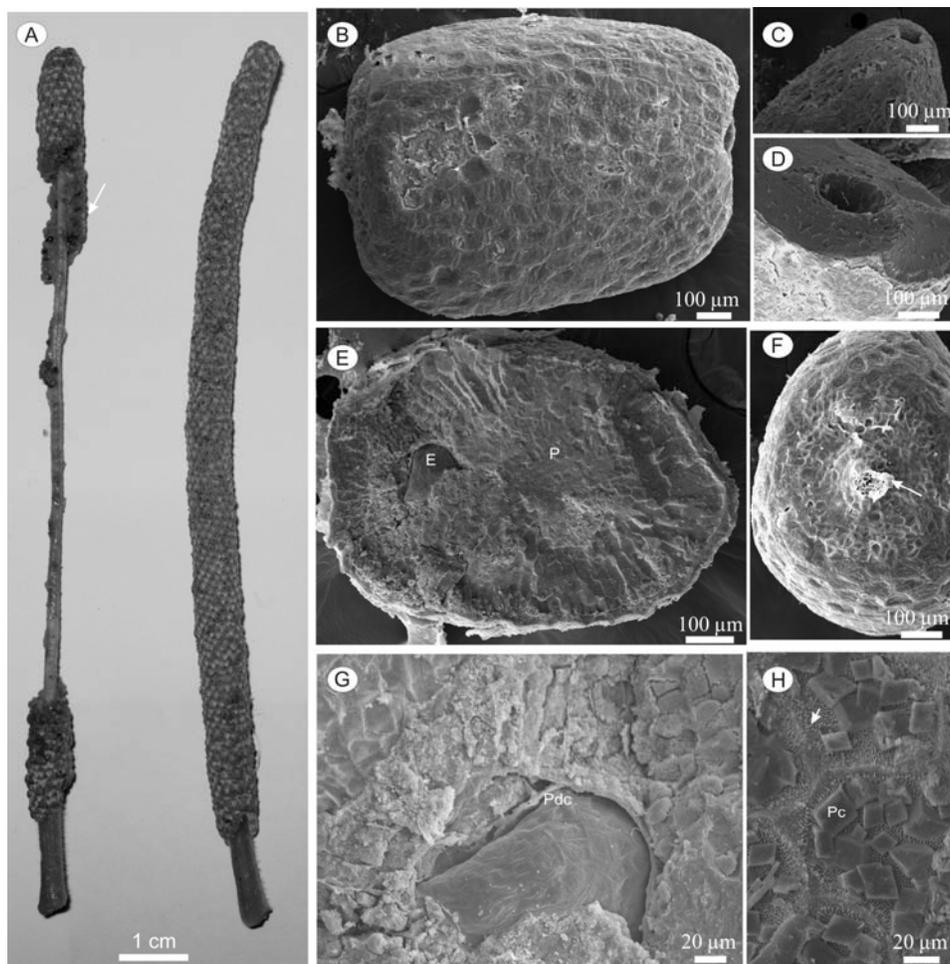


FIGURA 1 Fotografia (A) e eletromiografia de varredura (B - H), caracterizando a estrutura de propagação sexuada de *Piper aduncum*. **A**- Infrutescências maduras predadas por morcegos (seta) e sadia; **B**- Visão da superfície dos diásporos; **C**- Detalhe da região proximal ao eixo da infrutescência (hilo); **D**- Secção transversal 1/3 abaixo da região proximal, evidenciando o hilo profundo; **E**- Secção longitudinal dos diásporos, com embrião diminuto (E) e perisperma (P); **F**- Detalhe da região distal ao eixo da infrutescência (micropila), com resíduo de estigma (seta); **G**- Detalhes do embrião evidenciando os pólos de diferenciação dos cotilédones (Pdc); **H**- Detalhes da superfície dos diásporos, com elevações semelhante a tricomas (seta) e placas retangulares com contorno definido, que se assemelham a cristais (Pc).

As drupas possuem formato tendendo ao cônico, com contorno entre obovóide e globoso (Figura 1B e E), com as extremidades deprimidas, possuindo $1,15 \pm 0,018$ mm de comprimento, $0,95 \pm 0,087$ mm largura e $0,75 \pm 0,079$ mm de espessura. O PMS foi 0,3645g. A coloração dos diásporos maduros é uniforme, preta e levemente prateada. Nas infrutescências estão presentes inúmeros frutos abortados, com coloração avermelhada, que é intensificada com a embebição após a semeadura.

Pode ser observado nos diásporos, na região proximal ao eixo da inflorescência (Figura 1 C e 1 D), uma depressão profunda e formato cilíndrico, que atinge pouco menos que 1/3 da drupa. Provavelmente, trata-se de um hilo de formato linear, devido à posição em relação ao eixo da inflorescência. Na região distal, pode ser observada uma região porosa (Figura 1 F) que, muitas vezes, contém resíduo do tecido transmissor (Figura 1 B, seta). Conforme denominado por Oliveira et al. (2008), para *Peperomia parnassifolia* Miq., essa região provavelmente seja a micrópila.

O hilo (Figura 1 C e 1 D) e a micrópila (Figura 1 F) são visíveis e opostos, sendo as sementes classificadas como ortótropas. O embrião é diminuto e localiza-se na região distal ao eixo das infrutescências (Figura 1 E). Essas características foram relatadas por Vianna & Akisue (1997), sendo marcante entre as espécies de Piperaceae, conforme ocorre para *P. amalago* var. *medium* L (Rosa & Souza, 2004) e para *P. parnassifolia* (Oliveira et al., 2008).

No momento da dispersão, o embrião encontra-se no primeiro estágio de desenvolvimento, denominado estágio trapezoidal, com a visualização dos pólos de diferenciação dos cotilédones (Figura 1 E). Entretanto, *Piper amalago* var. *medium* L possui embrião cordiforme (Rosa & Souza, 2004) e *P. parnassifolia*, embrião globular (Oliveira et al., 2008).

A superfície do endocarpo possui sulcos ao longo de sua extensão (Figura 1 B e 1 H), por vezes, recobertos por restos de mesocarpo. No interior

dos sulcos, é possível verificar a presença de inúmeras saliências e placas de cera (Figura 1 G). Essa característica foi marcante e poderia ser utilizada na identificação; contudo, não foi possível contrapor com as espécies do gênero, tendo em vista a escassez de estudos relacionados.

Nas drupas recém-beneficiadas, o grau de umidade foi 24%, ao passo que, após secagem durante 12 h sobre bancada, ele foi reduzido para 13%. Os diásporos possuem proteínas como composto químico de reserva predominante (Tabela 1), podendo assim classificá-los como proteicos.

TABELA 1 Valores médios em base de matéria seca (g/100g) e desvio padrão, dos constituintes químicos dos diásporos de *Piper aduncum*.

Composto químico		% (g/100g)	Desvio padrão
Carboidratos	açúcar redutor total	0,327567	0,041883
	glicose	0,162267	0,020364
	sacarose	0,157333	0,02442
Proteína bruta		16,45	0,175024
Extrato etéreo		1,46	0,125033
Amido		1,889667	0,023459
Taninos		0,106389	0,003379

O grau de umidade elevado encontrado nas sementes é condizente com a presença de proteínas como composto predominante fato que presumivelmente pode contribuir para a redução do potencial de armazenamento, devido às propriedades hidrofílicas dessa substância (Marcos Filho, 2005).

A caracterização da germinação das drupas de *P. aduncum*, do início da ruptura do endocarpo até a formação da plântula, é caracterizada na Figura 2. Aos 5 dias após a semeadura (DAS), é possível visualizar rachaduras no pólo micropilar (Figura 2 A), provavelmente devido à absorção de água pela semente e pelo desenvolvimento do embrião. A protrusão da radícula ocorre aos 7 DAS, com o tegumento envolvendo-a praticamente por completo (Figura 2 B e 2 C). O

tegumento tem coloração acastanhada, aspecto levemente faveolado, conforme observado também por Vianna & Akisue (1997).

Durante a germinação, ainda é possível visualizar a presença marcante do endocarpo contendo tricomas (Figura 2 D). Aos 9 DAS, é possível visualizar a radícula com auxílio de uma lupa (Figura 2 F); e apenas pela eletromiografia de varredura torna-se nítida a presença de inúmeras raízes secundárias (Figura 2 E).

O gancho hipocotiledonar forma-se aos 12 DAS (Figura 2 G) e, aos 13 DAS, é possível visualizar o enverdecimento dos cotilédones (Figura 2 H). Aos 15 DAS, os cotilédones ainda se encontram presos ao fruto (Figura 2 I), desprendendo-se completamente aos 16 DAS (Figura 2 J), originando a plântula normal. Os cotilédones são fotossintetizantes e a germinação é epígea fanerocotiledonar, pois os cotilédones elevam-se do substrato e libertam-se completamente do tegumento, formando a plântula.

Aos 20 DAS, as plântulas possuem cerca de 1 cm de comprimento de parte aérea e de sistema radicular, composta por dois cotilédones e o primórdio foliar em desenvolvimento, com 0,00018 cm² de área foliar total e 0,00015 g de massa seca total.

Foram observadas drupas contendo dois ou três embriões, com o surgimento de plântulas geminadas (Figura 2 K), sendo sempre uma com tamanho normal e as demais reduzidos, estando presentes no máximo 3 plântulas (Figura 2 L). Ao contrário do observado neste estudo, para diversas espécies de Piperaceae, foi encontrado apenas um embrião, conforme relatado por Vianna & Akisue (1997), para *P. aduncum*, Rosa & Souza (2004), para *P. amalago* var. *medium* e Oliveira et al. (2008), para *P. parnassifolia*.

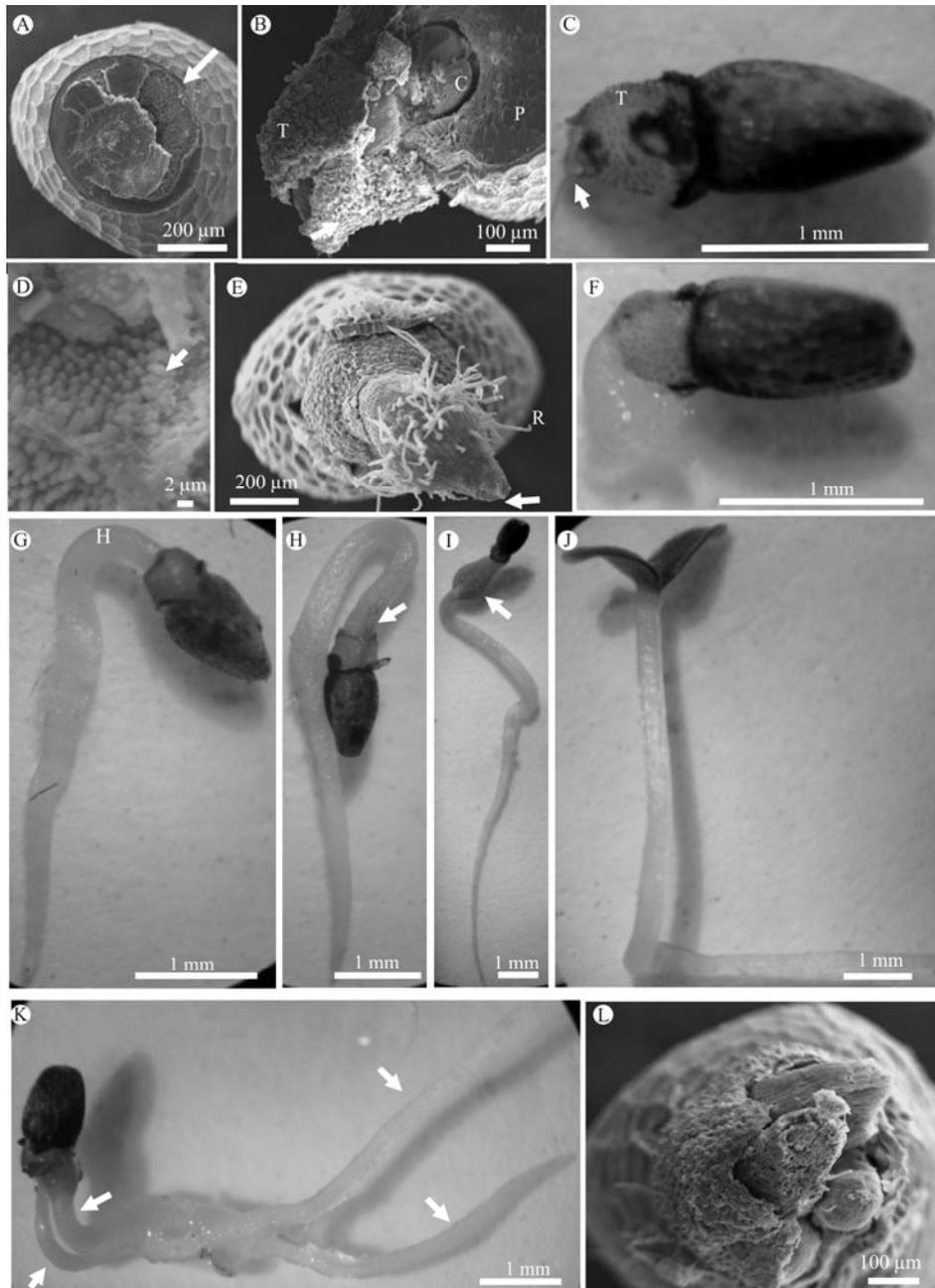


FIGURA 2 Eletromicrografia de varredura (A, B, D, E e L) e estereomicrografia (C, F, G - K), caracterizando o processo germinativo de *Piper aduncum*. A- 5 dias após sementeira (DAS), evidenciando rachaduras

no pólo micropilar (seta); **B-** 7 DAS, ruptura do endocarpo; **C-** 7 DAS, ruptura do endocarpo; **D-** Detalhes da superfície do endocarpo, com elevações no endocarpo (seta); **E-** 9 DAS, protrusão da radícula, radícula (seta); **F-** 9 DAS, protrusão da radícula; **G-** 12 DAS, formação do gancho hipocotiledonar; **H-** 13 DAS, esverdecimento dos cotilédones (seta); **I-** 15 DAS, cotilédones desprendendo-se do fruto; **J-** 16 DAS, plântula normal; **K-** Plântula geminada ainda presa ao endocarpo; **L-** protrusão de três radículas. Legenda: C- cotilédones; T-tegumento; P-perisperma; R-raízes secundárias; H-hipocótilo.

Quanto aos aspectos fisiológicos das drupas submetidas a diferentes regimes térmicos e condições de luminosidade, independentemente da temperatura avaliada, não foi observada germinação no escuro, podendo ser consideradas essencialmente fotoblásticas positivas, na faixa de temperatura testada. Esses resultados corroboram os obtidos por Rocha et al. (2005), que verificaram para sementes de *P. aduncum*, de dois ecotipos (SP e PR), mantidas sob luz vermelho extremo ou escuro, que elas adquiriram dormência induzida; contudo, germinaram posteriormente quando expostas à luz vermelha.

A germinabilidade foi superior a 20-30°C e inferior a 30°C; contudo, ambos os tratamentos não diferiram nem de 15-25°C e nem de 25°C (Tabela 2). Por outro lado, o vigor foi superior a 20-30°C, a 25°C e a 30°C, sendo inferior a 15-25°C.

TABELA 2 Germinabilidade (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG), dos diásporos de *Piper aduncum*, submetidas a diferentes regimes térmicos em presença de luz.

Temperatura (°C)	%G	IVG
25	86 ab	5,38 a
30	81 b	4,79 a
15-25	91 ab	3,76 b
20-30	94 a	5,41 a
CV (%)	6,12	6,74

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Sementes de diferentes espécies e classificação ecológica estão sujeitas a respostas diferenciais à temperatura do meio de germinação. Segundo Mayer & Poljakoff-Mayber (1989), a temperatura ótima propicia máxima germinabilidade no menor período. Limites máximos de temperatura propiciam aumento na velocidade de germinação; entretanto, apenas as sementes mais vigorosas conseguem germinar, o que determina redução na germinabilidade. Por outro lado, temperaturas mínimas reduzem a velocidade de germinação e alteram a uniformidade de emergência, possivelmente ocasionado pela incidência de patógenos e pelo maior tempo de ação delas sobre a semente (Carvalho & Nakagawa, 2000). Esse comportamento foi observado para *P. aduncum*, muito embora a 30°C tenha proporcionado maior vigor, expressos pelos valores de IVG. A maior germinabilidade ocorreu a 20-30°C, podendo ser considerada esse regime térmico ótimo para a espécie em estudo.

Algumas sementes necessitam de variações de temperatura para germinar. Essa estratégia poderia indicar para a semente qual a profundidade e existência de cobertura vegetal no solo. Quanto mais superficial a semente se encontrar e desnudo for o solo, maior será a variação de temperatura (Astarita & Goulart, 2007). Esse comportamento condiz com o fotoblastismo positivo.

Os resultados encontrados neste estudo para *Piper aduncum* são corroborados por Lobato et al. (2007) e Silva et al. (2007) para uma população da mesma espécie na região Amazônica, os quais verificaram que diásporos submetidos a 24°C, 27°C e 30°C não diferiram quanto à porcentagem e velocidade de germinação.

4 CONCLUSÕES

Os diásporos de *Piper aduncum* são diminutos, apresentando cerca de 0,3645g de PMS e são poliembriônicos, contendo 2 ou 3 embriões.

Na superfície do endocarpo estão presentes inúmeras saliências e placas semelhantes a cristais, com o tegumento apresentando-se de coloração acastanhada e aspecto levemente faveolado.

As drupas contêm um grau de umidade de 13%, sendo predominantemente proteicas.

A protrusão da radícula ocorre aos 7 DAS, o gancho hipocotiledonar forma-se aos 12 DAS e a plântula aos 16 DAS, com germinação epígea fanerocotiledonar.

As plântulas são diminutas, com cotilédones fotossintetizantes.

As temperaturas testadas não foram capazes de reverter o comportamento fotoblástico positivo dos diásporos.

A temperatura ótima de germinação foi de 20-30°C.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, A.P.; BOTELHO, S.A.; PEREIRA, I.M. Avaliação da regeneração natural na recomposição de matas ciliares em nascentes na região sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v.12, n.4, p.360-372, dez. 2006.

ALVES, E. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: UFLA, 2004. 51p. Apostila.

AQUILA, M.E.A. Tipos de diásporos e suas origens. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.69-92.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990. 2 v.

ASTERITA, L.; GOULART, A. **Embriogênese e sementes**. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/fabio/fisiovegetal/textosementes.PDF>>. Acesso em: 20 ago. 2007.

BARRESE, C. **Fenologia de plantas do gênero *Piper* (Linnaeus, 1737) (Piperales: Piperaceae): implicações em quiropterocoria**. 2005. 40p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p.555-557, set./out. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

COCUCCI, A.E.; MARIATH, J.E.A. Gametogênese, fecundação, seleção do gametófito mais apto, embriogênese e diásporo maduro. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.15-30.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.113-120, jan./fev. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S. de; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.3, p.485-489, maio/jun. 2005.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análises estatísticas. versão 4.3. Lavras: UFLA, 1999.

FIDALGO, L.M.; RAMOS, I.S.; ALVAREZ, A.M.M.; LORENTE, N.G.; LIZAMA, R.S.; PAYROL, J.A. Propiedades antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v.56, n.3, p.230-233, 2004.

GARCIA, Q. de S.; JACOBI, C.M.; RIBEIRO, B. de A. Resposta germinativa de duas espécies de *Vellozia* (Velloziaceae) dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.21, n.2, p.451-456, 2007.

GENTIL, D.F. de O.; FERREIRA, S.A. do N. Morfologia da plântula em desenvolvimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Arecaceae). **Acta Amazonica**, Manaus, v.35, n.3, p.337-342, jul./set. 2005.

GUERRINI, A.; SACCHETTI, G.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADO, M.E.; BRUNI, R. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v.27, n.1, p.39-48, Jan. 2009.

GUIMARÃES, E.F.; SAAVEDRA, M.M.; COSTA, C.G. Frutos e sementes em *Schultesia* Mart. e *Xestaea* Griseb. (Gentianaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.21, n.2, p.309-323, abr./jun. 2007.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C.; CASTRO, D.S.; TORRES, G.I.O.P.S.; OLIVEIRA, C.F.N.; SILVA, M.H.L.S. Avaliação dos efeitos da temperatura e da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.2, p.297-299, jul. 2007. Suplemento.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madson, v.2, n.1, p.176-177, Jan./Feb. 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: The McMillan Company, 1989. 270p.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A. de A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V. da S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, May/June 2006.

OLIVEIRA, J.H.G. de; SOUZA, L.A. de; IWAZAKI, M. de C. Estruturas de reprodução de *Peperomia parnassifolia* Miq. (Piperaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v.30, n.1, p.1-7, jan. 2008.

PEREIRA, A.C.R.L.; OLIVEIRA, J.V. de; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; CÂMARA, C.A.G. da. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.717-724, maio/jun. 2008.

PILATI, R.; SOUZA, L.A. de. Morfoanatomia da plântula de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Ulmaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v.28, n.1, p.1-6, jan./mar. 2006.

REYES-ORTEGA, I.; SÁNCHEZ-CORONADO, M.E.; OROZCO-SEGOVIA, A. Seed germination in *Marathrum schiedeanum* and *M. rubrum* (Podostemaceae). **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.90, n.1, p.13-17, Jan. 2009.

ROCHA, S.F.R.; MING, L.C.; CHAVES, F.C.M.; SCARDA, F.M. Role of light and phytochrome on *Piper aduncum* L. germination: an adaptive and environmental approach. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Birmingham, v.11, n.3, p.85-96, 2005.

ROSA, S.M. da; SOUZA, L.A. de. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *medium* Linnaeus (Piperaceae). **Acta Científica Venezuelana**, Caracas, v.55, n.1, p.27-34, jan. 2004.

SILVA, G.M. da C.; SILVA, H.; ALMEIDA, M.V.A. de; CAVALCANTI, M.L.F.; MARTINS, P. de L. Morfologia do fruto, semente e plântula do Mororó (ou pata de vaca) – *Bauhinia forficata* Linn. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v.3, n.2, p.1-16, set. 2003.

SILVA, M.H.L. da; COSTA, R.C.L.; LOBATO, A.K. da S.; OLIVEIRA NETO, C.F. de; LAUGHINGHOUSE, D.H. Effect of temperature and water restriction on *Piper aduncum* L. seed germination. **Journal of Agronomy**, v.6, n.3, p.472-475, 2007.

SOUSA, P.J.C.; BARROS, C.A.L.; ROCHA, J.C.S.; LIRA, D.S.; MONTEIRO, G.M.; MAIA, J.G.S. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.2, p.217-221, abr./jun. 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

VIANNA, W.O.; AKISUE, G. Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L. **Lecta**, Bragança Paulista, v.15, n.1-2, p.11-62, 1997.

CAPÍTULO 4

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS DA PROPAGAÇÃO ASSEXUADA DE *Piper aduncum* L. (PIPERACEAE)

RESUMO

Piper aduncum L., conhecido como pimenta-de-macaco, é um arbusto como potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas. O óleo essencial pode ser utilizado como inseticida e fungicida na agricultura e medicina. Apesar da importância comercial dessa espécie, pouco se sabe sobre os seus mecanismos de propagação. Objetivou-se com este estudo avaliar a influência de diferentes substratos sobre o enraizamento de estacas *P. aduncum*, retiradas de diferentes porções da planta, contrapondo esses resultados com as características anatômicas. Foram coletadas estacas de ramos do tipo plagiotrópico (plag) do tipo ortotrópico (orto), em três posições cada uma (apical mediana e basal); apenas as estacas plag foram mantidas com folha. Foram avaliados três tipos de substratos (areia média, casca de arroz carbonizada e vermiculita média) e o enraizamento, avaliado após 2 meses. As estacas utilizadas no enraizamento foram avaliadas quanto à presença de possíveis barreiras à rizogênese, com base em análises anatômicas e testes histoquímicos. Pelos resultados obtidos, pôde-se verificar a existência de diferenças bioquímicas e anatômicas nas diferentes estacas utilizadas, podendo-se constituir barreiras à rizogênese. Para o sucesso da rizogênese, recomenda-se a utilização de estacas retiradas das porções apicais ou medianas de ramos plagiotrópicos, efetuando-se o plantio em substrato areia.

ABSTRACT

Piper aduncum L. known as “pimento de macaco”, is one shrub plant with potential to be used in recovery of degraded areas. The essential oil can be used as insecticide and fungicide in agriculture and medicine. In spite of the commercial importance of this species, basically their propagation mechanisms are unknown. This research aimed to evaluate the influence of different substrates on *P. aduncum* cuttings removed from different parts of plants associated with anatomical analysis. There were collected cuttings from plagiotropic (plag) and orthotropic (orto) shoots, in their positions each (apical, median and basal), being only the cuttings plag were kept with leaf. There were evaluated three types of substrates (sand, rice and vermiculite) and the rooting was evaluated after two months. The cuttings used in the rooting were evaluated in relation to barriers to rhizogenesis, based on the results, it is possible to verify the biochemical and anatomical in different cuttings used, being in this way act as barrier to rhizogenesis. For the success of rhizogenesis it is recommended the use of cuttings removed from apical or median portions from plagiotropic shoots and make the rooting in sand substrate.

1 INTRODUÇÃO

Piper aduncum L., conhecido como pimenta-de-macaco, é um arbusto nativo da América Tropical e amplamente distribuído em quase todo o território brasileiro, principalmente na Região Sudeste, onde ocorre espontaneamente em pastagens e beiras de matas (Lorenzi & Matos, 2002).

A espécie apresenta potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas, pois além da frutificação prolongada e dispersão quiropterocórica (Barrese, 2005), é colonizadora de áreas alteradas, promovendo a maior regeneração natural e densidade relativa alcançada ao longo do tempo (Alvarenga et al., 2006).

Da parte aérea é extraído óleo essencial, com elevado teor do fenilpropanoide dilapiol e uso promissor tanto na agricultura como na medicina, devido à baixa toxicidade em mamíferos (Sousa et al., 2008), apresentando também ação inseticida (Fidalgo et al., 2004; Fazolin et al., 2005; Fazolin et al., 2007; Pereira et al., 2008) e fungicida (Bastos & Albuquerque, 2004; Navickiene et al., 2006; Guerrini et al., 2009).

Apesar da importância comercial dessa espécie, pouco se sabe sobre os seus mecanismos de propagação assexuada, restringindo-se ao resumo expandido de Leme et al. (2002), os quais não obtiveram sucesso no enraizamento das estacas ao serem tratadas com hormônio de enraizamento RAIZON (Laboratório OKOCHI Ltda). Segundo Hartmann et al. (2002), a rizogênese em estacas pode ser influenciada por uma série de fatores, que embora sejam interligados, podem ser divididos, quanto à sua natureza, em fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos estão relacionados com a planta-matriz, como idade, nutrição, sanidade, hidratação, lignificação, composição química (amido, proteína e compostos fenólicos, entre outros), presença e número de folhas e gemas, bem como balanço hormonal. Esses

fatores são influenciados principalmente pelo potencial genético da espécie ou cultivar, época do ano e posição de coleta da estaca no ramo ou na planta.

Os aspectos anatômicos podem influenciar também na fase de expansão ou emergência das raízes adventícias em estacas caulinares, uma vez que podem conter a presença de fibras (Mayer et al., 2006) ou mesmo de um anel contínuo de esclerênquima na região cortical, bloqueando mecanicamente o crescimento do primórdio radicular formado (Peixe et al., 2007).

Diante do exposto e da escassez de informações sobre a fisiologia e a anatomia dessa via de propagação em *P. aduncum*, buscou-se avaliar a influência de diferentes substratos sobre o enraizamento de estacas retiradas de diferentes porções da planta, contrapondo esses resultados com as características anatômicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As estacas foram coletadas de plantas matrizes em estágio vegetativo, situadas na microrregião de Lavras (MG), no período de 27 de Janeiro de 2008 a 27 de março desse mesmo ano. A espécie foi identificada pela Dr. Valéria Evangelhista Gomes e as exsicatas encontram-se depositadas como documento taxonômico no Herbário da Universidade Federal de Lavras, sob número de registro 20275.

2.1 Estudos com diferentes substratos

Durante a coleta das estacas, elas foram mantidas com a base imersa em água por cerca de 1 hora, até o momento da instalação dos experimentos.

Foram coletadas estacas de ramos do tipo plagiotrópico (plag), que se desenvolvem na horizontal, os quais podem originar folhas e infrutescências e de ramos do tipo ortotrópico (orto), que se desenvolvem na vertical, os quais

formam a arquitetura da planta e originam apenas os ramos plagiotrópicos, não possuindo, portanto, folhas ou infrutescências. Coletaram-se três tipos de estacas de ambos os tipos de ramos, sendo cada qual obtido conforme especificações abaixo.

As estacas dos ramos plag foram retiradas da região mediana da planta e padronizadas em cerca 10 a 12 cm de comprimento, contendo duas gemas e uma folha seccionada ao meio. O nó imediatamente abaixo da gema apical foi denominado de nó 0, e o seguinte de 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Coletaram-se três tipos de estacas desses ramos, conforme representado na Figura 1A. Essas estacas foram denominadas de estaca plag apical (contendo os nós 1 e 2, e cerca de 2,5 mm de diâmetro), estaca plag mediana (contendo os nós 3 e 4, e cerca de 3,75 mm de diâmetro) e estaca plag basal (contendo o nó 5 e o 6, e cerca de 5,0 mm de diâmetro). As estacas apicais e medianas apresentavam coloração verde, ao passo que as basais, coloração vermelha.

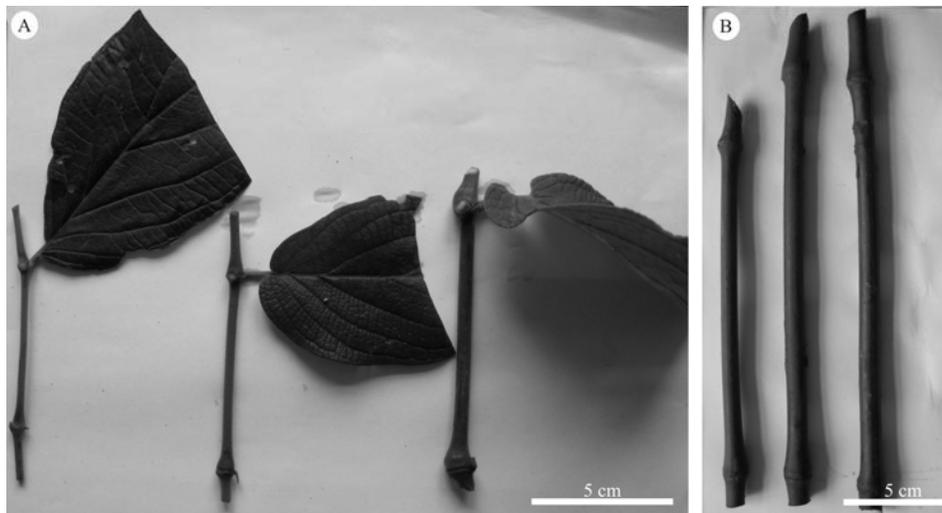


FIGURA 1 Tipos de estacas de *P. aduncum*. **A-** estacas dos ramos plagiotrópicos, a partir da direita têm-se plag-apical, plag-mediana e plag-basal. **B-** estacas dos ramos ortotrópicos, a partir da direita, orto-apical, orto-mediana e orto-basal.

As estacas dos ramos ortotrópicos foram padronizadas no tamanho de 20 a 25 cm de comprimento e também continham duas gemas (Figura 1B). O nó superior bifurca em dois plag e foi denominado de nó 0 e, o seguinte, de 1, 2, 3, 4, 5 e 6. As estacas foram denominadas de estaca orto apical (contendo os nós 1 e 2, com cerca de 8,95 mm diâmetro); estaca orto mediana (contendo os nós 3 e 4, com cerca de 10,74 mm diâmetro) e estaca orto basal (contendo os nós 5 e 6, com cerca de 12,53 mm diâmetro).

Foi avaliado o potencial de enraizamento dessas estacas frente a três tipos de substratos (areia média, casca de arroz carbonizada e vermiculita média), em bandeja de poliestireno expandido, com 72 células, mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas sob luz branca fluorescente, com $78,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA), medida com quantômetro LI 1600M.

Após 2 meses de enraizamento, avaliaram-se a retenção foliar (folhas que permaneceram após estaquia), o número e o comprimento das brotações, número de folhas de cada brotação, número de raízes e comprimento da maior raiz. Foi calculada a porcentagem de enraizamento e sobrevivência das estacas.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições de 5 estacas cada uma, em esquema fatorial 3×3 , constituído pelos três tipos de estacas e três substratos, para cada tipo de ramo (plag e orto). Os dados obtidos foram submetidos a análises de variâncias e as médias analisadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).

2.2 Caracterização anatômica das estacas

As mesmas estacas utilizadas no experimento de enraizamento foram utilizadas para avaliar a presença de possíveis barreiras à rizogênese.

Secções transversais da região logo abaixo da gema basal de estacas recém-coletadas foram obtidas a mão livre e submetidas a testes histoquímicos para identificar a presença e localização de diferentes compostos químicos (Ascensão, 2004). Para as qualificações de amido, proteínas totais, ligninas, lipídeos totais, lipídeos insaturados, lactonas sesquiterpênicas, terpenóides com grupo carbonilo, compostos fenólicos gerais, ortodihidroxifenóis e taninos, foram utilizados os seguintes reagentes, respectivamente: lugol, azul de comassie R250, floroglucinol em meio ácido, Sudan III, tetroxido de ósmio, ácido sulfúrico, dinitrofenilhidrazina, cloreto férrico, dicromato de potássio e vanilina clorídrica.

As secções foram montadas em lâminas semipermanentes com água glicerinada (1:1) ou meio próprio, dependendo da especificação do método, analisadas e microfotografadas em microscópio Olympus modelo BX 60 com câmera digital Canon A630 acoplada. As escalas referentes às ilustrações foram obtidas utilizando-se lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudo de diferentes substratos

Estacas de ramos plag (Tabela 1) e orto (Tabela 2) responderam de forma diferenciada aos diferentes tipos de substratos e posições de coleta no ramo.

Para estacas de ramos plag, foi observada interação significativa entre substratos e posições de coletada, para todas as variáveis analisadas (Tabela 1).

Pelo desdobramento da interação, observa-se que o enraizamento dos diferentes tipos de estacas diferiu em relação aos substratos utilizados. Esse

comportamento também foi verificado por Lima et al. (2007), inferindo-se que os mesmos fatores não são independentes.

TABELA 1 Desdobramento da interação entre substrato (Sub.) e posição de coleta da estaca nos ramos plagiotrópicos (posição), avaliando-se a porcentagem de sobrevivência (Sobr.), retenção foliar (RF), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), número de brotações (NB), número de folhas das brotações (NFB) e comprimento da maior brotação (CB).

Sub.	Posição	Sobr.	RF	NR	CR	NB	NFB	CB
Areia	apical	80	1	14	17,37	1	1	0,59
		abA	aA	aA	aA	aA	aB	aA
	mediana	90	1	14	19,46	1	0	0,33
		aA	aA	aA	aA	aA	aB	aB
	basal	60	0,75	7	10,03	1	1	0,64
		bA	aA	bA	aA	aA	aA	aA
Casca	apical	10	0	2	1,78	0	0	0,25
		bB	aB	bB	bB	bB	bB	aA
	mediana	45	1	16	16,43	1	1	1,10
		aB	bA	aA	aA	aA	aAB	aB
	basal	50	0,5	7	10,52	0	0	0,17
		aA	abAB	bA	abA	abAB	bA	aA
Verm	apical	25	0,25	10	10,56	1	2	1,04
		abB	aB	aAB	aAB	aA	aA	bA
	mediana	30	0,25	10	13,29	1	2	2,50
		aB	aB	aA	aA	aA	aA	aA
	basal	0	0	0	0,00	0	0	0,00
		bB	aB	bA	bB	bB	bA	bA

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúscula referem-se ao desdobramento da interação, comparando-se as posições de coleta da estaca em cada substrato, ao passo que maiúsculas comparam os substratos em estacas retiradas das diferentes porções do ramo.

Observando-se o efeito do substrato em cada tipo de estaca foi possível verificar que, na areia, ocorreu a maior taxa de sobrevivência em estacas retiradas da porção mediana e a menor em estacas basais; contudo, ambas não diferiram das estacas apicais. Estacas mediana e apical apresentaram maior número de raízes, quando comparadas com as estacas basais. No que diz respeito

à retenção foliar, comprimento das raízes, número de brotações, número de folhas e comprimento do broto, os resultados não diferiram entre si nesse substrato.

No substrato casca de arroz carbonizada, as maiores taxas de sobrevivência e número de folhas das brotações foram observadas em estacas retiradas das porções mediana e basal do ramo, seguida pela apical. A retenção foliar, o comprimento da maior raiz e o número de brotações foram superiores nas estacas medianas e inferiores nas estacas apicais; contudo, ambas não diferiram das estacas basais. Com relação ao número de raízes nas estacas medianas, praticamente dobrou em relação às estacas apicais e basais, que não diferiram entre si. O comprimento da maior brotação não diferiu entre si.

Na vermiculita, o desempenho de estacas retiradas da porção apical e mediana foram superiores e não diferiu entre si, quanto à taxa de sobrevivência, número de raízes, comprimento da maior raiz, número de brotações e número de folhas das brotações. A retenção foliar não diferiu entre si. Entretanto, o comprimento do broto nas estacas medianas foi praticamente o dobro em relação às estacas apicais e basais, que não se diferiram.

Assim, em uma análise ampla, pôde ser verificado que estacas medianas apresentaram melhor desempenho em relação às demais e que o substrato areia favoreceu o enraizamento. Nota-se que na casca de arroz carbonizada o desempenho das estacas apicais em relação às demais estacas foi pior e de forma expressiva, além do que, nesse substrato, nenhuma das estacas basais sobreviveram (Tabela 1).

Ao contrário do observado neste estudo para *P. aduncum*, o enraizamento das estacas de *P. mikianum* var. *mikianum* foi favorecido pelo plantio na vermiculita, permitindo maior número de folhas, raízes e brotações, em relação ao substrato areia (Pescador et al., 2007).

Tanto a areia quanto a vermiculita são substratos isentos de nutrientes; contudo, apresentam características bem distintas, sobretudo quanto à capacidade de retenção de água e ao peso, provavelmente devido a areia, em especial, apresentar maior densidade e menores valores de porosidade, espaço de ar e capacidade de retenção hídrica, quando comparado com a vermiculita (Stumpf et al., 1999; Lima et al., 2007). O melhor desempenho na rizogênese apresentado pelas estacas no substrato areia devem-se às características físicas e estruturais apresentadas por esse substrato, em detrimento dos outros utilizados no presente estudo. A baixa performance da rizogênese nas estacas plantadas em casca de arroz carbonizada e em vermiculita pode ter sido atribuído ao fato de o primeiro substrato possuir menor densidade que areia; contudo, maior que o segundo. Segundo Stumpf *et al.* (1999); Lima et al. (2007), substratos com menores densidades possuem maior porosidade, espaço de aeração e água facilmente disponível, o que pode aumentar os níveis de oxigênio e favorecer os processos oxidativos na base das estacas e, conseqüentemente, reduzir o enraizamento.

Outro fator relevante entre os substratos que pode influenciar no enraizamento das estacas é o pH. Segundo Stumpf et al. (1999), o pH da casca de arroz carbonizada é mais alcalino (9,1) que a vermiculita (7,9) e a areia (6,6).

Segundo Hartmann et al. (2002), o substrato adequado para o enraizamento depende da espécie, do tipo de estaca, da época, do sistema de propagação, do custo e da disponibilidade de seus componentes.

Para *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae), Lima et al. (2007) observaram resultados semelhantes ao observado neste estudo. Eles verificaram que o melhor enraizamento ocorreu em estacas da posição mediana do ramo plantadas na areia, quando comparado à vermiculita.

Estacas retiradas das diferentes porções da planta geralmente possuem características fisiológicas e anatômicas distintas, que podem induzir respostas distintas quanto aos fatores que afetam a rizogênese.

Estacas apicais geralmente apresentam tecidos com menor lignificação, portanto, são mais tenras, o que pode favorecer a perda excessiva de água pela transpiração e acarretar a morte das estacas (Lima et al., 2007). Ainda, a quantidade de reserva de nutrientes orgânicos e inorgânicos em estacas apicais pode ser menor, contribuindo, assim, para o insucesso da estaquia (Nicoloso et al., 1999). No presente estudo, parece que esses fatores não afetaram a rizogênese, tendo em vista que, na areia, o enraizamento não diferiu entre as estacas apicais e medianas.

Estacas basais podem apresentar tecidos mais lignificados, constituindo uma barreira anatômica à rizogênese. Outro fato que pode ter influenciado, pode ser a baixa concentração de auxinas endógenas, o que implica redução do número de primórdios inicializados, tendo em vista a distância do sitio de produção na planta. Possivelmente, alguns desses fatores estejam envolvidos na rizogênese de *P. aduncum*, pois o número de raízes emitidas por estaca foi praticamente o dobro nas estacas medianas, em relação às basais. Resultados semelhantes foram encontrados por Garbuio et al. (2007) em estacas de *Pogostemon cablin* (Lamiaceae), cujo enraizamento foi decrescente das estacas apicais para as basais.

Em relação às estacas retiradas de ramos orto, não foi observada interação entre os fatores estudados (substratos e tipos de estacas), para as variáveis analisadas.

Quanto ao substrato utilizado no enraizamento, verifica-se que todas as estacas plantadas na vermiculita não sobreviveram (Tabela 2), ao passo que, na areia e em casca de arroz carbonizada, os resultados não diferiram entre si para nenhuma variável analisada.

TABELA 2 Estaquia de ramos ortotrópicos em função do tipo de substrato (Sub.) e posição de coleta da estaca nos ramos (posição), avaliando-se a porcentagem de sobrevivência (Sobr.), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), número de brotações (NB), número de folhas das brotações (NFB) e comprimento da maior brotação (CB).

Tratamentos		Sobr.	NR	CR	NB	NFB	CB
Tipo de substrato	areia	48 a	7,23 a	8 a	1 a	2 a	1,76 a
	casca	28 a	3,82 a	6 a	1 a	2 a	1,67 a
	verm	0 b	0,00 b	0 b	0 b	0 b	0,00 b
Posição	apical	27 a	4,62 a	8 a	1 a	2 a	1,76 a
	mediana	28 a	4,79 a	5 ab	1 a	2 ab	1 ab
	basal	22 a	1,63 a	2 b	0 b	1 b	1 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, considerando os três tipos de estacas e os três substratos.

Os ramos orto responderam, no geral, de forma semelhante ao que foi observado para os ramos plag, ou seja, melhor desempenho na areia e pior na vermiculita, demonstrando ser esse substrato o mais recomendado para *P. aduncum*, nas condições em que esses experimentos foram conduzidos.

Para o tipo de estaca, não foi observada diferença significativa quanto a taxa de sobrevivência, comprimento da maior raiz e número de brotações. O número de raízes, número de folhas e comprimento das brotações foram superiores nas estacas apicais e inferiores nas basais; contudo, não diferiram das estacas medianas. Vale ressaltar que em estacas basais, o número e o comprimento de raízes foi no mínimo 2,5 vezes menor que as demais estacas, sendo notória a inibição ao enraizamento. Possivelmente, como ocorre com os ramos plag, existem barreiras anatômicas a rizogênese a medida que se aproxima da base dos ramos orto.

De forma geral, os ramos orto tiveram pior desempenho em relação aos ramos plag. Possivelmente, além das barreiras anatômicas à rizogênese, a

ausência de folhas nas estacas orto tenha sido um dos fatores que podem ter contribuído para essa redução.

A presença de folhas é um dos fatores que exerce grande estímulo à iniciação de raízes. Esse efeito está relacionado à translocação de carboidratos para a base da estaca (Ahkami et al., 2009), além de serem fontes de auxinas endógenas (Garrido et al., 2002) e de outros co-fatores importantes para o enraizamento (Hartmann et al., 2002).

Cerca de cinco dias após o plantio, inicia-se em algumas estacas um processo de abscisão na região do nó (Figura 1 A). Posteriormente, essas estacas desenvolvem-se normalmente (Figura 1 C). O sistema radicular adventício formado na estaca é como um pivotante, no qual uma raiz desenvolve-se mais que as demais, tornando-se a principal (Figura 1 D). No entanto, algumas raízes formadas possuem crescimento plagiotrópico (Figura 1 D), inclusive emergindo do substrato e penetrando em outra célula (Figura 1 B). Esse tipo de crescimento foi observado em raízes adventícias de plantas adultas de outras espécies do gênero *Piper*, desenvolvendo-se em ambiente natural, como *Piper Amalago* Var. *medium* L. (Rosa & Souza, 2004) e *Piper hispidum* Sw. (Albiero et al., 2006).

O aspecto visual das estacas enraizadas foi semelhante em todos os substratos utilizados, variando somente em função do tipo de ramo (plag ou orto) e da porção coletada (apical, mediana e basal).

Estacas apicais e medianas de ramos plag apresentaram o mesmo aspecto após o enraizamento (Figura 1 D e 1 E); contudo, diferiram das estacas basais, que possuíram raízes muito mais finas e escassas (Figura 1 F), demonstrando claro impedimento à rizogênese.

Todas as estacas de ramos orto apresentaram raízes escassas e finas (Figura 1 G-I), em comparação aos ramos plag, indicando haver algum impedimento a rizogênese.

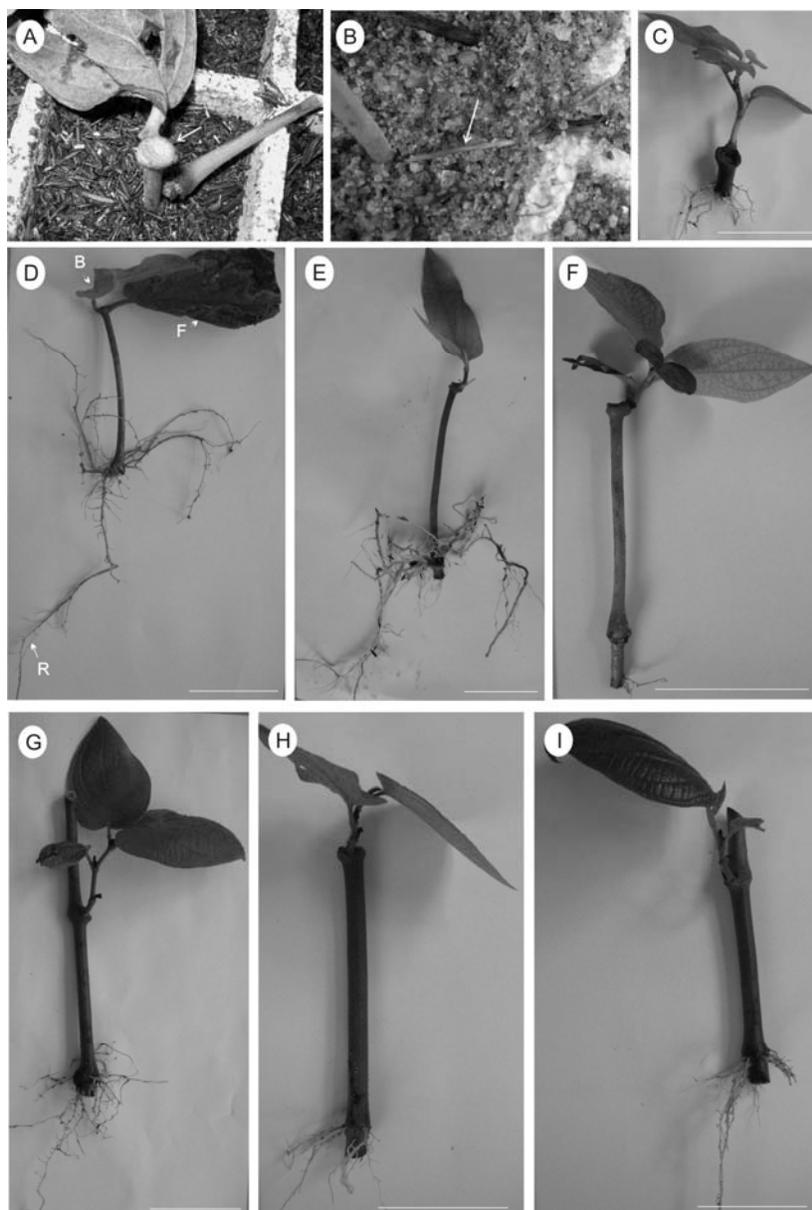


FIGURA 1 Fotografia caracterizando o enraizamento adventício de estacas de *Piper aduncum* em função da posição de coleta das estacas nos ramos plag (A a F) e orto (G a I). **A-** Detalhe da estaca na bandeja, aos 5 dias após plantio, evidenciando a abscisão na região do nó (seta); **B-** Detalhe da estaca na bandeja, aos 60 dias após plantio, evidenciando raízes adventícias emergindo na superfície do substrato

(seta); **C**- Detalhe da estaca que sofreu abscisão; **D**-Estaca apical de ramos plag; **E**-Estaca mediana de ramos plag; **F**-Estaca basal de ramos plag; **G**-Estaca apical de ramos orto; **H**-Estaca mediana de ramos orto; **I**-Estaca basal de ramos orto. Escala: barra equivale a 5 cm.

3.2 Caracterização anatômica

Analisando as secções transversais da base das diferentes estacas utilizadas para o enraizamento neste estudo, pode-se observar características anatômicas distintas, principalmente entre estacas de ramos plag e orto. Todas as estacas já apresentavam crescimento secundário, com estágio crescente de desenvolvimento a partir da porção apical dos ramos plag a basal dos ramos orto (Figura 2).

As estacas plag apical possuem epiderme uniestratificada e densamente pilosa, constituída principalmente de tricomas tectores pluricelulares, com esparsos tricomas tectores unicelulares e, ainda, tricomas glandulares saculiformes mais raros (Figura 2 A). A pilosidade decresce com a evolução da estrutura secundária, sendo praticamente nula nos ramos orto da porção mediana e basal (Figura 2 E e 2 F).

Nas estacas plag (Figura 2 A a C), o parênquima cortical é reduzido, clorofilado, contém faixas descontínuas de colênquima angular associado aos feixes vasculares, com espessamento composto por lignina, voltado para o floema. Idioblastos cristalíferos, do tipo acicular, estão presentes, embora raro; no entanto, são abundantes os idioblastos oleíferos, estando distribuídos em toda a região cortical. Esses idioblastos apresentam reação positiva para lactonas sesquiterpênicas e ortodihidroxifenóis. Contém também inúmeros grãos de amido, compostos terpênicos com grupo carbonilo e proteínas totais. A endoderme localiza-se logo abaixo do colênquima e forma uma faixa contínua constituída de uma camada de células, com composição amilífera.

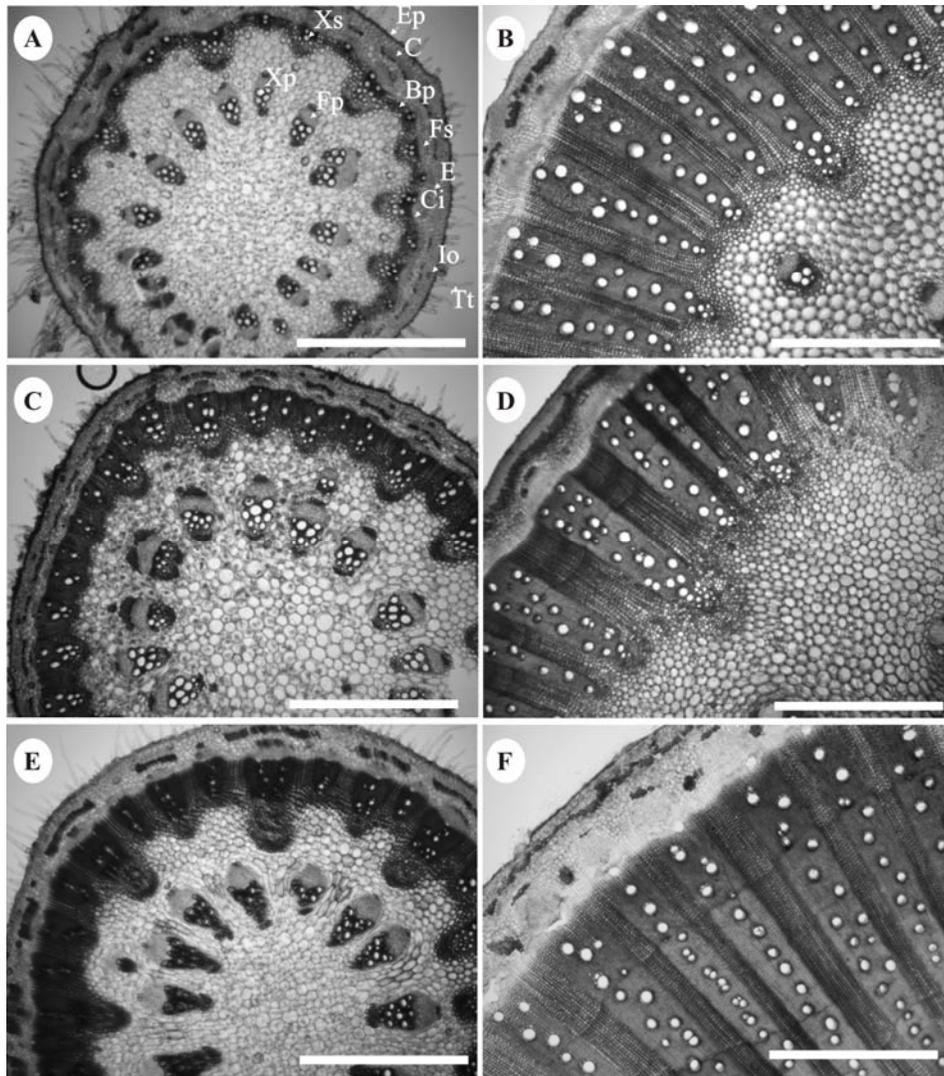


FIGURA 2 Secções transversais de estacas de *Piper aduncum* coletadas de ramos plagiotrópicos (A, C e E) e de ramos orto (B, D e F), sendo A e B- estacas apicais; C e D- estacas medianas; E e F- estacas basais. Escala: barra equivale a 1 mm. Legenda: Ep-epiderme; C- colênquima; Xs-xilema secundário; Fs-floema secundário; Bp- bainha perivascular; E-endoderme; Ci-câmbio interfascicular; Io- idioblasto oleífero; Tt-tricoma tector; Xp-xilema primário; Fp- floema primário.

O tecido vascular é do tipo colateral aberto e está organizado em dois círculos concêntricos. O círculo externo é delimitado externamente pela endoderme e internamente pela bainha perimedular, esclerificada em todas as estacas plag. Os feixes vasculares internos estão imersos no parênquima medular, formando um círculo definido.

No parênquima medular, pode ser observada uma grande quantidade de cristais aciculares e prismáticos raros, bem como grãos de amido, idioblastos oleíferos, compostos terpênicos com grupo carbonilo e proteínas totais.

As estacas plag diferenciam-se pouco entre si, exceto pelo avançar do crescimento secundário. Contudo, o número de raízes adventícias em estacas basais foi cerca da metade do número das estacas apicais e medianas (Tabela 1). Não foram observados impedimentos anatômicos à saída das raízes adventícias, haja vista que há formação do anel contínuo de tecidos lignificados. Não havendo impedimentos anatômicos, provavelmente a diferença na rizogênese se deva à baixa concentração de auxinas endógena, tendo em vista a distância do sítio de produção na planta.

Por outro lado, as estacas plag e orto diferenciaram-se bastante. Possuem maior número de xilema, principalmente o secundário, o câmbio e o córtex são bastante reduzidos, existe maior lignificação na região do colênquima, praticamente não existem idioblastos oleíferos no parênquima cortical, que possivelmente influenciaram na rizogênese. Contudo, existe maior depósito de amido nas estacas orto, principalmente nas basais, fato que provavelmente ajudou a compensar a falta de folhas nos estádios iniciais da rizogênese.

No que diz respeito às estacas orto, pouco diferem entre si (Figura 2 D a F). A epiderme possui raros tricomas e periderme delgada associada somente a lenticelas esparsas. O córtex contém menor quantidade de idioblastos oleíferos, o cambio vascular é mais reduzido que nas estacas plag e as células mais internas do colênquima sofrem lignificação.

Em estacas orto, o anel de tecidos lignificados também não é contínuo; contudo, está presente em um maior número de células, provavelmente causando algum efeito na rizogênese.

Em estudo da anatomia de estacas de caramboleira, Bastos (2006) observou que estacas herbáceas e semilenhosas apresentam fibras do floema primário com células com paredes mais espessas, situadas logo abaixo do parênquima cortical. Essa bainha contínua de fibras pode dificultar a passagem de primórdios radiculares, dificultando a formação de raízes adventícias.

Avaliando-se a capacidade de enraizamento de estacas em quatro cultivares de *Vitis*, apenas em *V. rotundifolia* Michx. cv. *topsail* foi observada dificuldade de enraizamento, diferindo das demais, por manter as calotas de fibras no floema primário, pela presença de floema secundário reduzido com faixas radiais de fibras e xilema também menos desenvolvido, com raios mais estreitos e elementos de vaso de menor diâmetro. Desse modo, a dificuldade de enraizamento dessa cultivar pode estar relacionada a barreiras anatômicas (Mayer *et al*, 2006).

Segundo Husen & Pal (2006), o aumento do número de elementos de vaso tem relação inversa com a rizogênese em estacas, fato que pode ter contribuído para a redução do enraizamento em estacas orto em relação às plag, especialmente no presente estudo com *P. aduncum*.

Por outro lado, a redução na quantidade de idioblastos oleíferos pode ter acarretado diminuição na quantidade de ortodihidroxifenol, como o ácido cafêico, catecol e ácido clorogênico, que segundo Hartmann *et al.* (2002), são co-fatores que favorecem a rizogênese em estacas, uma vez que interagem com as auxinas induzindo a iniciação das raízes adventícias.

4 CONCLUSÕES

Estacas retiradas das porções apicais ou medianas de ramos plagiotrópicos, plantadas em areia, possuem melhor capacidade de enraizamento, devendo ser utilizadas para o sucesso da rizogênese.

Estacas plag são densamente pilosas, com inúmeros tricomas tectores uni e pluricelulares e raros tricomas glandular saculiforme; já nos ramos orto são raros os tricomas.

Estacas plag contêm inúmeros idioblastos oleíferos nos parênquimas cortical e medular, com reação positiva para lactonas sesquiterpênicas, ortodihidroxifenóis e lipídeos insaturados. Em estacas orto, são raros os idioblastos oleíferos.

No parênquima cortical e medular, existem inúmeros grãos de amido, compostos terpênicos com grupo carbonilo, proteínas totais e lipídeos totais, em maior quantidade em estacas orto.

A lignina encontra-se presente somente na bainha perivascular e associada às fibras do floema secundário, sendo mais continua somente em estacas orto.

As estacas plag diferem pouco entre si; possivelmente, a redução nos primórdios radiculares inicializados seja devida a menor concentração de auxina endógena.

Nas estacas ortobasais, o maior número de elementos de vaso pode ter sido determinante na queda da rizogênese.

Ausência de folhas, aumento nas camadas de esclerênquima, redução nos idioblastos oleíferos e maior número de elementos de vaso em ramos orto podem ser os fatores responsáveis pela redução no potencial de enraizamento em relação às estacas plag.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHKAMI, A.H.; LISCHEWSKI, S.; HAENSCH, K. T.; PORFIROVA, S.; HOFMANN, J.; ROLLETSCHKEK, H.; MELZER, M.; FRANKEN, P.; HAUSE, B.; DRUEGE, U.; HAJIREZAEI, M.R. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, Cambridge, v.181, n.3, p.613-625, 2009.

ALBIERO, A.L.M.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A.; MOURÃO, K.S.M. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper hispidum* Sw. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.16, n.3, p.379-391, jul./set. 2006.

ALVARENGA, A.P.; BOTELHO, S.A.; PEREIRA, I.M. Avaliação da regeneração natural na recomposição de matas ciliares em nascentes na região Sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v.12, n.4, p.360-372, dez. 2006.

ASCENSÃO, L. **Métodos histoquímicos em vegetais**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 22p. Apostila.

BARRESE, C. **Fenologia de plantas do gênero *Piper* (Linnaeus, 1737) (Piperales: Piperaceae): implicações em quiropterocoria**. 2005. 40p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p.555-557, set./out. 2004.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.113-120, jan./fev. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S. de; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.3, p.485-489, maio/jun. 2005.

FERREIRA, D.F. **SISVAR**: sistema de análises estatísticas. versão 4.3. Lavras: UFLA, 1999.

FIDALGO, L.M.; RAMOS, I.S.; ALVAREZ, A.M.M.; LORENTE, N.G.; LIZAMA, R.S.; PAYROL, J.A. Propiedades antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v.56, n.3, p.230-233, 2004.

GARBUIO, C.; BIASI, L.A.; KOWALSKI, A.P. de J.; SIGNOR, D.; MACHADO, E.M.; DESCHAMPS, C. Propagação por estaquia em patchouli com diferentes números de folhas e tipos de estacas. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.4, p.435-438, 2007.

GARRIDO, G.; GUERRERO, J.R.; CANO, E.A.; ACOSTAA, M.; SÁNCHEZ-BRAVO, J. Origin and basipetal transport of the IAA responsible for rooting of carnation cuttings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.114, n.2, p.303-312, 2002.

GUERRINI, A.; SACCHETTI, G.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADO, M.E.; BRUNI, R. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v.27, n.1, p.39-48, Jan. 2009.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7.ed. New York: Englewood Clipp, 2002. 880p.

HUSEN, A.; MOHINDER, P. Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). **New Forests**, Dordrecht, v.31, n.1, p.57-73, Jan. 2006.

LEME, R.L.; COUTO, L.B.; LEAL FILHO, N.; GRIBEL, R. Propagação por estaquia de duas espécies de piperáceas, *Piper aduncum* L. e *Piper arboreum* Aublet., estratégicas para a recuperação de áreas degradadas na Amazônia central. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 5., 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SOBRADE, 2002. p.365-367.

LIMA, Y. de O.U.; RITTER, M.; ALCÂNTARA, G.B. de; LIMA, D.M. de; FOGAÇA, L.A.; QUOIRIN, M.; CUQUEL, F.L.; BIASI, L.A. Tipos de estacas e substratos no enraizamento de jambolão. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.4, p.449-453, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MAYER, J.L.S.; BIASI, L.A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.20, n.3, p.563-568, 2006.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A. de A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V. da S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, May/June 2006.

NICOLOSO, F.T.; FORTUNATO, R.P.; FOGAÇA, M.A.F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.277-283, abr. 1999.

PEIXE, A.; SERRAS, M.; CAMPOS, C.; ZAVATTIERI, M.A.; DIAS, M.A.S. Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.30, n.1, p.476-482, jan. 2007.

PEREIRA, A.C.R.L.; OLIVEIRA, J.V. de; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; CÂMARA, C.A.G. da. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.717-724, maio/jun. 2008.

PESCADOR, R.; VOLTONI, A.C.; GIRARDI, C.G.; ROSA, F.A.F. da. Estaquia de pariparoba-do-rio grande do sul sob efeito do ácido indol-butírico em dois substratos. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.4, p.391-398, 2007.

ROSA, S.M. da; SOUZA, L.A. de. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *medium* Linnaeus (Piperaceae). **Acta Científica Venezuelana**, Caracas, v.55, n.1, p.27-34, jan. 2004.

SOUSA, P.J.C.; BARROS, C.A.L.; ROCHA, J.C.S.; LIRA, D.S.; MONTEIRO, G.M.; MAIA, J.G.S. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.2, p.217-221, abr./jun. 2008.

STUMPF, E.R.T.; GROLLI, P.R.; SILVA, J.A.G. da. Enraizamento de estacas de *Chamaecyparis lawsoniana* Parl. em cinco substratos com uso de ácido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.207-211, maio/jun. 1999.

CAPÍTULO 5

**DESENVOLVIMENTO INICIAL E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL
DE *Piper aduncum* L. (PIPERACEAE), SOB DIFERENTES CONDIÇÕES
DE SOMBREAMENTO**

RESUMO

Piper aduncum L., conhecido como pimenta-de-macaco, é um arbusto com potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas, como inseticida e fungicida na agricultura e medicina. A luz influencia demasiadamente no crescimento e desenvolvimento das plantas, estimulando ou limitando o processo fotossintético, ou como um sinal do ambiente que regula processos vitais, sendo a resposta variável em função das espécies. Buscou-se avaliar o crescimento, desenvolvimento e produção de óleo essencial de plantas de *P. aduncum*, em função de diferentes níveis de sombreamento. As mudas foram mantidas nas condições de pleno sol, 50% e 70% de sombreamento por cinco meses. Foram realizadas avaliações mensais, quanto ao comprimento do maior ramo, número de folhas, de ramificações e de inflorescências, e uma avaliação final, constituída de análise de crescimento (comprimentos dos maiores ramos e raízes; diâmetro da maior ramificação; biomassa seca dos ramos, sistema radicular e folhas; número de ramos, brotações, folhas e inflorescências; área foliar), teores de pigmentos e de óleo essencial. Sendo assim, pode ser verificado que *P. aduncum* apresenta plasticidade frente aos sombreamentos testados, podendo ser avaliada em diferentes fases de sucessão em programas de reflorestamento mistos. Contudo, o desenvolvimento dessa espécie é favorecido sob 50% sombreamento, sendo recomendado para formação da muda. Para a produção de óleo essencial, o aumento no sombreamento proporcionou maiores teores.

ABSTRACT

Piper aduncum L. (Piperaceae), known as “pimento de macaco”, is a shrub with a utilization potential in recovery of degraded areas, and also used as insecticide and fungicide in agriculture and also has medicinal function. The light influences great in growth and plant development, stimulates or limiting the photosynthetic process, or as a signal for the environment that regulates vital process, being be response variable in function of species. This research ailment to evaluate the growth, development and essential oil production of *P. aduncum* plants, based in different levels of shading. The seedlings were rept in conditions of full sunlight, 50% and 70% of shading during months. There were realized monthly evaluations measuring the length of higher shoot, leaf number, ramification and inflorescence and the final evaluation was composed by growth analysis (length of high shoots, root system and leaves, number of shoots, sprouting leaves and inflorescence and leaf area), pigment and essential oil levels. There was verified that *P. aduncum* showed plasticity in relation to shading levels tested, and cam be evaluated in different phases of reforest mired programs. The development of this specie in favored by 50% of shading, being recommended by seedling formation. For essential oil production, the increase in shading caused the highest levels of these compounds.

1 INTRODUÇÃO

Piper aduncum L., conhecido como pimenta-de-macaco, é um arbusto nativo da América Tropical e amplamente distribuído em quase todo o território brasileiro. É uma espécie umbrófila, encontrada em várias formações florestais, preferencialmente em solos com elevado teor de matéria orgânica e umidade (Lorenzi & Matos, 2002). Apresenta potencial de utilização na recomposição de áreas degradadas (Alvarenga et al., 2006) e produz óleo essencial de uso promissor tanto na agricultura e como na medicina, devido à baixa toxicidade a mamíferos (Sousa et al., 2008), a ação inseticida (Fidalgo et al., 2004; Fazolin et al., 2005; Fazolin et al., 2007; Pereira et al., 2008) e fungicida (Bastos & Albuquerque, 2004; Navickiene et al., 2006; Guerrini et al., 2009).

As respostas das plantas aos fatores do ambiente têm sido um paradigma para este novo milênio (Wickinson, 1994). De acordo com Caldwell & Pearcy (1994), essas respostas podem ser avaliadas por meio de estudos ecofisiológicos, os quais permitem compreender os mecanismos utilizados pelas plantas para sobreviver e reproduzirem-se em habitat natural.

Entre os diversos fatores do ambiente físico, a radiação solar destaca-se por influenciar em uma gama de processos celulares vitais que regulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas (Kurepin et al., 2006; Marchese et al., 2008). A luz influencia de forma decisiva o crescimento e desenvolvimento das plantas, seja quando elas a utilizam como uma fonte de energia, que estimula ou limita o processo fotossintético, seja como um sinal do ambiente que regula processos vitais durante o desenvolvimento do vegetal, como a fotomorfogênese (Taiz & Zeiger, 2004).

A resposta das plantas à intensidade luminosa também apresenta função ecológica, podendo-se, com base em suas exigências, escolher e combinar plantas aptas para reflorestamentos de áreas degradadas (Almeida et al., 2005).

Contudo, algumas plantas apresentam condições fisioestruturais no que diz respeito à plasticidade de desenvolvimento para se adaptarem a uma amplitude de regimes de luz, crescendo como plantas de sol em áreas ensolaradas e como plantas de sombra em habitats sombreados (Taiz & Zeiger, 2004).

Assim como todos os fatores que influenciam no crescimento e desenvolvimento de uma planta, a resposta à intensidade de luz também depende do genótipo. Todavia, para as espécies do gênero *Piper*, são raros os trabalhos sobre a influência desse fator no desenvolvimento inicial. Santiago et al. (2001) avaliaram a anatomia foliar de plantas de *Piper hispidinervium* C. (DC.), desenvolvidas sob casa-de-vegetação, pleno sol e sub-bosque e comprovaram plasticidade em função dos ambientes luminosos.

Para diversas espécies, o sombreamento inicial é favorável à formação de muda, uma vez que, em resposta à luz, as plantas podem aumentar à altura, biomassa seca, a relação raiz/parte aérea e o diâmetro do coleto (Alvarenga et al., 2003; Lima Junior et al., 2005), características essas favoráveis para posterior transplântio e sobrevivência no campo.

No que diz respeito à síntese e à composição dos óleos essenciais, embora seja determinada geneticamente e, geralmente específica para um determinado órgão e estágio de desenvolvimento, as condições ambientais são capazes de causar variações significativas (Simões & Spitzer, 2007). Contudo, não existe um padrão, uma vez que cada espécie responde de forma diferenciada.

Diante do exposto e tendo em vista a escassez de informações encontradas na literatura, buscou-se no presente estudo avaliar o crescimento, desenvolvimento e produção de óleo essencial por plantas de *P. aduncum*, em função de diferentes níveis de sombreamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no viveiro de Plantas Medicinais, do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Lavras. O município está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918 m de altitude, latitude 21°14' S e longitude 45°00' W GRW. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e uma quente e úmida, de outubro a março.

As sementes foram colhidas de plantas matrizes selecionadas, localizadas no campus da UFLA, germinadas sobre papel mata-borrão em caixas gerbox, sob condições de câmara do tipo BOD durante 20 dias, com 25 °C de temperatura, 68% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, as plântulas foram plantadas em bandeja de isopor com 72 células, contendo o substrato Plantmax[®]. Durante 50 dias, as plantas desenvolveram-se em sala de crescimento sob temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, sob luz branca fluorescente, com 78,5 μmol.m⁻².s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA), medida com quantômetro LI 1600M, sendo irrigadas diariamente. Após aclimação das plantas por uma semana sobre 50% de sombreamento, realizou-se o transplântio para tubos de PVC com dimensões de 15 x 30 cm, contendo substrato à base de terra de subsolo, esterco bovino e areia, na proporção de 2:1:1.

Após o transplântio, as mudas foram mantidas a pleno sol, sob 50% e 70% de sombreamento durante cinco meses, com irrigação diária. Para o sombreamento de 50%, foram utilizadas malhas termorefletoras ChromatiNet cinza e, para 70%, malhas pretas, sendo o ambiente caracterizado de acordo com características apresentadas na Tabela 1, com o uso do analisador portátil de CO₂ infravermelho (IRGA), modelo ADC-LCA-4 (Hoddesdon, UK).

TABELA 1 Valores médios de umidade relativa (UR), temperatura foliar (T) densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (RFA) e déficit de pressão de vapor (DPV), em plantas de *Piper aduncum* submetidas a diferentes níveis de sombreamento.

Somb. (%)	UR (%)	T (°C)	RFA ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	DPV (kPa)
0	59	36	1533	2,45
50	67	34	718	1,79
70	63	35	530	2,16

Foram realizadas avaliações mensais, iniciadas um mês após o transplântio, e uma avaliação final, aos 5 meses.

As avaliações mensais foram realizadas em 20 plantas por tratamento e constaram de medições do comprimento do maior ramo (com régua, do colo até a gema apical), número de folhas, de ramificações e de inflorescências.

A avaliação final foi constituída de análise de crescimento (comprimentos dos maiores ramos e raízes; diâmetro da maior ramificação; biomassa seca dos ramos, sistema radicular e folhas; número de ramos, brotações, folhas e inflorescências; área foliar), teores de pigmentos e de óleo essencial. Para as medidas de crescimento, foram tomadas oito plantas, e quatro repetições de cinco plantas para as determinações de óleo essencial.

As medidas de diâmetro do colo foram realizadas por meio de paquímetro e a área foliar (AF) (cm^2), determinada por um integrador de área foliar MODEL LI-3100. A biomassa seca (g) foi determinada utilizando-se plantas particionadas, secas em estufa de circulação forçada de ar a $70 \pm 2^\circ\text{C}$, por 72 horas e pesadas em balança analítica com precisão de 10^{-4}g .

O teor de clorofila foi determinado conforme Arnon (1949), e a extração e a quantificação dos teores de carotenóides, realizadas segundo a metodologia

descrita por Duke & Kenyon (1986), e os coeficientes de absorvidade molar, de acordo com Sandmann & Borger (1983).

O óleo essencial foi extraído por arraste a vapor durante 1 hora, utilizando-se aparelho de Clevenger modificado, de plantas coletadas entre 7 e 9 horas da manhã, separando-se parte aérea de ramos. Após a extração, o óleo essencial foi quantificado e acondicionado em frascos hermeticamente fechados contendo tampa de borracha, coberto com papel laminado, evitando-se a exposição à luz, e mantido sob refrigeração (8°C). Foram determinados os teores do óleo essencial com base na matéria seca de folhas, ramos e parte aérea total.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo as avaliações mensais analisadas em esquema fatorial 5x3, sendo respectivamente, cinco meses após tranplântio e três intensidades de radiação.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância sendo as médias das avaliações mensais analisadas por regressão polinomial e as médias da avaliação final, por Tukey, ambas em nível de 0,05 de probabilidade, com uso do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Interação significativa foi observada entre meses após tranplântio e intensidade de radiação, para comprimento do maior ramo e número de folhas. Para a característica número de ramificações, foi significativo apenas para meses após tranplântio, enquanto para número de inflorescências, não houve diferenças entre os sombreamentos, sendo observada apenas uma inflorescência em uma repetição em cada tratamento.

O crescimento do caule teve resposta linear, independentemente dos níveis de sombreamentos avaliados (Figura 1).

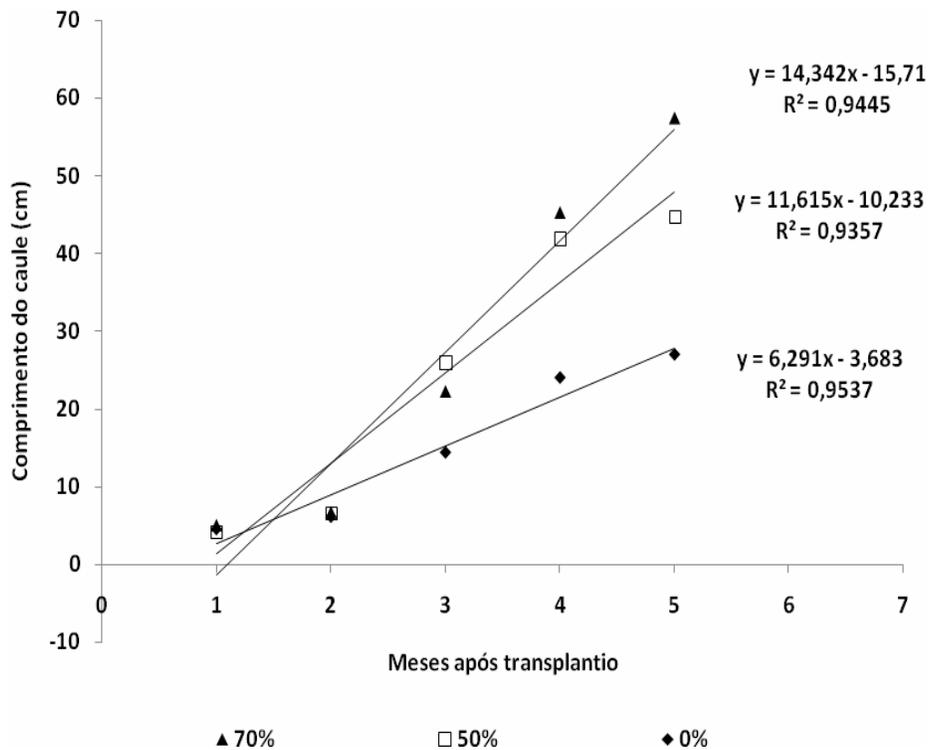


FIGURA 1 Valores médios mensais de comprimento do maior ramo de plantas de *Piper aduncum*, submetidas a diferentes níveis de sombreamento (pleno sol ou 0%, 50% e 70%) ao longo de cinco meses.

As diferenças entre os níveis de sombreamentos, quanto ao comprimento do maior ramo, somente foram observadas a partir de três meses após o transplante, com valores superiores a 50% e 70% de sombreamento e inferiores a pleno sol (ou 0% de sombreamento), sendo esse comportamento repetido aos quatro meses (Tabela 2). Aos cinco meses, o efeito do sombreamento foi ainda mais intenso, sendo o comprimento da maior ramificação superior em 70%, seguido de 50% e 0%.

TABELA 2 Valores médios para comprimento do maior ramo, considerando o desdobramento da interação entre níveis de sombreamento e meses após transplantio.

Somb. (%)	Meses após transplantio				
	1	2	3	4	5
0	4,50 a	6,08 a	14,37 b	24,01 b	26,99 c
50	4,15 a	6,57 a	25,91 a	41,84 a	44,59 b
70	5,00 a	6,67 a	22,24 a	45,26 a	57,41 a

Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O número de folhas também foi ajustado ao modelo linear para meses após transplantio (Figura 2).

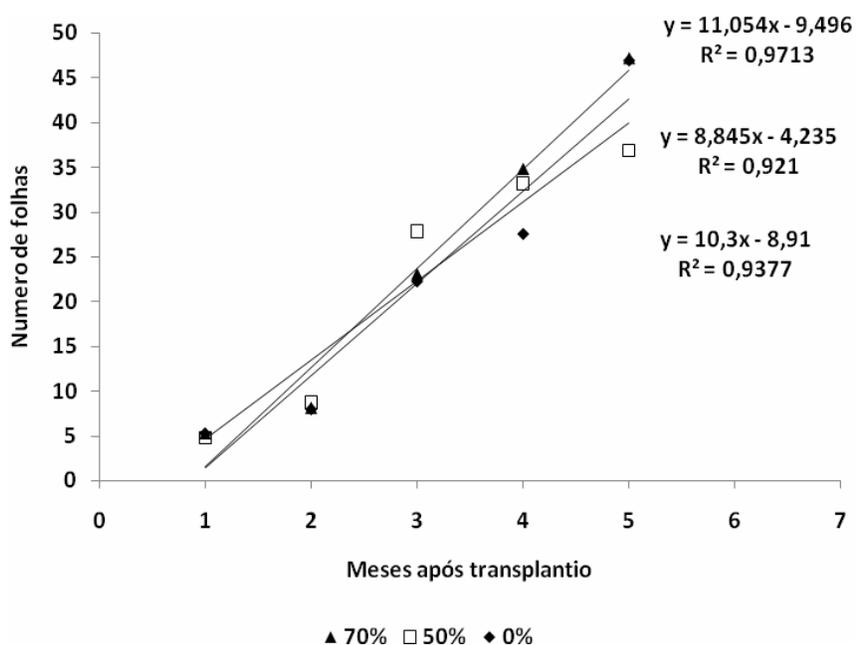


FIGURA 2 Valores médios mensais de número de folhas de plantas de *Piper aduncum* submetidas a diferentes níveis de sombreamento (pleno sol ou 0%, 50% e 70%) ao longo de cinco meses pós transplantio.

Assim como para o comprimento da maior ramificação, a diferença para número de folhas foi observada a partir dos três meses após o transplântio, com valores superiores a 50% de sombreamento e inferiores a 0%; no entanto 70% de sombreamento não diferiu de ambos (Tabela 3). Aos quatro e cinco meses após o transplântio, plantas sob 50% e 70% de sombreamento apresentaram maior número de folhas em relação a pleno sol.

TABELA 3 Valores médios para número de folhas, considerando o desdobramento da interação entre níveis de sombreamento e meses após transplântio.

Somb. (%)	Meses após transplântio				
	1	2	3	4	5
0	5 a	8 a	22 b	28 b	37 b
50	5 a	9 a	23 a	33 a	47 a
70	5 a	8 a	23 ab	34 a	47 a

Médias na coluna, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Conforme os dados contidos na Figura 2, o número de ramificações apresentou também modelo linear, independentemente dos níveis de radiação.

Pode-se verificar com as avaliações mensais (Figura 1-3) que *P. aduncum* é uma espécie de crescimento inicial extremamente rápido, com curto período juvenil, tendo em vista que o início do florescimento ocorre cerca de seis meses após a sementeira. Rogers & Hartemink (2000) também relatam essa característica em plantas dessa espécie cultivada sob condições de campo, em local onde havia uma vegetação secundária dominada por *P. aduncum*, sendo essa considerada invasora em cultivos agrícolas. Segundo Alvarenga et al. (2006), essa espécie promoveu maior regeneração natural e densidade relativa alcançada ao longo do tempo em um estudo sobre a recomposição de mata ciliar no entorno de nascentes antropizadas.

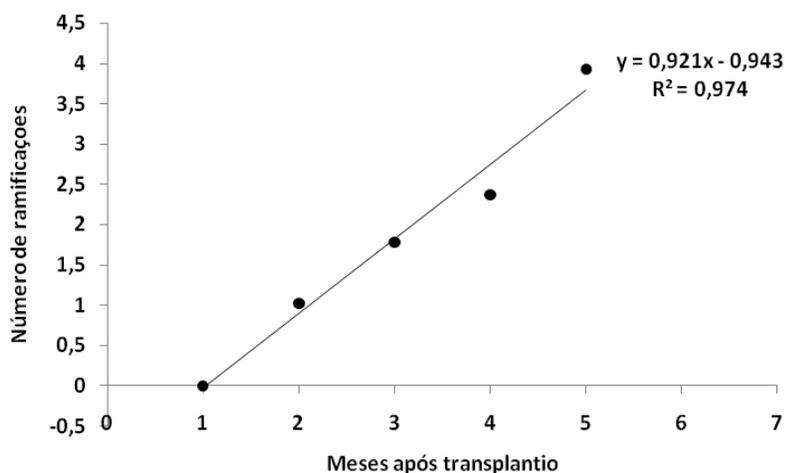


FIGURA 3 Valores médios mensais do número de ramificações de plantas de *Piper aduncum* ao longo de cinco meses após transplante.

Quanto à influência do sombreamento, foi possível verificar que o crescimento dos ramos foi favorecido com a redução da intensidade luminosa (Figura 1). Kurepin et al. (2006) observaram que o crescimento do caule sob baixa irradiância correlaciona-se com o aumento nos níveis endógenos de giberelinas (GA_{53} , GA_{19} , GA_1 , GA_8) e concluíram que o sombreamento provavelmente induz a um aumento global na biossíntese desse fitohormônio.

Na avaliação final, não foi observada diferença significativa para comprimento da maior raiz, diâmetro da maior ramificação, número de ramos, brotações, folhas e inflorescências. O comprimento dos ramos também foi maior com o aumento do sombreamento, demonstrando o efeito no alongamento dos ramos internos. A área foliar foi superior a 70% de sombreamento e inferior a pleno sol, embora em 50% não diferiu de ambos (Tabela 4).

Plantas cultivadas sob 50% e 70% de sombreamento apresentaram maior acúmulo de biomassa seca nas folhas e total, em relação às cultivadas a pleno

sol. Nos ramos, o acúmulo de biomassa ocorreu à medida que as plantas foram sombreadas, conforme o crescimento em altura.

TABELA 4 Análise de crescimento de mudas de *Piper aduncum* desenvolvidas durante cinco meses em diferentes níveis de sombreamento (Somb.), avaliando-se o comprimento da maior ramificação (CR), biomassa seca do sistema radicular (SR), ramos (R), folhas (F) e total (T) e, a relação entre SR e parte aérea (PA), bem como a área foliar (AF).

Som b. (%)	CR (cm)	Biomassa seca (g)					SR/PA	Área foliar (cm ²)
		SR	R	F	T			
0	29,09 c	9,87 b	5,55 c	9,80 b	25,22 b	1,78 ab	1820,02 b	
50	47,88 b	18,49 a	9,16 b	12,96 a	40,61 a	1,96 a	2566,23 ab	
70	59,00 a	11,90 ab	11,93 a	13,75 a	37,58 a	1,00 b	3071,68 a	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Entretanto, no sistema radicular, o acúmulo foi superior em plantas cultivadas sob 50% de sombreamento e menor naquelas a pleno sol, não diferindo ao nível de 70%. Com isso, a relação entre a biomassa seca do sistema radicular e da parte aérea foi alterada, obtendo-se o maior valor em plantas cultivadas sob 50% de sombreamento e menor naquelas a 70%, não diferindo a pleno sol.

Em diversas espécies, o sombreamento inicial é favorável à formação de muda, uma vez que, em resposta à luz, as plantas podem aumentar a altura, biomassa seca, relação raiz/parte aérea e diâmetro do coleto (Alvarenga et al., 2003; Lima Junior et al., 2005), características favoráveis para posterior transplântio e sobrevivência no campo.

Para algumas espécies, o excesso de luz pode também prejudicar o desenvolvimento das plantas, podendo ser considerado um fator de estresse (Andrade, 2004; Marchese et al. (2008).

Com relação aos pigmentos, foram observadas alterações em função do sombreamento (Tabela 5). A maior concentração de carotenóides foi observada em plantas cultivadas a pleno sol e a 50% de sombreamento, sendo menor a 70%. Clorofilas a e b foram maiores nas plantas sob 70% de sombreamento e menores nas plantas a pleno sol. Teor de clorofila total e relação clorofila b/a não diferiram entre os níveis de sombreamento.

TABELA 5 Valores médios dos pigmentos foliares de *Piper aduncum* desenvolvidas durante cinco meses em diferentes níveis de sombreamento.

Sombreamento (%)	Carotenóides (mg/g)	Clorofila (µg/g)			
		a	b	total	b/a
0	2253,08 a	1,38 b	0,47 c	6,26 a	0,34 a
50	2291,33 a	1,92 b	0,97 b	6,45 a	0,45 a
70	1667,93 b	3,53 a	1,60 a	6,90 a	0,53 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados semelhantes aos observados neste estudo foram observados por Marchese et al. (2008) em *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. (Piperaceae), quanto ao conteúdo de clorofila; aumento do teor de clorofila, em plantas cultivadas sob 70% de irradiância; e redução em plantas sob pleno sol. Nesse mesmo trabalho, esses autores observaram que plantas cultivadas sob pleno sol produziram folhas com sinais de clorose e necrose, indicando degradação da clorofila, que foi induzida pela geração de espécies reativas de oxigênio, devido ao aumento na atividade de enzimas antioxidantes.

Em plantas cultivadas sob pleno sol, o teor de óleo essencial foi superior nos ramos, seguida daquelas a 50% e 70% de sombreamento, que não diferiram

entre si, enquanto sob 70% de sombreamento, o teor foi superior nas folhas e inferior a pleno sol; contudo, não diferiu de ambos a 50% (Tabela 6). O teor total de óleo essencial não diferiu entre os tratamentos.

TABELA 6 Teores médios de óleo essencial de ramos, folhas e total de *Piper aduncum* desenvolvidas durante cinco meses em diferentes níveis de sombreamento.

Sombreamento (%)	Ramos	Folhas	Total
0	0,41 a	0,5 b	0,91 a
50	0,24 b	0,63 ab	0,87 a
70	0,22 b	0,7 a	0,92 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O ambiente no qual o vegetal se desenvolve, tipo de cultivo, temperatura, umidade relativa do ar, fotoperíodo, intensidade luminosa, regime de ventos, fertilidade e grau de hidratação do solo influenciam decisivamente a composição química dos óleos essenciais. Entretanto, não se pode prever ou estabelecer um padrão único, pois cada espécie reage de forma diferenciada a esses fatores ambientais (Simões & Spitzer, 2007).

Quanto à influência da radiação solar no rendimento do óleo essencial, os resultados dependem da espécie. Em *Baccharis trimera* (Less) D.C. (Asteraceae), por exemplo, o rendimento de óleo essencial aumentou com a elevação do nível de radiância (Silva et al., 2006a). Para *Aloysia gratissima* (Gilles & Hook.) Tronc. (Verbenaceae), crescidas a pleno sol e com 40 e 80% de redução da radiação solar incidente, não diferiu quanto ao teor de óleo essencial; contudo, o rendimento decresceu com o sombreamento (Pinto et al., 2007).

Sendo assim, pode ser verificado que plantas de *P. aduncum* apresentam plasticidade, crescendo como plantas de sol em áreas ensolaradas e como plantas de sombra em habitats sombreados, podendo ser utilizada em diferentes fases de sucessão em programas de reflorestamento mistos. Contudo, o desenvolvimento dessa espécie é favorecido sob 50% de sombreamento, sendo recomendado para

formação da muda. Para a produção de óleo essencial, o aumento no sombreamento proporcionou maiores teores em folhas e menores no caule. Ao se considerar toda a parte aérea na extração, o sombreamento não teve influência.

4 CONCLUSÕES

P. aduncum é uma espécie de crescimento inicial extremamente rápido, com curto período juvenil, tendo em vista o início do florescimento, após cerca de seis meses da semeadura.

Em diferentes níveis de sombreamento testados, as plantas apresentam plasticidade, podendo ser avaliada em diversos estádios de recuperação de ambientes degradados.

O desenvolvimento das mudas é favorecido quando sombreadas a 50%, podendo ser recomendado para formação da muda.

Para a produção de óleo essencial, o aumento no sombreamento proporcionou maiores teores em folhas e menores no caule. Não houve influência do sombreamento, ao considerar toda a parte aérea. Considerando o acúmulo de biomassa foliar, 70% de sombreamento proporcionou maior rendimento.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L.S. de; MAIA, N. da; ORTEGA, A.R.; ANGELO, A.C. Crescimento de mudas de *Jacaranda puberula* Cham. em viveiro submetidas a diferentes níveis de luminosidade. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.15, n.3, p.323-329, 2005.
- ALVARENGA, A.A. de; CASTRO, E.M. de; LIMA JÚNIOR, É. de C.; MAGALHÃES, M.M. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.27, n.1, p.53-57, 2003.
- ALVARENGA, A.P.; BOTELHO, S.A.; PEREIRA, I.M. Avaliação da regeneração natural na recomposição de matas ciliares em nascentes na região sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, MG, v.12, n.4, p.360-372, dez. 2006.
- ANDRADE, F.M. de. **Avaliação de biomassa, clorofila, cafeína e tanino em *Ilex paraguariensis* Saint-Hilaire, crescendo sob sombreamento e pleno sol.** 2004. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolates choroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Califórnia, v.24, n.1, p.1-15, 1949.
- BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p.555-557, set./out. 2004.
- CALDWELL, M.M.; PEARCY, R.W. **Exploitation of environmental heterogeneity by plants.** San Diego: Academic, 1994, 429p.
- DUKE, S.O.; KENYON, W.H. Effects of dimethazone (FMC 57020) on chloroplast development II. Pigment synthesis and photosynthetic function in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) primary leaves. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.25, n.1, p.11-18, Feb. 1986.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.113-120, jan./fev. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S. de; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.3, p.485-489, maio/jun. 2005.

FERREIRA, D.F. **SISVAR**: sistema de análises estatísticas. versão 4.3. Lavras: UFLA, 1999.

FIDALGO, L.M.; RAMOS, I.S.; ALVAREZ, A.M.M.; LORENTE, N.G.; LIZAMA, R.S.; PAYROL, J.A. Propiedades antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v.56, n.3, p.230-233, 2004.

GUERRINI, A.; SACCHETTI, G.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADO, M.E.; BRUNI, R. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v.27, n.1, p.39-48, Jan. 2009.

KUREPIN, L.V.; PHARIS, R.P.; REID, D.M.; CHINNAPPA, C.C. Involvement of gibberellins in the stem elongation of sun and shade ecotypes of *Stellaria longipes* that is induced by low light irradiance. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v.29, n.7, p.1319-1328, July 2006.

LIMA JÚNIOR, É. de C.; ALVARENGA, A.A. de; CASTRO, E.M. de; VIEIRA, C.V.; OLIVEIRA, H.M. de. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.5, p.1092-1097, set./out. 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARCHESE, J.A.; MATTANA, R.S.; MING, L.C.; BROETTO, F.; VENDRAMINI, P.F.; MORAES, R.M. Irradiance stress responses of gas exchange and antioxidant enzyme contents in pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] plants. **Photosynthetica**, Prague, v.46, n.4, p.501-505, 2008.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A. de A.; ALÉCIO, A.C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V. da S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C. M.; KATO, M.J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, May/June 2006.

PEREIRA, A.C.R.L.; OLIVEIRA, J.V. de; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; CÂMARA, C.A.G. da. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.717-724, maio/jun. 2008.

PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, J.C.W.; CASTRO, E.M. de; BERTOLUCCI, S.K.V.; MELO, L.A. de; DOUSSEAU, S. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.2, p.210-214, abr./jun. 2007.

ROGERS, H.M.; HARTEMINK, A.E. Soil seed bank and growth rates of an invasive species, *Piper aduncum*, in the lowlands of Papua New Guinea. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v.16, p.243-251, 2000.

SANDMANN, G; BÖGER, P. Comparison of the bleaching activity of norflurazon and oxyfluorfen. **Weed Science**, Champaign, v.31, n.3, p.338-341, May 1983.

SANTIAGO, E.J.A. de; PINTO, J.E.B.P.; CASTRO, E.M. de; LAMEIRA, O.A.; CONCEIÇÃO, H.E.O. da; GAVILANES, M.L. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.5, p.1035-1042, set./out. 2001.

SILVA, F.G.; PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, M. das G.; NASCIMENTO, E.A.; NELSON, D.L.; SALES, J. de F.; MOL, D.J. de S. Influence of radiation level on plant growth, yield and quality of essential oil in carqueja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.1, p.52-57, jan./fev. 2006.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007. p.467-495.

SOUSA, P.J.C.; BARROS, C.A.L.; ROCHA, J.C.S.; LIRA, D.S.; MONTEIRO, G.M.; MAIA, J.G.S. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.2, p.217-221, abr./jun. 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

WICKINSON, R.E. **Plant environmental interactions**. New York: Marcel Dekker, 1994, 599p.