

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE DUAS  
ESPÉCIES DE GLEICHENIACEAE SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE  
CULTURAS E DA BIOINDICADORA *LACTUCA SATIVA* L.**

**VALQUÍRIA MARIN VOLTARELLI**

**SÃO CARLOS**

**BRASIL**

**2010**

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE DUAS  
ESPÉCIES DE GLEICHENIACEAE SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE  
CULTURAS E DA BIOINDICADORA *Lactuca sativa* L.**

**VALQUIRIA MARIN VOLTARELLI**

**Dissertação apresentada ao Centro de Ciências  
Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São  
Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do  
título de Mestre junto ao Programa de Pós-graduação  
em Ecologia e Recursos Naturais**

**Orientadora:**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Maria Inês Salgueiro Lima**

**SÃO CARLOS – SP**

**BRASIL**

**2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

V935pa

Voltarelli, Valquiria Marin.

Potencial alelopático de extratos aquosos de duas espécies de Gleicheniaceae sobre espécies infestantes de culturas e da bioindicadora *Lactuca sativa* L. / Valquiria Marin Voltarelli. -- São Carlos : UFSCar, 2010.  
73 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Fisiologia vegetal. 2. Alelopatia. 3. Solos. 4. Plantas daninhas. I. Título.

CDD: 581.1 (20<sup>a</sup>)

Valquíria Marin Voltarelli

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE DUAS  
ESPÉCIES DE GLEICHENIACEAE SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE  
CULTURAS E DA BIOINDICADORA *LACTUCA SATIVA* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

**Aprovada** em 05 de maio de 2010

BANCA EXAMINADORA

Presidente



Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima  
(Orientadora)

1º Examinador



Profa. Dra. Sonia Cristina Juliano Gualtieri  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Profa. Dra. Silmara Cristina Fanti  
UNICEP/S. Carlos-SP

*“De tudo ficam três coisas:*

*A certeza de que estamos sempre começando...*

*A certeza de que precisamos continuar...*

*A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...*

*Portanto devemos:*

*Fazer da interrupção um caminho novo*

*Da queda, um passo de dança*

*Do medo, uma escada*

*Do sonho, uma ponte*

*Da procura, um encontro.”*

**(Fernando Sabino)**

Dedico este trabalho aos meus pais, amigos e familiares.

Sem eles, nada seria tão possível e surpreendente.

## **Agradecimentos**

Este trabalho não seria possível sem a valiosa contribuição de varias pessoas, às quais expresso minha sincera gratidão:

À professora Maria Inês S. Lima, pela sua cumplicidade e por me proporcionar enorme satisfação de trabalhar conjuntamente. À professora Sônia Cristina J. Gualtieri, pelas contribuições na banca de qualificação, pelas conversas informais tão divertidas e pela predisposição em me ajudar. Por ambas tenho grande admiração, e agradeço por termos compartilhado amistosamente muito além de nossas experiências profissionais.

Aos meus pais, Sirley T. Marin Voltarelli e Vanderlei Voltarelli, pela minha formação pessoal, por serem exemplos, por terem me apoiado em todos os momentos com tanto amor e carinho. A eles que amo e admiro, e que sempre me ensinaram os valores de amor, compreensão e honestidade. À minha irmã Ana Letícia Marin Voltarelli, pela vida compartilhada e pelo carinho de sempre. À minha tia Marlene Voltarelli Querubim, pelos cuidados maternos até hoje muito importantes. Agradeço muito a toda minha família, que me apoiou sempre, e que se orgulha do valor dos laços que nos unem. Ao Renan, pelo carinho e compreensão nos momentos de tensão, pela paciência e por estar ao meu lado. Pela oportunidade de crescermos e compartilharmos um tanto de nossas vidas.

Agradeço também aos amigos José Pedro Nepomuceno Ribeiro, Leandro Kenji Takao, Reginaldo Sadao Matsumoto e Alessandro Ferreira, que com muita amizade me incentivaram nas tarefas do dia a dia e me deram muito prazer em dividir estufas, bancadas, planilhas, e outras coisas especiais. Em especial, agradeço ao amigo e doutorando José Pedro, por suas contribuições, pela disposição em me socorrer sempre e também pela paciência com as análises estatísticas e com as correções polidas e profissionais. Obrigada meninos!

Aos técnicos do departamento de Botânica: Carlos Casali, Ademir de Paula, Sr. Luis e Antônio Luís Sartori, e também ao mestrando Rodrigo (Fisiologia) pelo apoio durante o desenvolvimento de todo o trabalho, e por nos ajudarem e ensinarem com satisfação e cordialidade. Obrigada também às doutorandas Ingritt Moreira e Inessa Lacativa, pela predisposição e cordialidade. Às minhas colegas de laboratório Maristela Imatomi, Paula Novaes, Patrícia Umeda e Luíza, por compartilharem dos momentos de trabalho e por torná-los prazerosos demais. À Mari que já conheço de tanto tempo, e à Paula por quem tenho muito carinho, obrigada pelas dicas, bibliografias e principalmente pela força.

Aos professores do departamento de estatística Teresa Cristina Martins Dias e Benedito Galvão Benze, pela disposição em conhecer e ajudar neste trabalho. Agradeço também à Natália Raia Kristensen, minha companheira de apartamento e futura profissional em estatística, e às meninas, Natália Cirio, Mariana Gomes e Ágatha Rodrigues; obrigada a todas, pois trabalharam junto comigo quando precisei.

Ao especialista Jefferson Prado, pela identificação das espécies de Pteridófitas. Aos professores doutores Alfredo Gui Ferreira, Marcello Campos e à Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marize Terezinha Lopes Pereira Peres, pelas contribuições importantes por meio da comunicação pessoal.

Às minhas eternas amigas Beatriz Coletti do Sacramento, Marília de Almeida Duarte e Renata Estevão Pollini, que de tanta amizade, chego a lhes ter amor. À minha amiga Tatiana Terasin, a mais prática, “ligada” e doce, pela companhia nas leituras depois das aulas, pela serenidade e maturidade, pelas conversas e conselhos, e por fazer do meu trabalho o nosso trabalho, principalmente no último ano. Uma parceria que espero não acabar, jamais! À Carmen Brevis, pelo ensino e apoio nas iniciativas além das fronteiras deste país. E, logicamente, às minhas companheiras de pelada do Perea Futebol Arte, que me proporcionam uma forma de exercício que vale mais para a mente do que qualquer músculo.

Às professoras doutoras que participaram da minha banca de qualificação Eliane Aike Simabukuro, Patrícia Monquero e Sonia Cristina J. Gualtieri, pelas valiosas contribuições e orientações. Às professoras doutoras Silmara C. Fanti e Sônia Cristina J. Gualtieri, por aceitarem o convite para participar da banca de avaliação final deste trabalho.

Agradeço também à Capes, pela concessão da bolsa e aos funcionários do programa PPG-ERN.

Enfim, sou muito grata à minha família, amigos e àqueles que contribuíram anonimamente na realização deste trabalho.

## **SUMÁRIO**

<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>8</b>
<b>INDICE DE TABELAS</b>	<b>10</b>
<b>RESUMO</b>	<b>11</b>
<b>ABSTARCT</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>13</b>

### **CAPITULO 1** **22**

#### **“POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE *DICRANOPTERIS FLEXUOSA* SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE CULTURAS E SOBRE *LACTUCA SATIVA*.”**

<b>Resumo</b>	<b>23</b>
<b>Abstract</b>	<b>24</b>
<b>Introdução</b>	<b>25</b>
<b>Material e métodos</b>	<b>28</b>
<b>Resultados e discussão</b>	<b>32</b>
<b>Conclusões</b>	<b>45</b>
<b>Referencias</b>	<b>45</b>

### **CAPITULO 2** **50**

#### **“POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE *GLEICHENELLA PECTINATA* SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE CULTURAS”**

<b>Resumo</b>	<b>51</b>
<b>Abstract</b>	<b>51</b>
<b>Introdução</b>	<b>52</b>
<b>Material e métodos</b>	<b>55</b>
<b>Resultados e discussão</b>	<b>57</b>
<b>Referencias</b>	<b>63</b>
<b>Conclusão geral</b>	<b>72</b>

## Índice de Figuras

### Capítulo 1

- Figura 1 - Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes férteis de *D. flexuosa*. 33
- Figura 2 - Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes estéreis de *D. flexuosa*. 34
- Figura 3 - Valores médios de comprimentos radicular e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes férteis de *D. flexuosa*. 34
- Figura 4 - Valores médios de comprimentos radicular e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes estéreis de *D. flexuosa*. 35
- Figura 5 - Anormalidades de plântulas de *E. crus-galli*, quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. 36
- Figura 6 - Anormalidades de plântulas de *E. heterophylla*, quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. 36
- Figura 7 - Anormalidades de plântulas de *I. grandifolia*, quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. 37
- Figura 8 - Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de soros, obtidos de frondes férteis de *D. flexuosa*. 38
- Figura 9 - Evidências da decomposição de sementes não germinadas após 192 horas de exposição aos tratamentos de frondes férteis de *D. flexuosa*. 40

## Capítulo 2

- Figura 1 - Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes férteis de *G. pectinata*.  
59
- Figura 2 - Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes estéreis de *G. pectinata*.  
60
- Figura 3 - Valores médios de comprimentos radiculares e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes férteis de *G. pectinata*.  
61
- Figura 4 - Valores médios de comprimentos radiculares e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes estéreis de *G. pectinata*.  
62
- Figura 5 - Anormalidades de plântulas de *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia* quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *Gleichenella pectinata*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%.  
63

## Índice de tabelas

### Capítulo 1

**Tabela 1.** Dados de porcentagem de germinação, tempo médio de germinação e de crescimento inicial de *L. sativa* submetidas a diferentes fontes de aleloquímicos de *D. flexuosa*.. 40

### Capítulo 2

**Tabela 1.** Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das sementes e crescimento inicial das plântulas de *E. crus-galli*, *E. heterophylla* *I. grandifolia* submetidas a diferentes concentrações dos extratos de Frondes Fértéis (FF) e estéreis (FE) de *Gleichenella pectinata*. 58

## RESUMO

No presente trabalho foram feitos bioensaios para determinar o potencial alelopático dos extratos aquosos de frondes adultas de *Gleichenella pectinata* e de *Dicranopteris flexuosa* em dois estágios fisiológicos (fértil e estéril) sobre a porcentagem e o tempo médio de germinação, e crescimento inicial de três espécies de plantas infestantes de culturas (*Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia*, *Euphorbia heterophylla*). Foram feitos quatro tratamentos aquosos (0, 2,5, 5 e 10%), com cinco repetições. Cada tratamento consistiu de 30 sementes para os experimentos de germinação e 10 plântulas para crescimento da radícula e do hipocótilo/coleótilo. O crescimento das raízes foi o parâmetro mais sensível aos aleloquímicos de frondes de *G. pectinata* e de *D. flexuosa*, para as três espécies estudadas. Todos os extratos prejudicaram o crescimento da raiz das três espécies alvo, exceto a concentração 2,5% do extrato de frondes estéreis de *G. pectinata* sobre *E. heterophylla*. Os extratos de frondes estéreis de *G. pectinata* atrasaram a germinação de *E. heterophylla* e *E. crus-galli* nas concentrações 5 e 10%. A concentração 10% do extrato de fronde férteis reduziu a porcentagem de germinação das três espécies-alvo. Todos os extratos de *D. flexuosa* reduziram o sistema radicular de todas as espécies alvo. *I. grandifolia* foi a espécie mais sensível aos extratos de *D. flexuosa*, apresentando redução de todos os parâmetros morfológicos. As demais espécies alvo tiveram suas partes aéreas diminuídas pelas concentrações 5 e 10%. Foi realizado um experimento em solo para verificar o desempenho de diferentes tratamentos de *D. flexuosa* na germinação de *Lactuca sativa*, na presença e ausência de microrganismos. Cada um dos tratamentos foi testado com 4 sementes de alface /vaso durante seis períodos distintos de dez dias, referentes ao 1º, 2º, 4º, 8º, 16º e 32º dias após a aplicação dos tratamentos, com 6 réplicas. As condições de luminosidade, umidade e temperatura foram controladas. Em geral, os substratos não esterilizados apresentaram maiores efeitos alelopáticos sobre os parâmetros analisados. Dentre os tratamentos, o solo pré ocupado por *D. flexuosa*, inibindo a germinação quando não esterilizado, durante todo o tempo de experimento. Isso comprova o acúmulo de substâncias alelopáticas em condições ambientais, e seu efeito prolongado.

**Palavras chave:** Alelopatia, Solo, *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*, Pteridófito.

## ABSTRACT

This work aims to determine through bioassays the allelopathic potential of aqueous extracts *Gleichenella pectinata* and *Dicranopteris flexuosa* adult and mature fronds in two physiological stages (fertile and sterile) over the percentage and average time of germination, besides initial growth of three species of crop weeds (*Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia*, *Euphorbia heterophylla*). Four aqueous treatments were made (0, 2,5 , 5 and 10%), with five replications. Each plot consisted of 30 seeds for germination tests and 10 seedlings for initial growth of root and hypocotyl / coleoptile. Root growth was the most sensitive parameter to *G. pectinata* and *D. flexuosa* allelochemicals, for the three target species. All extracts damaged root growth of target species, excepting the lower concentration of sterile fronds extracts over *E. heterophylla*. Sterile frond extracts caused a delay on *E. crus-galli* and *E. heterophylla* germination under concentrations 5 and 10%. The higher concentration of fertile frond extract decreased germination percentage of the three target species. All *D. flexuosa* extracts decreased root length of all target species. *I. grandifolia* was the most sensitive species due to *D. flexuosa* extracts, having showed decrease in all morphologic parameters. Both other target species also had their shoot part length growth suppressed under 5% and 10% concentrations. A soil experiment was also performed in order to verify the role of different treatments of *D. flexuosa* fronds on *Lactuca sativa* germination in presence or absence of microorganisms. Each treatment was tested with 4 lettuce seeds per vase, by 10 days with 6 replications. Treatments were tested in 6 periods of ten days each, related to the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> and 32<sup>nd</sup> days after treatments application. Light, moisture and temperature conditions were controlled. In general, non-sterilized substrates presented higher allelopathic effects over analyzed parameters. Among treatments, the pre-occupied soil exerted stronger effects, with inhibition of germination in non-sterilized, during the whole period of experiment. That must be an indicative of accumulated allelopathic substances under environmental conditions, and their prolonged effects.

**Key words:** Allelopathy, Soil, *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*, Pteridophyta.

## INTRODUÇÃO GERAL

### Histórico

Os primeiros registros de interações alelopáticas são muito antigos. Havia a suspeita de que agentes químicos, hostis ao crescimento de outras plantas, seriam um mecanismo de interação entre as plantas e seus vizinhos (HIERRO & CALLAWAY, 2003; CHOU, 2006). Em 300 a.C., Theophrastus relacionou a exaustão do solo à uma espécie de leguminosa (*Cicer arietinum* L.). Plínio (1 d.C.) relatou que as espécies *Cicer arietinum* L., *Hordeum vulgare* L., *Trigonella foenum-graceum* L., *Vicia ervilia* Will. e possivelmente *Juglans regia* L. causavam prejuízo para outras espécies de plantas (RICE, 1984).

Em 1982, o botânico suíço De Candolle sugeriu que a causa da debilidade do solo na agricultura seria os exsudados das plantas cultivadas. Hoy e Stickney (1881) reportaram o efeito deletério de nogueiras sobre o crescimento de espécies vizinhas. Mais tarde, no início do século XIX, Schreiner e Reed (1907) encontraram que ácidos orgânicos, originalmente liberados por raízes de plantas, suprimiam o crescimento de algumas culturas (*in* HIERRO & CALLAWAY, 2003; CHOU, 2006).

### Definição

O termo alelopatia foi cunhado pelo fisiologista vegetal Hans Molisch em 1937, enquanto explicava o efeito do etileno no amadurecimento dos frutos. Ao empregar as palavras gregas “*allelon*” e “*pathos*” – que significam respectivamente “mútuo” e “prejuízo” – o termo alelopatia referiu-se à liberação natural de substâncias inibitórias por certas plantas, capazes de interferir no crescimento de outras plantas num ambiente compartilhado (*in* CHOU, 2006). O termo foi revisado diversas vezes, aumentando a abrangência quanto aos organismos liberadores, incluindo os microorganismos, e quanto às interações destas substâncias com as demais espécies, considerando os efeitos positivos e negativos. Rice (1984) definiu o fenômeno da alelopatia como o efeito que uma planta ou microrganismo exerce sobre o crescimento de outra, através da liberação de compostos químicos no ambiente. Esta definição já era bastante ampla, incluindo quase todos os aspectos da ecologia química das plantas (*in* RICE, 1984, 1986; INDERJIT & DUKE, 2003). Atualmente, a

Sociedade Internacional de Alelopatia define alelopatia como “A ciência que estuda qualquer processo envolvendo essencialmente metabólitos secundários que influenciem no crescimento e desenvolvimento de sistemas naturais e cultiváveis. Os metabólitos podem ser produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos, e esta definição inclui efeitos positivos e negativos” (MACÍAS et al., 2000). Alguns autores preferem reconhecer apenas efeitos negativos como alelopáticos, como Lambers et al.(1998), citados por Inderjit e Duke (2003), que também adotaram esta ênfase para discutir os aspectos ecofisiológicos da alelopatia.

### **Aleloquímicos**

As interações planta-ambiente não são determinadas apenas por recursos ambientais e vem despertando cada vez mais o interesse dos pesquisadores. Este reconhecimento fica explícito em estudos que englobam interações independentes de recursos. Como exemplos destas abordagens estão: comunicações radiculares inter e intraespecíficas, estímulo da produção de agentes químicos de defesa em órgãos que sofreram injúrias, sinais radiculares entre parasitas e hospedeiros e oxidação de gases liberados pela queima de plantas, presentes em fumaça ou em ácidos, que suprimam a germinação de outras espécies (HIERRO & CALLAWAY, 2003). Os produtos do metabolismo secundário das plantas, quando envolvidos em relações alelopáticas, são designados pelo termo “aleloquímicos”. Apesar da correlação existente entre os metabólitos secundários e aleloquímicos, alguns autores como Whittaker e Feeny (1971), Berenbaum (1995) e Kauer (2002), citados por Inderjit e Duke (2003), ressaltam que os dois termos (metabólitos secundários e aleloquímicos) não são sinônimos, e tampouco substituíveis um pelo outro. De acordo com Berenbaum (1995), citado por Inderjit e Duke (2003), a identidade de um composto como aleloquímico depende mais da sua ação do que da sua via de síntese. Em situações de campo, a atividade alelopática é entendida como proveniente da ação conjunta de diversos aleloquímicos (INDERJIT & DUKE, 2003). Cada composto pode atuar de diversas formas na natureza, dependendo do organismo doador e dos parâmetros ambientais específicos que o atingem. Um exemplo do dinamismo de funções está no que ocorre com o ácido tânico. Este estimula o crescimento das raízes da árvore do gafanhoto, ao passo que atua como agente antimicrobiano, inibidor de bactérias do intestino dos gafanhotos (DILLON et al. 2002, citados por INDERJIT e DUKE, 2003), e já teve sua função de inibidor de crescimento documentada por Rice (1984).

### **Autotoxicidade x heterotoxicidade**

Wittaker e Feeny (1971), citados por Goldfarb et al. (2009) propuseram dois termos para designar as diferentes atuações das substâncias alelopáticas em relação à planta doadora. A autotoxicidade, que ocorre quando a planta produz substâncias tóxicas que inibem a germinação e o crescimento de plantas da mesma espécie, e a heterotoxicidade, por sua vez, é admitida quando as substâncias fitotóxicas liberadas através de lixiviação, exsudação radicular ou degradação de resíduos de uma planta interferem sobre a germinação e o crescimento de outras plantas. Considerando que aleloquímicos possam atuar como fitotoxinas, a produção e armazenamento, ou mesmo a liberação destas substâncias para o solo circundante, poderia levar a planta doadora a um quadro de autotoxicidade. Para evitar que isso aconteça, as plantas produtoras usam estratégias, como a resistência ao composto ativo através da incompatibilidade aos sítios de ligação, ou de mecanismos que impedem o encontro das moléculas fitotóxicas com os respectivos alvos. Há evidências de que a primeira estratégia ocorra por meio de secreção ou sequestro do composto ativo, armazenado sob a cutícula das glândulas até a sua liberação, como ocorre em *Artemisia annua* (Duke et al. 1994, citados por Inderjit & Duke 2003). Outro método comum de sequestro de compostos fitotóxicos é sua síntese e posterior compartimentalização nos tricomas das partes aéreas (DUKE et al., 2000). No caso das Glecheniaceae, os aspectos ecológicos da heterotoxicidade merecem destaque, uma vez que a distribuição das populações ocorre de forma semelhante, em formações monoespecíficas e relacionada a mecanismos de bloqueio da sucessão vegetal (MÜLLER et al., 2007).

### **Modos de liberação dos aleloquímicos**

As substâncias alelopáticas encontram-se distribuídas em diferentes órgãos e concentrações na planta, variando em função da sazonalidade e do ciclo de vida da planta doadora (GOLDFARB et al., 2009). A introdução destas substâncias no ambiente ocorre através da lixiviação das partes aéreas, exsudação das raízes, decomposição de tecidos mortos, volatilização e incorporação de detritos no solo. A precipitação através da cobertura foliar auxilia na lixiviação de aleloquímicos das folhas de plantas doadoras para o ambiente. Os exsudados de raízes também são fontes comuns de aleloquímicos com potente atividade biológica e podem ser de diversas naturezas químicas (INDERJIT & DUKE, 2003). Os trabalhos de Inderjit et al. (1997), Inderjit & Keating (1999), citados por Inderjit e Duke

(2003), evidenciaram que a liberação de aleloquímicos ocorre também pela incorporação de tecidos vegetais mortos ao solo. Um exemplo desta ocorrência está na aragem, que incorpora restos de plantas daninhas ao solo enquanto este é preparado para o cultivo. Uma vez que os tecidos são lesados e decompostos, substâncias hidrossolúveis e relativamente insolúveis tornam-se disponíveis no solo após a irrigação. Outro aspecto alelopático que vem sendo utilizado nos agrossistemas é a cobertura do solo pelos resíduos da própria colheita. Os aspectos bioquímicos desta prática são muito importantes, pois se acredita que os resíduos vegetais liberem compostos alelopáticos supressores do crescimento de plantas infestantes (TREZZI E VIDAL, 2004, citados por CHRISTOFFOLETI et al., 2007). A exemplo disso está o uso do sorgo como cultura intercalar e cobertura vegetal em muitas regiões do Brasil. Suas raízes liberam um composto hidrofóbico (sorgoleone), capaz de inibir o crescimento de diversas espécies infestantes e cultiváveis (CHRISTOFFOLETI et al., 2007)

Para que os aleloquímicos sejam efetivos como herbicidas naturais é desejável que eles sejam hidrossolúveis, como é a maioria dos herbicidas sintéticos. Compostos de natureza lipossolúvel não sejam lixiviados rapidamente para a rizosfera, nem prontamente particulados nas membranas, tornando eventual e quantitativamente menor a presença destes compostos na solução do solo. Entretanto, compostos lipossolúveis também podem atingir as membranas celulares de espécies alvo, através do fluxo de substâncias lipofílicas na solução do solo, e assim desempenharem sua ação fitotóxica (INDERJIT & DUKE, 2003).

### **A alelopatia e suas implicações no desenvolvimento das comunidades vegetais**

Investigações sobre o potencial alelopático de espécies geralmente se iniciam com observações de campo que indiquem uma mudança no padrão da vegetação. Em muitos ecossistemas, observa-se que certas espécies tendem a se estabelecer em conjuntos puros ou comunidades monoespecíficas, o que é atribuído à liberação de toxinas pela planta, dificultando ou inviabilizando o estabelecimento de outras espécies em sua proximidade (MONTEIRO & VIEIRA, 2002), e este comportamento pode estar relacionado a um mecanismo de bloqueio da sucessão vegetal pela ação dos aleloquímicos (MÜLLER et al., 2007). Quando as interações planta-planta são investigadas, aspectos como a competição por recursos compartilhados devem ser considerados na relação entre as espécies (AGRAWAL, 2000; CALLAWAY, 2002 e SCHENK et al., 1999, citados por HIERRO e CALLAWAY, 2003). A alelopatia distingue-se da competição, pois a segunda envolve a redução, ou retirada

de algum fator ambiental necessário à outra planta no mesmo ecossistema, tal como água, luz e nutrientes (GOLDFARB et al., 2009). Fatores ambientais não direcionam por si só os processos de estabelecimento das plantas nos ambientes. Sob esta abordagem, a alelopatia é tomada como uma forma de atividade que não está diretamente relacionada aos recursos do meio, entretanto, desempenha um papel determinante nas condições de dominância e de sucesso para determinadas espécies. De acordo com Dakshini et al. (1999), citados por Inderjit (2006), alelopatia e competição podem ocorrer simultaneamente, ou como eventos consecutivos e distintos, sendo muito difícil separá-las em certos casos. Sob o mesmo aspecto, ressalta-se a importância de interações espécie-específicas particulares (HIERRO & CALLAWAY, 2003).

Blum et al. (1999), citados por Inderjit & Duke (2003) propuseram três critérios para estabelecer evidências de processos alelopáticos: (1) plantas ou detritos doadores potenciais de aleloquímicos devem produzir/conter e liberar para o ambiente substâncias capazes de inibir o crescimento ou o desempenho de funções de outra planta; (2) no solo, a distribuição e acumulação de promotores de inibição (em geral, complexos orgânicos) e inibidores (em geral ácidos fenólicos) devem ser suficientes para inibir a tomada de água e nutrientes pelas raízes e/ou a fixação de energia pelas plantas sensíveis; (3) os padrões de inibição observados para as plântulas em campo não podem ser explicados apenas por fatores físicos ou outros fatores abióticos.

Certas espécies de pteridófitas exibem um padrão de dominância, compondo associações praticamente puras, onde poucos indivíduos de outras espécies coexistem. Nestes locais, espécies associadas parecem ser severamente inibidas e, muitas vezes, excluídas dos agrupamentos de samambaias. Espécies de pteridófitas que se destacam como exemplos deste mecanismo são *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (GLEISSMAN & MULLER 1978, citados por SILVA, 2007), *Gleichenia pectinata* (Willd.) (PERES et al., 1998) e *Dicranopteris linearis* (Burm. f.) Underw (TET-VUN & ISMAIL, 2006). Isto também foi descrito para *D. linearis* e a inibição atribuída à liberação de compostos do metabolismo secundário no solo. Estudos ecológicos com *D. linearis* constataram que após três anos de remoção da espécie, 40% da área anteriormente ocupada continuavam sem qualquer cobertura vegetal (RUSSEL et al., 1998, citados por SILVA, 2007). Tet-Vun & Ismail (2006) verificaram que a diferença entre o solo com exsudados de *D. linearis* e o solo testemunha consistiu apenas do conteúdo de fenóis totais.

Em agrossistemas comprometidos pela presença de espécies infestantes, o uso contínuo de um mesmo herbicida, ou de herbicidas com semelhantes mecanismos de ação e espectros de controle, pode selecionar espécies tolerantes. Da mesma forma, herbicidas com efeito residual curto podem selecionar espécies com germinação tardia (MONQUERO & CRISTOFFOLETI, 2003). Estudos sobre interações alelopáticas são úteis na busca por fitotoxinas naturais e derivados sintéticos produzidos a partir destas, a serem empregados como herbicidas mais específicos e com razão de risco/benefício aceitável, do ponto de vista ambiental (VYVYAN, 2002). Entretanto, a descoberta de produtos que reúnam essas características tem se tornado cada vez mais difícil, principalmente para a obtenção de substâncias quimicamente sintetizadas (PERES et al., 2004). Assim como os herbicidas sintéticos, os aleloquímicos geralmente são seletivos e podem representar uma forma benigna de controlar as plantas infestantes. Um exemplo deste benefício é o uso de rotação de culturas com espécies alelopáticas como centeio, trigo e sorgo (WEIR & VIVANCO, 2008).

A mitigação dos impactos do uso de herbicidas através da alelopatia para manejo de espécies tem sido foco de muitos estudos. Estratégias como a rotação de culturas, sistemas de semeadura adequados entre espécies e entre safras, cobertura vegetal do solo por resíduos de cultura e adubação verde tem sido aprimoradas e adotadas pelos produtores (VYVYAN, 2002; CHRISTOFFOLETI et al., 2007).

Apesar de diversas confirmações sobre o papel da alelopatia, a sua importância em ecossistemas naturais e cultivados ainda é controversa. Muitos cientistas questionam a significância das interações alelopáticas, pois comprovações deste fenômeno e de seus mecanismos são difíceis de serem obtidas (CHRISTOFFOLETI et al., 2007; GOLDFARB et al., 2009). Para Taiz & Zeiger (2002), citados por Goldfarb et al. (2009), demonstrar a presença de substâncias alelopáticas no solo em quantidades suficientes para alterar o desenvolvimento de um vegetal não é tarefa fácil. Como já foi dito anteriormente, os aleloquímicos costumam ocorrer como grupos de substâncias, o que dificulta atribuir a uma ou outra o efeito observado (INDERJIT & DUKE, 2003). Além disso, as substâncias orgânicas bioativas encontram-se muitas vezes, ligadas a partículas do solo e podem ser rapidamente transformadas ou degradadas por microrganismos. Por conta disso, Inderjit & Weiner (2001) dizem que a alelopatia deveria ser mais bem conceituada e entendida em relação à ecologia do solo. Os componentes do solo, bióticos e abióticos, são determinantes para a disponibilidade quantitativa e qualitativa de aleloquímicos nos arredores das espécies vizinhas (INDERJIT, 2006). Para Blum et al. (1993) o solo, mediante tratamento com

extratos ou lixiviados de folhas e raízes, recebe contribuições distintas em seu ecossistema, como inibidores (frequentemente ácidos fenólicos), promotores (em geral, nitratos) e substâncias neutras (em geral, glicose). Entretanto, nos estudos de alelopatia, as substâncias inibitórias são usadas para explicar padrões de crescimento, enquanto as demais são negligenciadas. Os lixiviados e extratos podem interferir no crescimento de plântulas por: (i) inibir o crescimento (alelopatia), (ii) imobilizar nitrogênio e/ou (iii) aumentar a população de microrganismos que competem com as plântulas e modificam os compostos. Portanto, a interferência dos tratamentos no crescimento não é obrigatoriamente direta, e devida apenas à liberação de substâncias fitotóxicas (INDERJIT, 2006).

Neste trabalho avaliou-se o potencial alelopático de extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de duas espécies de Gleicheniaceae, *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching e *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw., sobre as espécies infestantes de culturas *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*. Além do potencial alelopático frente a estas espécies, procurou-se identificar quais frondes – férteis ou estéreis – das espécies doadoras, exercem o maior efeito fitotóxico. Diferentes tratamentos de frondes de *D. flexuosa* foram testados usando solo como substrato e sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) como bioindicadoras.

### Referências Bibliográficas

- CHOU, C.-H. Introduction to Allelopathy. In: Reigosa, M.J., et al. **Allelopathy: a Physiological Process with Ecological Implications**. Springer, p. 1-9, 2006
- CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. Conservation of natural resources in Brazilian agriculture: Implications on weed biology and management. **Crop Protection**, v. 26, p. 383-389, 2007.
- DUKE, S.O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed Res**, v. 40, p. 499-505, 2000.
- GOLDFARB, M., PIMENTEL, L.W. & PIMENTEL, N.W. Alelopatia: relações nos agrossistemas. **Tecnologia & Ciências Agropecuárias**, v. 3, p. 23-28, 2009.

HIERRO, J.L. & CALLAWAY, R.M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v. p. 29-30, 2003.

INDERJIT. Experimental complexities in evaluating the allelopathic activities in laboratory bioassays: A case of study. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 256-262, 2006.

INDERJIT & DUKE, S.O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, p. 529-539, 2003.

INDERJIT & WEINER, J. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology? **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 4, p. 3-12, 2001.

MACÍAS, F.A., GALLINDO, J.G.G. & MOLINILLO, G.M.J. Plant biocommunicators: application of allelopathic studies. In: Luijendijk, J.C. **2000 years of natural products research - past, present and future**. Leiden: Phytoconsult, 2000. p. 137-161.

MONQUERO, P.A. & CRISTOFFOLETI, P.J. Dinâmica do Banco de Sementes em Áreas com Aplicação Frequente do Herbicida Glyphosate. **Planta Daninha**, v. 21, p. 63 - 69, 2003.

MONTEIRO, C.A. & VIEIRA, E.L. Substâncias alelopáticas. In: Castro, P.R.C., et al. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: EDUEM, 2002. p. 105-122.

MÜLLER, C. et al. Potencial Fitotóxico de Algumas Espécies de Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 45-47, 2007.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial de Atividade Alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (PR.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 131-137, 1998.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial alelopático de espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, p. 723 - 730, 2004.

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1984.

RICE, E.L. Allelopathic growth stimulation. In: Putnam, A.R., Tang, C.-S. **The science of Allelopathy**. Wiley-Interscience Publications, 1986. p. 23-42.

SILVA, V.S.D. 2007. Potencial alelopático de *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. (Gleicheniaceae): Ensaios em laboratório e casa de vegetação. Dissertação de Mestrado. Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande.

TET-VUN, C. & ISMAIL, B.S. Field evidence of allelopathic properties of *Dicranopteris linearis* **Weed Biology and Management**, v. 6, p. 59-67, 2006.

VYVYAN, J.R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, v. 58, p. 1631-1646, 2002.

WEIR, T.L. & VIVANCO, J.M. Allelopathy: full circle from Phytotoxicity to Mechanisms of Resistance. In: Zeng, R.S., et al. **Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry**. New York: Springer, 2008. p. 105-117.

## Capítulo 1

# **POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE *Dicranopteris flexuosa* SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE CULTURAS E SOBRE *Lactuca* *sativa* L.**

*“Mas já que se há de escrever, que ao menos não se esmaguem com palavras as entrelinhas.*

*O melhor ainda não foi escrito. O melhor está nas entrelinhas.”*

*Clarice Lispector*

## POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE *DICRANOPTERIS FLEXUOSA* SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE CULTURAS E SOBRE *LACTUCA SATIVA*

**RESUMO** - Foram feitos bioensaios para determinar o potencial alelopático dos extratos aquosos de frondes adultas de *Dicranopteris flexuosa* em dois estágios fenológicos (fértil e estéril) sobre a porcentagem e o tempo médio de germinação, e crescimento inicial de três espécies de plantas infestantes de culturas (*Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia*, *Euphorbia heterophylla*) em placa de petri e experimentos em solo, testando extrato bruto, material pulverizado e solo natural da área de coleta de *D. flexuosa* sobre *Lactuca sativa*. Nos experimentos de germinação e desenvolvimento inicial, foram feitos quatro tratamentos com extratos aquosos (0, 2,5, 5 e 10%), com cinco repetições. Cada tratamento consistiu de 30 sementes para a germinação em cada placa e 10 plântulas para o crescimento da radícula e do hipocótilo/coleótilo em caixas plásticas. No experimento de solo, cada vaso recebeu 50g de substrato mais 4 sementes de *Lactuca sativa*. Foram utilizados dois substratos (solo pré ocupado por *D. flexuosa* e solo de cultivo, cada um deles com lotes esterilizados e não esterilizados). Ao solo cultivável foram adicionados frondes pulverizadas 3% ou extrato aquoso 10%, sendo as sementes de alface colocadas ao 1º, 2º, 4º, 8º, 16º e 32º dias após a montagem dos vasos com solo e pulverizado ou extrato, com 6 repetições em cada tratamento. Cada conjunto semeado foi avaliado pelo período de 10 dias. O crescimento das raízes foi o parâmetro mais sensível aos aleloquímicos de frondes de *D. flexuosa* para as três espécies infestantes. A maioria dos extratos prejudicaram o crescimento da raiz das três espécies alvo. Os extratos de frondes estéreis atrasaram a germinação de *E. heterophylla* e *E. crus-galli* nas concentrações 5 e 10%. A maior concentração do extratos de fronde férteis reduziu a porcentagem de germinação das três espécies-alvo. No substrato solo, o solo não esterilizado pré ocupado por *D. flexuosa* afetou a germinação em todos os dias de semeadura. Os substratos não esterilizados acarretaram interferências mais severas na germinação, tempo médio e crescimento, do que os substratos esterilizados.

Palavras chave: Alelopatia, Solo, *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*, Pteridophyta.

**ABSTRACT-** Allelopathic potential of *Dicranopteris flexuosa* extracts on weed species and on *Lactuca sativa* in soil. This work aims to determine through bioassays the allelopathic potential of aqueous extracts *Dicranopteris flexuosa* in two physiological stages (fertile and sterile) over the percentage and average time of germination and initial growth of three species of crop weeds (*Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia*, *Euphorbia heterophylla*), besides a soil experiment employing crude extract, powdered material and native soil from *D. flexuosa* collect area. Four aqueous treatments were made (0, 2,5 , 5 and 10%), with five replications. Each plot consisted of 30 seeds for germination and 10 seedlings for initial growth of root and hypocotyl / coleoptile. In soil experiment, each vase received 50g of substrate plus 4 seeds of *Lactuca sativa*. Two different substrates were used (pre-occupied soil by *D. flexuosa*, and garden soil), each of them in sterilized and non-sterilized types. Powdered fronds (concentration of 3%) and aqueous extracts 10% were add to garden soil, and the sowings took place at 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>,8<sup>th</sup> , 16<sup>th</sup> and 32<sup>nd</sup> days after setting vases with substrates, applying six replications. Each sowed group were evaluated for ten days. All treatments were tested in sterile and non-sterile substrates. Root growth was the most sensitive parameter due to *D. flexuosa* allelochemicals, for the three species. All extracts damaged root growth of target species, excepting the lower concentration of sterile fronds extracts over *E. heterophylla*. Sterile frond extracts caused a delay on *E. crus-galli* and *E. heterophylla* germination under concentrations 5 and 10%. The higher concentration of fertile frond extract decreased germination percentage of the three target species. On soil substrates, the unsterilized pre colonized by *D. flexuosa* affected *L. sativa* seeds germination for all sowing periods. Unsterilized substrates led to stronger interference than did sterilized soils on germination, average time and initial growth. It was found pre and post emergence effects over bioindicator species.

Key words: Allelopathy, Soil, *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*, Pteridophyta.

## Introdução

A produção moderna de culturas depende de herbicidas e inseticidas sintéticos e de outros produtos químicos de mesma natureza. A dependência crescente de produtos químicos para o controle de pragas impõe sérios danos à saúde humana e ao ambiente, pois, após sua aplicação no campo, parte dos produtos provenientes de sua degradação é adsorvida no solo e nele permanece por longos períodos. Além disso, o controle químico de pragas leva a outro grande problema, que consiste no desenvolvimento de biótipos resistentes a esses tratamentos (MACÍAS et al., 1999). Nos agrossistemas comprometidos pela presença de espécies invasoras, o controle destas pelo uso de herbicidas sintéticos pode levar à seleção de espécies tolerantes. Da mesma forma, herbicidas com efeito residual curto podem selecionar espécies com germinação tardia (MONQUERO & CRISTOFFOLETI, 2003).

Todos os anos as espécies infestantes provocam um prejuízo de cerca de U\$95 bilhões em nível mundial, de acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2009). Além de comprometer o rendimento da cultura, ainda podem dificultar o manejo e a colheita da cultura de interesse, e ainda causar maior necessidade de controle, elevando o custo da produção pelo investimento em insumos agrícolas. A principal forma de manejo das plantas infestantes de cultura se dá por meio dos herbicidas sintéticos (HONG et al., 2004), e só no Brasil os gastos com esses produtos superaram U\$4,6 bilhões em 2008 (SINDAG, 2008).

A alelopatia, por abordar interações bioquímicas planta-planta e planta-microrganismos, pode ajudar na superação destes problemas através do desenvolvimento de variedades de culturas hábeis para suprimir pragas e através do uso de toxinas naturais de plantas ou microrganismos como herbicidas (MACÍAS et al., 1999). A suspeita de que agentes químicos hostis ao crescimento de outras plantas seriam um mecanismo pelo qual as plantas interagiriam com seus vizinhos é muito antiga (HIERRO & CALLAWAY, 2003; CHOU, 2006). O equilíbrio dos ecossistemas é considerado uma consequência das interações de muitos sinais químicos, provenientes de vários componentes do sistema. As plantas, como componentes desses sistemas, vem sendo consideradas como potenciais fontes de moléculas que podem ser utilizadas para proteger e manter a produção agrícola (PERES et al., 2004). De acordo com Macías et al. (1998a), citados por Peres et al. (2004), as interações alelopáticas, uma vez compreendidas, podem ser úteis na busca por fitotoxinas naturais, produzidas por

plantas ou microrganismos, e de derivados sintéticos a serem empregados como herbicidas naturais, mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente. A descoberta de herbicidas tem se tornado cada vez mais difícil, principalmente para a obtenção de substâncias quimicamente sintetizadas de alta especificidade, produtos preferencialmente sistêmicos e com taxa de risco/benefício aceitável, do ponto de vista ambiental (PERES et al., 2004). Lipinska e Harkot (2007) afirmam que o conhecimento de interações alelopáticas pode ser usado em agrossistemas como uma ferramenta para aprimorar os meios de produção e de rendimento e que é preciso atentar para os mecanismos envolvidos nessas interações.

Devido à maioria dos herbicidas aplicados no solo serem particularmente hidrossolúveis, compostos naturais com propriedades físico-químicas similares tendem a ser mais efetivos na inibição do crescimento de plantas, ao longo do tempo. Os compostos lipossolúveis, por sua vez, não são lixiviados rapidamente, nem prontamente particulados nas membranas. Assim, a sua presença na solução do solo é eventual, e quantitativamente menor, mas não os limita de atingir as membranas de espécies alvo através da solução do solo, e assim desempenhar seu papel (INDERJIT & DUKE, 2003). Sob condições naturais, ou pelo menos quando o substrato é solo, os efeitos de aleloquímicos podem sofrer modificações, muitas vezes sendo atenuados devido às forças de adsorção do solo (AIRES et al., 2005).

A introdução de substâncias alelopáticas no ambiente ocorre por diversas vias, como a lixiviação das partes aéreas, exsudação das raízes, decomposição de tecidos mortos, volatilização e incorporação de detritos ao solo (INDERJIT & DUKE, 2003; MÜLLER et al., 2007; GOLDFARB et al., 2009). Os trabalhos de Inderjit et al. (1997) e Inderjit e Keating (1999) e Inderjit e Weston (2003), revisados por Inderjit e Duke (2003) constataram evidências de que a liberação de aleloquímicos ocorre pela incorporação de tecidos vegetais mortos ao solo e que os exsudados de raízes são fontes comuns de aleloquímicos com potente atividade biológica. As substâncias alelopáticas encontram-se distribuídas em concentrações variadas e diferentes partes da planta durante o seu ciclo de vida (periodicidade) (GOLDFARB et al., 2009). Por conta disso, a introdução destas substâncias no ambiente pode variar de acordo as condições ambientais.

Investigações sobre o potencial alelopático de espécies geralmente se iniciam com observações de campo que indiquem uma mudança no padrão da vegetação. Para muitos ecologistas, o estabelecimento de comunidades monoespecíficas de plantas na sua área natural sugere a ocorrência de processos alelopáticos. Certas espécies invasoras também se tornam

bem sucedidas num ambiente distinto daquele que lhes é original, se estabelecendo em conjuntos puros. O fato é atribuído à liberação de toxinas pela planta, dificultando ou inviabilizando o estabelecimento de outras espécies em sua proximidade (HIERRO & CALLAWAY, 2003). Este comportamento pode ser interpretado como um mecanismo de bloqueio alelopático da sucessão vegetal (MÜLLER et al., 2007). Ao liberar seus aleloquímicos no solo, uma planta pode reduzir o crescimento das vizinhas e assim aumentar suas chances de acesso aos recursos até então compartilhados, podendo também propiciar maior adaptação evolutiva (GOLDFARB et al., 2009).

Certas espécies de pteridófitas exibem um padrão de dominância, compondo associações praticamente puras, onde poucas espécies coexistem (PERES et al., 1998; FARIAS et al., 2007; MÜLLER et al., 2007). Nestes locais, as espécies associadas parecem ser severamente inibidas e, muitas vezes, excluídas dos aglomerados de samambaias. Espécies de pteridófitas que se destacam como exemplo deste mecanismo são *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Gleissman & Muller 1978) e as Gleicheniaceae *Gleichenia pectinata* (Willd.) (PERES et al., 1998) e *Dicranopteris linearis* (Burm. f.) Underw (SILVA, 2007).

A formação de aglomerados monoespecíficos foi documentada para *D. linearis* e atribuída à liberação de compostos do metabolismo secundário dessas plantas para o solo (GLIESSMAN & MULLER, 1978, citados por SOARES & VIEIRA, 2000). Pesquisas subseqüentes constataram que após três anos de remoção da espécie *D. linearis*, 40% da área anteriormente ocupada continuavam sem qualquer cobertura vegetal (RUSSEL et al., 1998, citados por TET-VUN & ISMAIL, 2006). Os autores verificaram que a diferença entre solo colonizado por *D. linearis* e o solo testemunha consistiu apenas do conteúdo de fenóis totais.

*Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. (Gleicheniaceae) apresenta ampla distribuição por toda a América Tropical, devendo provavelmente ocorrer em todos os estados do Brasil, geralmente ocupando locais abertos com solo pobre e úmido, ocorrendo predominantemente em densas formações. As frondes podem atingir até três metros de comprimento, possuindo lâminas pseudodicotômicas com uma gema dormente na bifurcação dos ramos (WINDISH, 1994).

Estudos alelopáticos com espécies de Gleicheniaceae descrevem o uso de extratos de diversas propriedades químicas sobre etapas do desenvolvimento de espécies bioindicadoras (SOARES & VIEIRA, 2000; FARIAS et al., 2007; MÜLLER et al., 2007; CAMPOS et al., 2008). Extratos aquosos de frondes verdes e senescentes de *D. flexuosa* exerceram efeito

inibitório sobre sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), sendo possível que o processo de produção e liberação de compostos alelopáticos nesta espécie ocorra, principalmente, através de tecidos vivos, já que os extratos de frondes verdes foram inibidores mais potentes quando comparados com extratos de frondes maduras (SOARES & VIEIRA, 2000). Embora existam alguns estudos sobre o potencial alelopático de pteridófitas, são escassos os registros de investigações sobre frondes verdes férteis e estéreis de Gleicheniaceae como fontes doadoras de aleloquímicos (MORAES & GARCIA, 2007), e nenhuma das referências consultadas testou espécies infestantes como alvo. Também não se teve acesso a trabalhos que tenham testado potencial de extratos aquosos de *D. flexuosa* em solo. Aires et al. (2005) e Kaur et al. (2009) ressaltam que experimentos que usam solo como substrato são essenciais para confirmar a validade dos resultados obtidos para os experimentos *in vitro* e tornam-se fundamentais quando se pretende estender ao campo resultados e interpretações obtidos nos bioensaios precedentes.

Considerando-se as características peculiares à família e ao gênero, e também os trabalhos relatados na literatura, *D. flexuosa* constitui-se numa fonte potencial de aleloquímicos a ser investigada. Assim, o presente estudo teve como objetivo testar o potencial alelopático dos extratos aquosos de *D. flexuosa* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial das espécies infestantes de culturas *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. (Poaceae), *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donnell (Convolvulaceae) em substrato de papel filtro. Objetivou-se também avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial de alface, usando como substratos o solo pré ocupado por populações naturais de *D. flexuosa*, e solo cultivável tratado com extratos e pulverizado de folhas de *D. flexuosa*, esterilizados e não esterilizados.

### **Material e Métodos**

**Coleta** - Os exemplares de *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. foram coletados na área de reserva legal do *campus* da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brasil (21°58'0.8''S e 47°53'10''W). A área é um fragmento de vegetação nativa, estendida por cerca de 150 hectares. Também foram coletados exemplares nas dependências do Parque Ecológico de São Carlos Dr. Antônio Teixeira Vianna, situado às coordenadas de 21° 59'03''S e 47°52'31''W. Em ambos os locais de coleta, as populações de *D. flexuosa*

ocorrem em formações de mata galeria. As coletas ocorreram nos meses março no primeiro local e em setembro no segundo, de acordo com a necessidade do material para experimentos e disponibilidade no ambiente natural. Exsiccatas foram incorporadas ao acervo do Departamento de Botânica da UFSCar (HUFSCar), sob os números 7506 e 7507. Todos os bioensaios ocorreram nos Laboratórios de Sistemática e Ecologia Química, e de Sementes, ambos do Departamento de Botânica – UFSCar.

**Preparação dos extratos** - As frondes verdes maduras tiveram seus folíolos separados e triados de acordo com seu estado fenológico – fértil ou estéril – pela presença ou ausência de estruturas reprodutivas (soros). Os ramos foram levados à estufa de secagem a 40°C, até a estabilização da massa (cerca de 80 horas). Os materiais foram triturados em moinho mecânico e congelados até sua utilização. As frondes férteis passaram pelo processo de moagem com os soros. Para preparo dos extratos, o material botânico foi homogeneizado em água destilada na proporção 1:9 massa/volume. As misturas foram levadas à geladeira, e após descanso de 24 horas, foram filtradas com duas folhas de papel filtro (80g.m<sup>-2</sup>, 205µm), obtendo assim os extratos aquosos brutos de frondes estéreis (FE) e frondes férteis (FF), de concentração 10%. Após a filtragem, foram preparadas as diluições de 5% e 2,5%, a partir de frações da primeira concentração obtida.

Os potenciais hidrogeniônico (pH) e osmótico de cada um dos extratos foram medidos, e depois comparados com informações na literatura.

Constatadas as diferenças entre os desempenhos dos extratos FE e FF sobre a germinação e crescimento das espécies infestantes, testaram-se extratos aquosos de soros sobre a germinação das espécies infestantes. Para determinar a quantidade de soros, frondes férteis foram secas em estufa (40°C) e pesadas. Em seguida, todos os soros foram retirados manualmente e as frondes foram repesadas. Da diferença entre as pesagens, inferiu-se a proporção em massa de soros e calculou-se a proporção de soros no material pulverizado FF utilizado para o extrato bruto, e sequencialmente, para as diluições. A partir daí, seguiram as etapas de extração, filtragem e diluição com a mesma metodologia descrita para os extratos aquosos das frondes. Os extratos de soros foram aplicados em concentração proporcional àquela existente na composição nos extratos FF.

**Testes de Germinação e Crescimento (desenvolvimento) inicial de plântulas de espécies infestantes** - Os extratos aquosos de *D. flexuosa* foram testados sobre sementes das

espécies infestantes *Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia* e *Euphorbia heterophylla*, obtidas comercialmente e mantidas em geladeira até a sua utilização.

As sementes de *I. grandifolia* apresentam dormência física. Assim, foram escarificadas através do método químico, submergindo-as em sulfúrico ( $H_2SO_4$ PA) puro, por 4 minutos (AZANIA et al., 2003) e secas em temperatura ambiente até a utilização.

Todas as concentrações dos extratos FF e FE foram empregadas sobre todas as espécies receptoras. Portanto, cada uma das espécies-alvo recebeu 6 tratamentos (extratos FF e FE de *D. flexuosa* nas concentrações de 10%, 5% e 2,5%) mais o controle, com água destilada. Cada amostra consistiu de 30 sementes para a germinação e 10 para o crescimento da radícula e do hipocótilo/coleótilo.

**Germinação** - Para os testes de germinação foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Cada placa foi lavada com água destilada, recebeu dois discos de papel filtro (80 g m<sup>-2</sup>, 205 µm.) e foram esterilizadas em microondas, por 4 minutos em potência máxima. Cada placa recebeu 5 mL do respectivo extrato e 30 sementes da respectiva espécie alvo. As placas com as sementes e extratos foram incubadas em câmara climatizada (estufa BOD), sob temperatura de 28°C e alternância de fotoperíodo de 12 horas. Foram feitas 5 réplicas para cada tratamento e controles.

Durante o período de escuro, as placas foram expostas à luz apenas durante as contagens, realizadas periodicamente de 12 em 12 horas, até a 192<sup>a</sup> hora. Como parâmetro para germinação, foi adotado o tamanho mínimo de 2 mm de protrusão radicular (BRASIL., 1992). Os indivíduos germinados em cada período entre leituras foram retirados das placas, evitando recontagem. Para todos os tratamentos e replicas foram feitas cinco réplicas.

Para determinar a influência do potencial osmótico dos extratos, foi realizado um bioensaio de germinação com sementes das espécies infestantes em soluções de polietilenoglicol (PEG-6000) com os seguintes valores de potenciais osmóticos: 0, -0.1, -0.2, -0.3, -0.4 MPa segundo especificações de Villela (1991). Este experimento foi realizado utilizando-se a mesma metodologia descrita para os bioensaios de germinação.

**Desenvolvimento inicial de plântulas de espécies infestantes** – Caixas plásticas transparentes (8x13x5cm) foram lavadas e esterilizadas com álcool 70%. Cada caixa recebeu duas folhas de papel filtro (80 g m<sup>-2</sup>, 205 µm.) previamente autoclavadas e 12 mL do

respectivo extrato. Novamente, foram aplicados os 6 tratamentos com extratos, mais controle em água destilada. Para cada tratamento e controle foram feitas 5 réplicas.

O intervalo entre a sementeira e germinação varia de espécie para espécie. A transferência das sementes de *I. grandifolia* (escarificadas) e de *E. heterophylla* deu-se 24 horas após sua sementeira em água destilada, e as sementes de *E. crus-galli* requereram 72 horas para emitirem minimamente 2 mm de qualquer parte do embrião. Assim que as sementes pré-germinadas em água atingiram o tamanho de  $3 \pm 1$  mm, 10 unidades foram transferidas para cada caixa com o respectivo tratamento (RIBEIRO et al., 2009). A partir da transferência das plântulas para as caixas com extratos, estabeleceu-se o período 120 horas a para que fossem tomadas as medidas de raiz (do ápice até a base radicular) e da parte aérea (da base do caule até o ápice das folhas) de cada indivíduo, com auxílio de um paquímetro. Todos os indivíduos foram medidos.

**Experimento de emergência em solo** – para este bioensaio, o material foi coletado no mês de setembro. Os tratamentos foram obtidos a partir de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, indistintamente. Dois tipos de substrato foram utilizados: uma porção de solo de onde foram coletados exemplares de *D. flexuosa*, e um solo cultivável obtido na horta do departamento de Botânica da UFSCar. A coleta do substrato na área da população de *D. flexuosa* deu-se após a coleta das frondes, a uma profundidade média de 0,2 a 0,4m, e com a camada superior do solo removida. O substrato cultivável estava disponível em grãos grossos, e sem adição de fertilizante ou matéria orgânica. Ambos os tipos de substrato foram peneirados em peneira de malha nº 6, e secos em temperatura ambiente.

Cada um dos tipos de solo teve uma fração autoclavada (120° C por 40 minutos), com objetivo de eliminar os microrganismos originais do solo e a fim de comparar o desempenho dos tratamentos na presença e ausência de microrganismos (KAUR et al., 2009). Assim, obtivemos substratos esterilizados e não esterilizados. Os controles foram feitos usando o solo cultivável, nas modalidades estéril e não estéril, e água destilada.

As frondes foram secas em estufa e trituradas em moinho e uma fração do material pulverizado foi homogeneizada em água destilada na proporção 1:9 massa/volume, como descrito nos bioensaios iniciais. Cada vaso a ser tratado com extrato recebeu 50g de solo cultivável e 20 mL de extrato 10%. O tratamento com material pulverizado consistiu em misturá-lo aos substratos cultiváveis esterilizados e não esterilizados, ambos na concentração de 3% massa/massa e adição de 50g da mistura em cada vaso. Em seguida, 4 diásporos de

*Lactuca sativa* L. (alface) foram semeados em 6 vasos de cada tratamento e também nos conjuntos de vasos controle. Depois de irrigados pela base (OLIVEIRA et al., 2004), todos os vasos foram incubados em estufa BOD, a 24° C e alternância de fotoperíodo de 12 horas. Todos os vasos, semeados e não semeados, foram incubados no momento inicial e mantidos em iguais condições. Os vasos com substratos estéreis e não estéreis foram incubados em estufas separadas, para evitar interferência por contaminação. Foram tomados como tratamentos: as frondes pulverizadas, o extrato 10% e o próprio substrato proveniente da área de coleta de *D. flexuosa*, todos eles na modalidade E e NE. Para todos os tratamentos e controles foram feitas 6 réplicas, usando vasos plásticos de capacidade 125 mL.

Os vasos semeados no início do experimento foram designados por D0. As sementeiras subsequentes foram realizadas 2, 4, 8, 16 e 32 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo cada grupo respectivamente denominado D2, D4, D8, D16 e D32. A cada 24 horas, todos os vasos foram irrigados pela base e, nesta ocasião registrou-se o número de sementes emergidas do solo em cada vaso. Estabeleceu-se como período de crescimento das plântulas o intervalo de 10 dias (AIRES et al., 2005), contados do dia de semeadura. Ao final deste período, as respectivas plântulas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e lavadas em água destilada. Cada plântula teve suas medidas de raiz e parte aérea tomadas com um paquímetro.

Para todos os ensaios (germinação, desenvolvimento inicial de plântulas e emergência em solo) o delineamento experimental foi totalmente casualizado. A análise dos dados foi feita pelo teste Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ), comparando cada parâmetro de cada tratamento em relação ao controle. No experimento de emergência em solo, os valores de tempo médio e de crescimento foram desconsiderados para aqueles tratamentos em que não houve germinação em pelo menos de 3 réplicas. Quando houve germinação em mais de três, mas não na totalidade das réplicas, as médias foram ajustadas a estes valores e só então analisadas estatisticamente.

## **Resultados e discussão**

Os extratos brutos FF e FE exibiram valores de pH a 4,57 e 4,6, e de potencial osmótico iguais e -0.26 e -0.24MPa, respectivamente. A interferência dos pH dos extratos sobre a germinação foi descartada, pois, para que isso ocorra são necessário valores extremos (SOUZA FILHO et al, 1996, citados por RIBEIRO et al., 2009). Os potenciais osmóticos dos

extratos não interferiram significativamente no processo de germinação. No entanto, para *E. crus-galli*, constatou-se o atraso da germinação sob tratamento com PEG 6000 na faixa osmótica correspondentes ao extrato FF10% (-0.3 MPa). Isso deve-se ao fato de a germinação ser muito sensível a soluções de concentração superior à 100 mOsm, logo extratos vegetais com osmolaridades similares ou superiores podem afetar a germinação, independentemente de suas propriedades fitotóxicas (GATTI et al., 2008). Diversos trabalhos empregaram esta metodologia como uma forma de segregar os efeitos provenientes da osmolaridade, daqueles provenientes da fitotoxicidade propriamente dita (GATTI et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; GATTI et al., 2008; RIBEIRO et al., 2009).

Neste trabalho, observou-se que os efeitos causados por este tratamento foram mais severos do que os causados pela mesma concentração do extrato FE (de osmolaridade correspondente à faixa de -0.2 MPa), quando comparados estatisticamente. Assim, as respostas observadas na germinação de *E. crus-galli* frente ao tratamento com extrato FF 10% devem-se, ao menos parcialmente, à sensibilidade desta espécie ao potencial osmótico do extrato. *E. heterophylla* e *I. grandifolia* não mostraram suscetibilidade às concentrações osmóticas dos extratos aquosos.

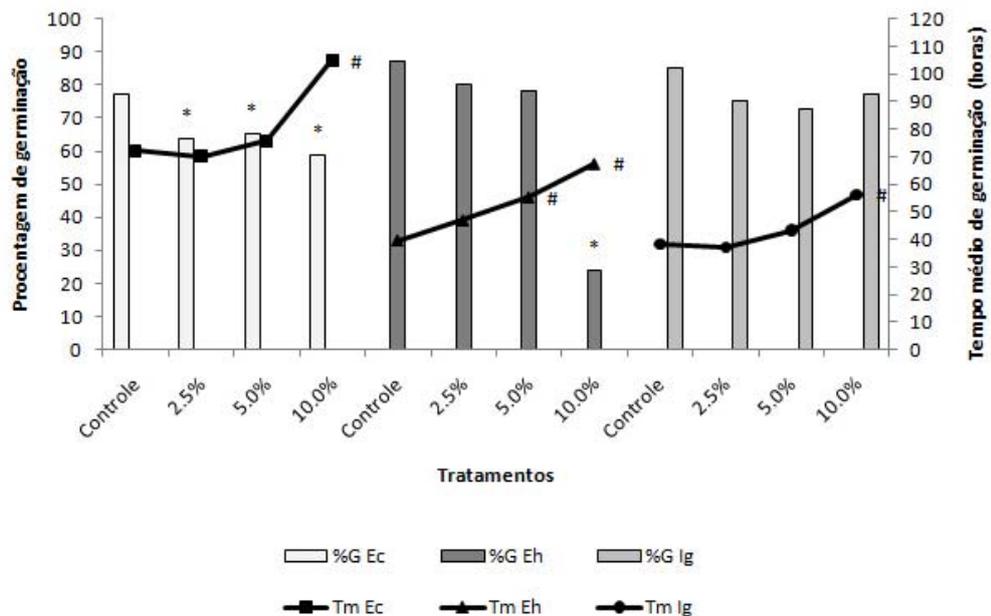


Figura 1. Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes férteis de *D. flexuosa*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. . \* = diferença significativa de %G em relação ao controle, # = diferença significativa de Tm em relação ao controle.

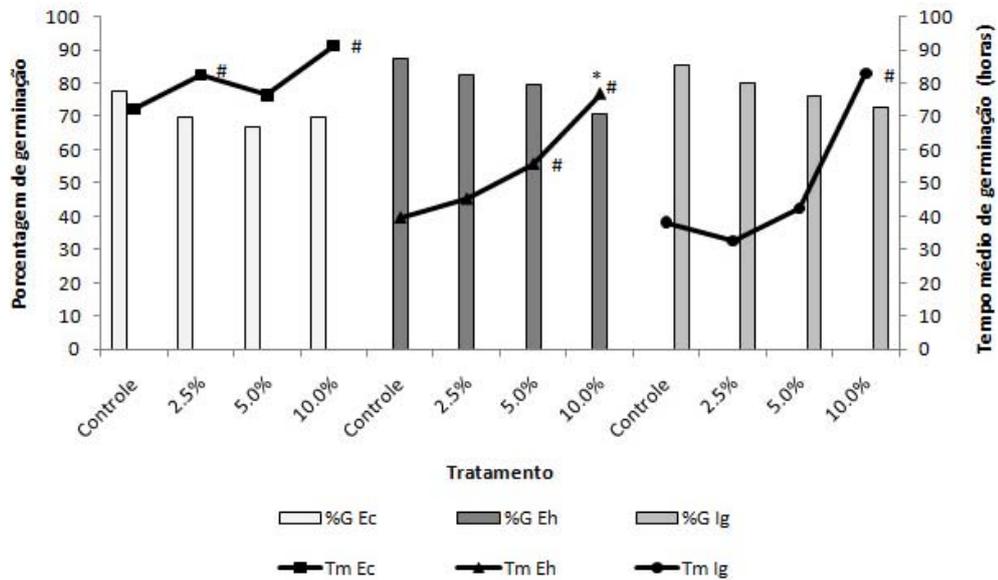


Figura 2. Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes estéreis de *D. flexuosa*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença significativa de %G em relação ao controle, # = diferença significativa de Tm em relação ao controle.

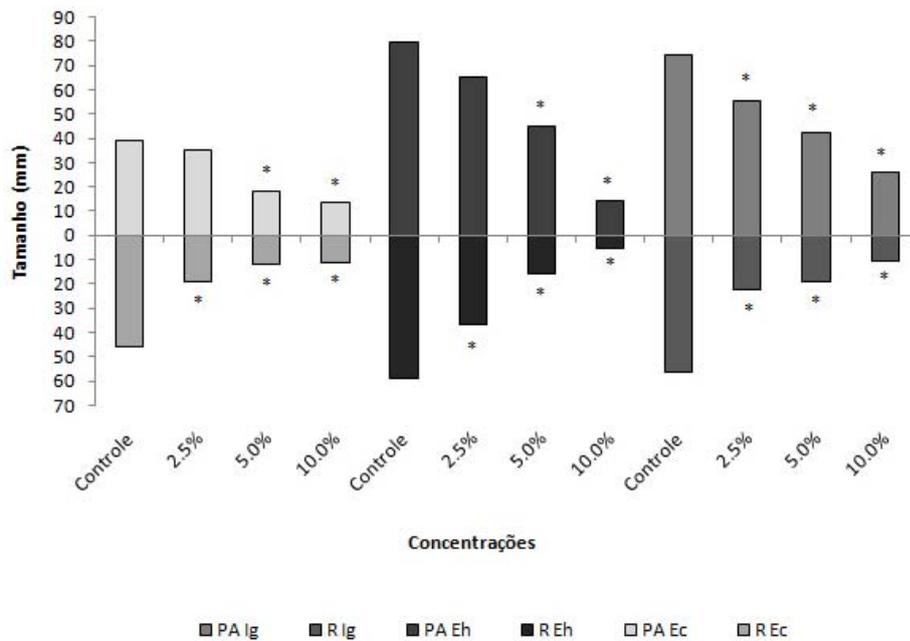


Figura 3. Valores médios de comprimentos radicular e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes férteis de *D. flexuosa*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

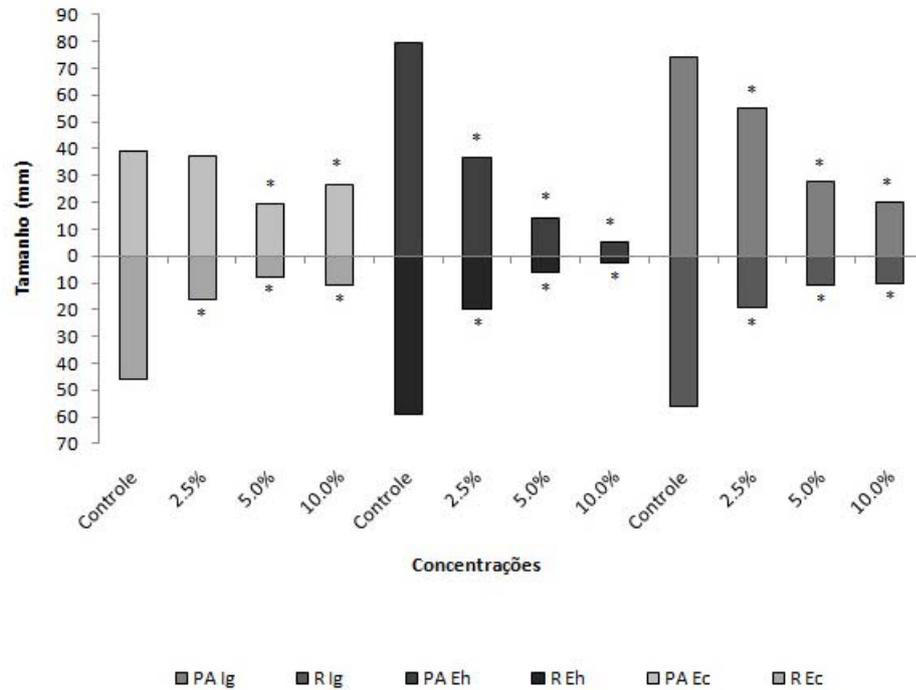


Figura 4. Valores médios de comprimentos radicular e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes estéreis de *D. flexuosa*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

***Echinochloa crus-galli*** – Todas as concentrações do extrato FF reduziram a porcentagem de germinação. A concentração 10% atrasou a germinação (Figura 1). Todas as concentrações diminuíram os tamanhos radiculares e totais, e as concentrações de 5 e 10% reduziram as partes aéreas, e reduziram o tamanho total das plântulas (Figura 3 e 5).

O extrato FE 10% atrasou a germinação, enquanto a concentração 2,5 acelerou o processo (Figura 2). Todas as concentrações do extrato diminuíram os tamanhos radiculares e totais, enquanto 5 e 10% reduziram as partes aéreas (Figuras 4 e 5).

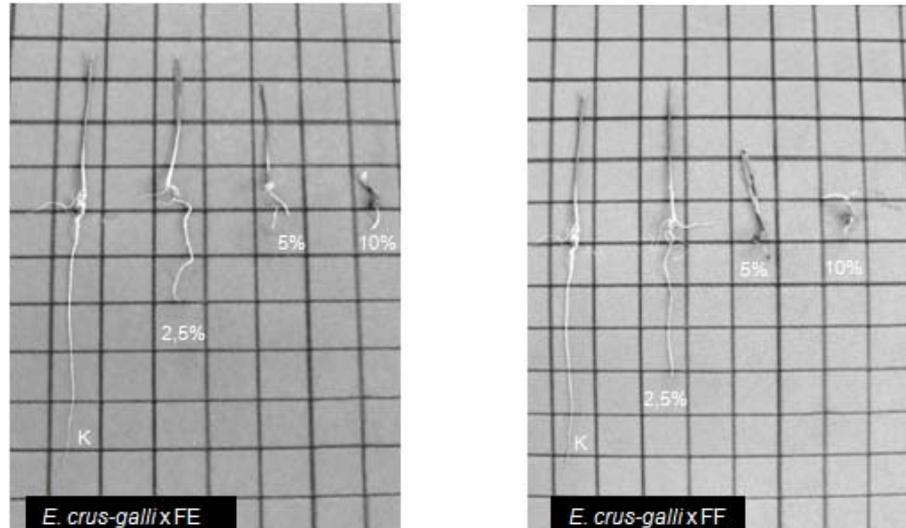


Figura 5. Anormalidades de plântulas de *E. crus-galli*, quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. K= controle. Intervalos da grade = 1cm.

*Euphorbia heterophylla* – Tanto o extrato FF quanto o FE, nas concentrações de 5 e 10%, atrasou a germinação, e a maior concentração diminuiu a porcentagem de germinação (Figuras 1 e 2). Todas as concentrações de FF diminuíram os tamanhos radiculares das plântulas, e os extratos 5 e 10% reduziram suas partes aéreas e os tamanhos totais das plântulas (Figura 3 e 6). Todas as concentrações do extrato FE causaram diminuição das raízes e das partes aéreas, e também dos tamanhos totais das plântulas (Figuras 4 e 6).

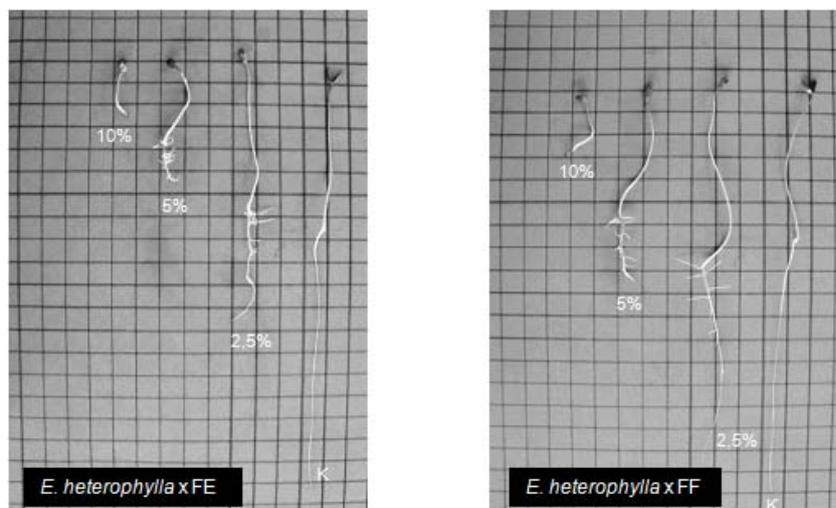


Figura 6. Diferenças entre os tamanhos de plântulas de *E. heterophylla*, quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. K= controle. Intervalos da grade = 1cm.

*Ipomoea grandifolia* – As respostas observadas para a espécie *I. grandifolia* foi semelhante em ambos os extratos. A concentração 10% de FF e FE causaram atraso da germinação (Figuras 1 e 2). A espécie *I. grandifolia* foi a mais sensível à ação dos extratos quanto aos parâmetros de desenvolvimento inicial. Todas as concentrações, de ambos os tratamentos, causaram redução de todos os órgãos e tamanhos totais das plântulas. (Figuras 3, 4 e 7).

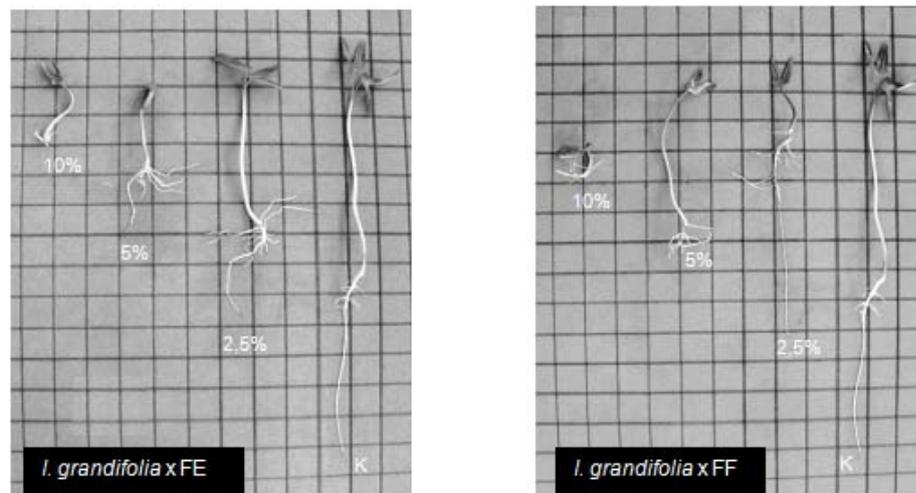


Figura 7. Anormalidades de plântulas de *I. grandifolia*, quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *D. flexuosa*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. K= controle. Intervalos da grade = 1cm.

Os extratos FE a 10% exerceram efeito inibitório significativo sobre a germinação, diminuindo sua porcentagem para as sementes de todas as espécies receptoras. Resultados semelhantes foram obtidos para extratos aquosos de frondes estéreis de *Sticherus lanuginosus* sobre a germinação de alface, onde a inibição da germinação foi total (MORAES & GARCIA, 2007).

Quando submetidas aos extratos aquosos de soros, as sementes das espécies infestantes apresentaram germinação estatisticamente semelhante ao controle, sem qualquer interferência na porcentagem ou no tempo médio, portanto não afetadas pela presença dos extratos aquosos de soros (Figura 8).

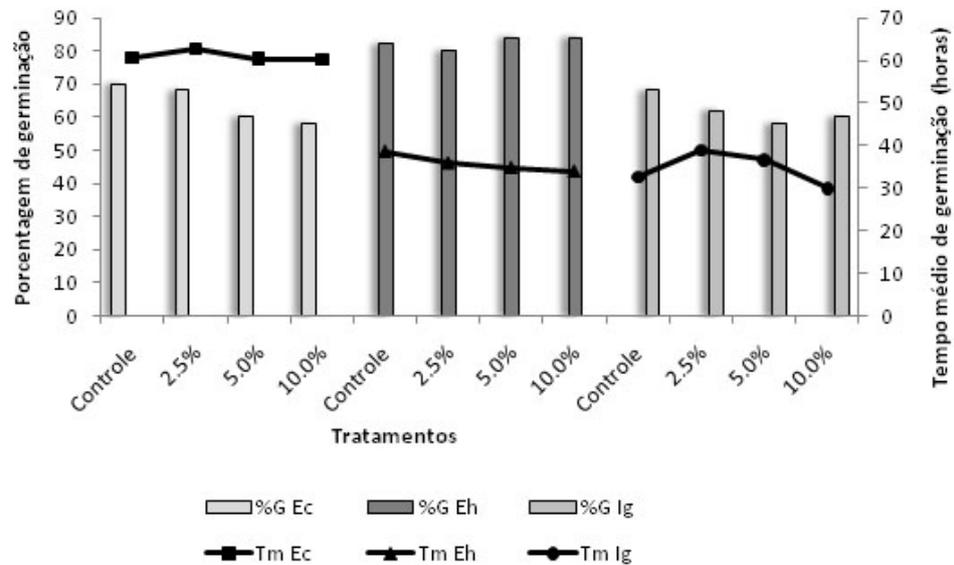


Figura 8. Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de soros, obtidos de frondes férteis de *D. flexuosa*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*.

*Echinochloa crus-galli*, popularmente chamado de capim-arroz, é considerada uma das espécies infestantes mais problemáticas da cultura do arroz irrigado. Apresenta ampla distribuição nas lavouras, crescimento competitivo e similaridades morfológicas com as plantas do arroz, o que dificulta a aplicação de métodos alternativos de controle (ANDRES et al., 2007). Altas infestações de capim-arroz podem causar reduções de até 90% no rendimento de grãos da cultura do arroz (ASPIAZÚ et al., 2008). A resistência de *E. crus-galli* é descrita para o composto quinclorac, muito utilizado para o controle da espécie. A resistência foi comprovada e passou a ser documentada de 1999 em diante (ANDRES et al., 2007) em regiões orizícolas. Os mesmos autores atribuem às plântulas desta espécie maior sensibilidade de partes aéreas, através das quais se dá o controle químico, em detrimento das raízes. Nesta perspectiva, os extratos FF e FE foram muito bem sucedidos, pois afetaram as raízes em todas as concentrações dos tratamentos. Além da espécie infestante *E. crus-galli*, *E. heterophylla* também apresenta biótipos resistentes à tratamentos químicos documentados na região Sul do país (GELMINI et al., 2001; ANDRES et al., 2007).

Os efeitos observados para plântulas e sementes de *E. heterophylla* tratadas com extratos de *D. flexuosa* (Figuras 1 a 4) mostraram sua sensibilidade aos componente dos extratos, principalmente nas maiores concentrações. As maiores concentrações afetaram a

germinação. Observou-se redução do comprimento radicular em todas as concentrações de tratamento, e das partes aéreas nas concentrações 5% e 10% dos extratos FF e FE. Este é um resultado interessante, que merece ser melhor investigado uma vez que esta espécie infestante apresenta biótipos resistentes a certos herbicidas inibidores da enzima ALS (acetolactato sintase) (VIDAL & WINKLER, 2004; HERNANDES et al., 2005; ANDRES et al., 2007).

A espécie *I. grandifolia*, infestante de lavouras, é descrita como tolerante ao tratamento repetitivo com Glyphosate® em certas regiões do Brasil. (MONQUERO & CRISTOFFOLETI, 2003). Os mesmos autores constataram controle insatisfatório da espécie pelo glifosato, diagnosticando inclusive o agravamento temporal das infestações pela possível predominância desta espécie e de outras infestantes experimentadas, em relação às demais. A produção de numerosas sementes e a característica de dormência, graças à impermeabilidade do tegumento à água, acarreta germinação dispersa ao longo do tempo. Essa característica dificulta o controle não só de *I. grandifolia*, mas de diversas outras espécies do gênero. Isso porque os herbicidas eficazes no controle dessas espécies infestantes possuem ação residual restrita, que dificilmente supera os 180 dias de persistência no solo. Devido a esse fato, os produtores precisam, dependendo do grau de infestação, intervir com o controle químico mais vezes durante o ciclo da cultura – intervenções estas em que geralmente se utilizam herbicidas que deveriam possuir modos de ação diferentes, a fim de minimizar prováveis problemas com resistência de plantas daninhas aos herbicidas (AZANIA et al., 2009).

*E. heterophylla* e *I. grandifolia* estão principais entre as espécies infestantes das culturas de cana de açúcar. O uso de resíduos da própria colheita da cana para cobrir o solo é uma forma de controlar pragas, e vem sendo largamente adotada nos cultivos de cana por seus diversos benefícios. De acordo com Velini e Martins (1998) e Martins et al. (1999), citados por Christoffoleti et al. (2007), este método promove excelente controle de espécies infestantes da família Poaceae e de dicotiledôneas cujas sementes são pequenas. Entretanto, dicotiledôneas com sementes maiores, como *E. heterophylla* e *I. grandifolia*, mostraram-se pouco sensíveis à presença da cobertura vegetal dos resíduos da cana.

Quando avaliados os efeitos dos extratos de *D. flexuosa* no desenvolvimento inicial das espécies alvo, constatou-se que o crescimento radicular foi o parâmetro mais sensível à ação dos extratos (Figuras 3 e 4). Todas as concentrações de ambos os extratos interferiram no crescimento das raízes. Observaram-se nas plântulas germinadas diversos sintomas causados pela toxicidade (Figuras 5, 6 e 7). Dentre as anormalidades, observou-se o aparecimento de muitas raízes laterais, inversão do gravitropismo e a principal e mais recorrente foi a necrose

do ápice radicular. Moraes e Garcia (2007) observaram os mesmos sintomas para as espécies alvo em sua pesquisa. Resultados semelhantes foram constatados por Peres et al (2004) ao investigarem o potencial alelopático de cinco espécies de Pteridaceae.

Neste trabalho, os extratos FF e FE tiveram desempenhos diferentes sobre as etapas do desenvolvimento. FF exerceu maior interferência no tempo médio e na porcentagem de germinação das sementes, enquanto que o extrato FE exerceu maior interferência nos experimentos de crescimento e desenvolvimento inicial das plântulas. Concentrações 5 e 10% atrasaram mais a germinação e observou-se que a maioria das sementes que permaneceram na placa sem germinar entraram em processo de decomposição, evidenciado pela presença de fungos sobre as mesmas (Figura 9).

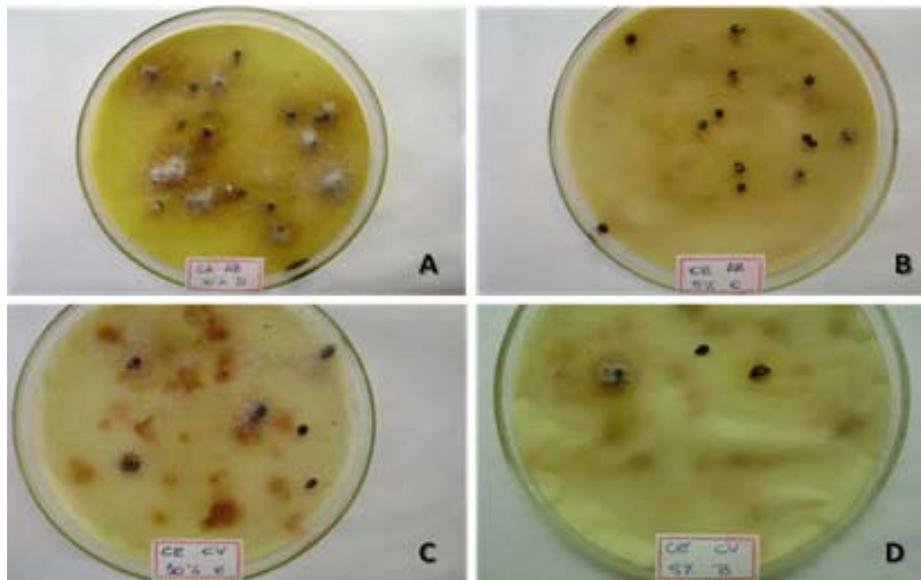


Figura 9. Evidências da decomposição de sementes não germinadas após 192 horas de exposição aos tratamentos de frondes férteis de *D. flexuosa*. A) sementes *E. heterophylla* x FF 10%. B) sementes de *E. heterophylla* x FF 5%. C) sementes de *I. grandifolia* x F 10%. D) sementes de *I. grandifolia* x FF 5%.

Os resultados obtidos no experimento de solo estão resumidos na tabela 1.

**Tabela 1.** Valores médios de porcentagem e tempo médio de emergência e de crescimento inicial de *L. sativa* submetidas a diferentes fontes de aleloquímicos de *D. flexuosa*. SDF= solo anteriormente colonizado por *D. flexuosa*. SC = solo cultivável. Os dados foram comparados pelo teste Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ). s = diferença significativa em relação ao respectivo controle. - = dados não comparados estatisticamente ao controle.

	Dias aplicação	após	Emergência (%)	Tempo médio de emergência (horas)	Crescimento (mm)		
					Raiz	Parte Aérea	Total
Controle Estéril		0	62,5	108	19,96	48,81	68,76
Controle Não Estéril		0	87,5	61,67	28,01	68,22	72,14
Solo SDF	Estéril	D0	8,33 s	-	-	-	-
		D2	54,17	116	11,31 s	26,67 s	37,98 s
		D4	45,83	131,33	12,41 s	32,66 s	40,03 s
		D8	45,83	99	10,94 s	33,69 s	39,62 s
		D16	87,5	119,33	20,33	39,33	48,69
		D32	83,33	108,67	16,38	34,74 s	42,58
	Não estéril	D0	0	-	-	-	-
		D2	8,33 s	-	-	-	-
		D4	4,17 s	-	-	-	-
		D8	4,17 s	-	-	-	-
		D16	12,5 s	-	-	-	-
		D32	12,5 s	-	-	-	-
SC + Extrato 10%	Estéril	D0	12,5 s	132	-	-	-
		D2	62,5	77,33 s	12,15	52,69	57,54
		D4	16,67 s	88 s	15,93 s	49,70	65,63
		D8	20,83 s	116	20,31	48,78	70,09
		D16	79,17	89,67 s	24,39 s	56,61	64,46
		D32	58,33	74,33 s	20,31	49,78	70,09
	Não estéril	D0	29,17 s	112 s	12,46 s	43,98 s	51,13
		D2	41,67 s	86	20,41 s	50,84	71,25
		D4	54,17	112,67 s	16,12 s	39,34 s	55,45
		D8	50,0 s	65,33	22,37 s	55,81	78,18
		D16	58,33	104,67 s	17,14 s	52,19	69,83
		D32	4,17 s	-	-	-	-
SC + Frondes pulverizadas (3%)	Estéril	D0	0	-	-	-	-
		D2	45,83	68	11,82 s	46,40	58,42
		D4	4,17 s	-	-	-	-
		D8	16,67 s	88	17,0 s	34,97	51,97 s
		D16	4,17 s	-	-	-	-
		D32	54,17	90,67	23,49	56,18	71,43
	Não estéril	D0	8,33 s	-	-	-	-
		D2	16,67 s	116 s	6,31 s	20,89 s	27,20 s
		D4	8,33 s	-	-	-	-
		D8	12,5 s	68	9,71 s	50,36 s	60,07 s
		D16	25,0 s	98 s	13,68 s	43,70	57,38
		D32	8,33 s	-	-	-	-

Embora tenham ocorrido diferentes porcentagens de germinação nos controles, não houve diferença significativa entre as porcentagens de germinação entre os substratos esterilizados e não esterilizados.

Como a germinação é considerada menos sensível aos aleloquímicos que o crescimento da plântula, a sua quantificação experimental é muito mais simples, pois para cada semente o fenômeno é discreto, germina ou não germina (FERREIRA & ÁQUILA, 2000). Neste experimento verificou-se diminuição da porcentagem de germinação com frequência, por isso os valores de tempo médio e crescimento foram desconsiderados para aqueles tratamentos em que não houve germinação em pelo menos 3 réplicas (lacunas na Tabela 1).

**Solo cultivável tratado com frondes pulverizadas (3%)** - O tratamento com frondes pulverizadas a 3% inibiu a germinação em solos cultiváveis não esterilizados de D0 a D32. Constatou-se diferença significativa no aumento do tempo médio para germinação do 2º e 16º dias após aplicação do tratamento. Para todos os tamanhos radiculares houve diminuição significativa, e para aquelas sementes cujos tempo médio não foi significativo, constatou-se redução de todos os órgãos e tamanhos totais. Quando aplicado em solo estéril, o tratamento inibiu a germinação a partir de D4 a D16. Houve redução do tamanho das raízes para as plântulas de D2 e dos tamanhos radiculares e totais para as de D8

**Solo anteriormente colonizado por *D. flexuosa*.** - No substrato esterilizado observamos decréscimo inicial da porcentagem de germinação (D0), e redução de todos os órgãos e tamanhos totais para as plântulas de D2 a D8, e das partes aéreas para as plântulas de D32. O processo de esterilização por autoclavagem está relacionado a uma variação brusca de temperatura. Durante o processo, além da eliminação da microbiota, pode ter ocorrido a perda de bioatividade dos aleloquímicos do solo. Já no solo não esterilizado, todas as porcentagens de germinação foram sensivelmente menores que o respectivo controle. As populações de microrganismos no substrato não autoclavado devem estar em equilíbrio, mantendo a integridade do solo e viabilizando que a inibição da germinação se mantivesse ao longo dos 32 dias. Além disso, a quantidade de aleloquímicos acumulada naturalmente no solo parece ser maior que aquelas presentes nos demais tratamentos, causando efeitos inibitórios mais severos na própria germinação.

**Solo cultivável tratado com extrato aquoso 10%** - No solo não esterilizado tratado com extrato 10%, a maioria das porcentagens de germinação variou em relação ao controle e

ao longo dos dias após a aplicação do tratamento. A intermitência de inibição entre os períodos de semeadura pode ser devida à instabilidade das populações de microrganismos, provocada pela ação do extrato, que resulta na oscilação dos efeitos sobre a germinação (Tabela 1).

As porcentagens de germinação observadas para os solos estéreis SDF e o com extrato 10%, aumentam a partir de D4. Dentre os D32 destes tratamentos, ocorreu maior porcentagem de germinação em solo de *D. flexuosa*, para o qual se supõe a perda de atividade dos aleloquímicos. É possível que a inibição verificada no solo esterilizado de *D. flexuosa* seja proveniente de dois fatores: perda de atividade dos aleloquímicos e remoção da microbiota, pois o solo cultivável estéril tratado com extrato (aleloquímicos não desintegrados pela autoclavagem) apresentou menores porcentagens de germinação. Uma vez que a inativação dos aleloquímicos resultou apenas em interferência parcial, a microbiota em questão deve desempenhar função de amplificar o efeito tóxico dos aleloquímicos. Este comportamento foi um padrão entre todos os tratamentos, pois em substrato não esterilizado os efeitos foram sempre mais severos para todos os tratamentos. De acordo com esta possibilidade e com os resultados observados para este experimento, verificou-se que a presença de microrganismos no solo é muito importante e, neste caso particular, determina maior toxicidade aos efeitos dos aleloquímicos.

Para KAUR et al. (2009), a alta disponibilidade de um químico para espécies alvo em experimentos *in vitro* deve decrescer a níveis atóxicos depois de sua introdução no solo. No caso destes autores, a substância em questão tornava-se mais escassa e ineficiente quando transformada pela microbiota. Para Harbone (1997), citado por Lipinska e Harkot (2007) a atividade da microbiota medeia a interação de compostos alelopáticos com o ambiente, através da transformação de produtos de plantas particulares em compostos atóxicos ou de toxicidade ainda maior, como verificado para os substratos e tratamentos testados. Além da microbiota, a interação aleloquímicos - ambiente também é condicionada por propriedades físico-químicas do solo e através da habilidade de acoplar compostos orgânicos.

Observou-se para as amostras tratadas com frondes pulverizadas um aumento da compactação do solo com o decorrer do tempo. Um dos efeitos da compactação é a diminuição de oxigênio no solo. A baixa concentração deste elemento é frequentemente associada a espaços limitados entre os poros (solos compactados) e com baixas taxas de difusão de oxigênio ( $\text{g O}_2 \times 10^{-8}/\text{cm}^2 / \text{minuto}$ ). Boas condições de aeração e oxigenação e de

capilaridade do solo são essenciais aos processos de germinação e desenvolvimento radicular (BLUM, 2006). A alteração de compactação e textura do solo pode ser um fator além da toxicidade, impedindo a germinação e dificultando o desenvolvimento das plântulas de alface.

O solo coletado na área ocupada por *D. flexuosa* aparentemente sofreu acúmulo de aleloquímicos pelas diversas vias de acesso destes compostos ao ambiente. Ao serem liberados para a rizosfera, os exsudados de raízes exibem grande impacto ecológico não somente para a própria planta, mas também sobre a macro e microbiota do solo. Também influenciam os microrganismos da rizosfera, alteram a resistência a patógenos, garantem simbioses benéficas, modificam as propriedades químicas e físicas do solo e inibem (ou estimulam) o crescimento de outras espécies (LIPINSKA & HARKOT, 2007; WEIR & VIVANCO, 2008).

De acordo com Inderjit e Weiner (2001), citados por Lipinska e Harkot (2007), as influências diretas da alelopatia parecem ser menos essenciais do que seus efeitos indiretos. A interpretação dos resultados deve ser através de enfoque ecológico sobre o solo e as particularidades das espécies. O fato de que substâncias alelopáticas acumuladas no solo impõem heterotoxicidade já foi documentado para *Dicranopteris linearis*, quando verificado que após 3 anos de remoção da população, havia ainda 40% da área sem qualquer ocupação por outras espécies (TET-VUN & ISMAIL, 2006). Além disso, os autores contataram que os níveis de compostos fenólicos hidrossolúveis no solo infestado por *D. linearis* eram muito superiores àqueles verificados para solo não infestado. Também observaram supressão de crescimento para espécies bioindicadoras.

Quando analisada a composição química de frondes de *D. flexuosa*, resultados de cromatografia em camada delgada e de frações semipurificadas sugeriram a presença de terpenos e compostos fenólicos, e ausência de alcalóides. A presença dos terpenos parece ser uma tendência nas Gleicheniaceae, uma vez que estudos anteriores feitos por Aoki (1997) e Munesada et al. (1992), citados por Silva (2007), isolaram terpenos de *Gleichenia pectinata*, *Dicranopteris linearis* e *D. pedata*, os quais apresentaram potencial alelopático para alface.

Apesar da insensibilidade destas espécies para diversos métodos de controle, químicos ou não, todas elas responderam com sensibilidade aos tratamentos de *D. flexuosa*. Nas maiores concentrações observaram-se os danos mais severos às sementes e plântulas das espécies.

É possível que os tratamentos de *D. flexuosa* resultem em efeitos pré e pós-emergência. A reunião de efeitos pré e pós-emergentes, pode representar grande vantagem dos extratos aquosos de *D. flexuosa* sobre outros tratamentos químicos para o controle das espécies infestantes estudadas. Resta verificar se em condições ambientais de agrossistemas os efeitos descritos neste manuscrito se manifestam, ao menos parcialmente, para as espécies infestantes.

### Conclusões

Tanto os extratos de frondes férteis quanto de frondes estéreis de *D. flexuosa* interferem no crescimento inicial de *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*.

Os aleloquímicos de frondes e de exsudados de *D. flexuosa* afetaram a espécie bioindicadora *L. sativa* em substrato solo, ressaltando que a espécie doadora exerce efeitos de heterotoxicidade também em condições experimentais.

Considerando a toxicidade dos tratamentos sobre espécies infestantes e bioindicadora quando testadas em diferentes substratos, *D. flexuosa* tem grande potencial como uma fonte de compostos químicos para a elaboração de um herbicida verde.

### Referências

- AIRES, S.S., FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamun indicum* L. (Pedaliaceae) em solo, sob três temperaturas. **Acta Botânica Brasilica**, v. 19, p. 339-344, 2005.
- ANDRES, A. et al. Detecção da Resistência de Capim-Arroz (*Echinochloa* sp.) ao Herbicida Quinclorac em Regiões Orizíolas do Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, p. 221-226, 2007.
- ASPIAZÚ, I. et al. Relação colmos/folhas de biótipo de capim-arroz em condições de competição. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, p. 22-30, 2008.
- AZANIA, A.A.P.M. et al. Métodos de Superação de Dormência em Sementes de *Ipomoea* E *Merremia*. **Planta Daninha**, v. 21, p. 203-209, 2003.

AZANIA, C.A.M. et al. Superação da dormência de sementes de corda-de-viola (*Ipomoea quamoclit* e *I. hederifolia*). **Planta Daninha**, v. 27, p. 23-27, 2009.

BLUM, U. Allelopathy: a soil perspective. In: Reigosa, M.J., González, L. **Allelopathy: A physiological Process with Ecological Implications**. Springer, 2006. p. 299-340.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. 1992. 365 p.

CAMPOS, J.M.S. et al. Mutagenic effects due to allelopathic action of fern (Gleicheniaceae) extracts. **Allelopathy J.**, v. 22, p. 2008.

CHOU, C.-H. Introduction to Allelopathy. In: Reigosa, M.J., et al. **Allelopathy: a Physiological Process with Ecological Implications**. Springer, 2006. p. 1-9.

CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. Conservation of natural resources in Brazilian agriculture: Implications on weed biology and management. **Crop Protection**, v. 26, p. 383-389, 2007.

FAO. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/en/item/29402/icode/>>. Acesso em: 18 de Novembro.

FARIAS, C.C. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante e Determinação do Teor de Fenóis Totais em Extratos de Quatro Espécies de Pteridófitas de MS. **30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, v. p. 2007.

FERREIRA, A.G. & ÁQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (Edição Especial), p. 175-204, 2000.

GATTI, A.B., LIMA, M.I.S. & PEREZ, S.C.J.G.A. Allelopathic potential of *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer on the germination and growth of *Lactuca sativa* L. and *Raphanus sativus* L. **Allelopathy J.**, v. 21, p. 73-82, 2008.

GATTI, A.B., PEREZ, S.C.J.G.D.A. & LIMA, M.I.S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntz na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, p. 459-472, 2004.

GELMINI, G.A. et al. Resistência de Biótipos de *Euphorbia Heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da enzima ALS utilizados na cultura de soja. **Bragantia**, v. 60, p. 93-99, 2001.

GOLDFARB, M., PIMENTEL, L.W. & PIMENTEL, N.W. Alelopatia: relações nos agrossistemas. **Tecnologia & Ciências Agropecuárias**, v. 3, p. 23-28, 2009.

HERNANDES, G.C., VIDAL, R.A. & WINKLER, L.M. Levantamento de práticas agrônômicas distribuição geográfica de *Bidens* ssp. resistentes aos herbicidas inibidores da ALS nos estados do Rio Grande do Sul e o Paraná. **Planta Daninha**, v. 23, p. 677-682, 2005.

HIERRO, J.L. & CALLAWAY, R.M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v. p. 29-30, 2003.

HONG, N.H. et al. Paddy weed control by higherplants from Southeast Asia **Crop Protection**, v. 23, p. 255-261, 2004.

INDERJIT & DUKE, S.O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, p. 529-539, 2003.

KAUR, H. et al. **Taking Ecological Function Seriously: Soil Microbial Communities Can Obviate Allelopathic Effects of Released Metabolites**. Disponível em: <<http://www.plosone.org/>>. Acesso em: 20 de abril.

LIPINSKA, H. & HARKOT, W. Allelopathic activity of grassland species. **Allelopathy J.**, v. 19, p. 3-36, 2007.

MACÍAS, F.A. et al. Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick. **Phytochemistry**, v. 52, p. 1999.

MONQUERO, P.A. & CRISTOFFOLETI, P.J. Dinâmica do Banco de Sementes em Áreas com Aplicação Frequente do Herbicida Glyphosate. **Planta Daninha**, v. 21, p. 63 - 69, 2003.

MORAES, L. & GARCIA, Q. **Efeito alelopático de samambaia *Sticherus lanuginosus* (feé) nakai sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de alface**. **Rev. Bas. Agroecologia**, v. 2, p. 970 - 973, 2007.

MÜLLER, C. et al. Potencial Fitotóxico de Algumas Espécies de Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. **Revista Brasileira Biociências**, v. 5, p. 45-47, 2007.

OLIVEIRA, S.C.C., FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. Effect of *Solanum lycocarpum* fruit extract on sesame seed germination and seedling growth. **Allelopathy J.**, v. 13, p. 201-210, 2004.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial de Atividade Alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (PR.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 131-137, 1998.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial alelopático de espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, p. 723 - 730, 2004.

RIBEIRO, J.P.N. et al. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, p. 183-188, 2009.

SILVA, V.S.D. 2007. Potencial alelopático de *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. (Gleicheniaceae): Ensaios em laboratório e casa de vegetação. Dissertação de Mestrado. Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande

SINDAG. Disponível em: <<http://www.sindag.com.br/>>. Acesso em: 17 de Novembro.

SOARES, G.L.G. & VIEIRA, T.R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (CV. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, v. 7, p. 180 - 197, 2000.

TET-VUN, C. & ISMAIL, B.S. Field evidence of allelopathic properties of *Dicranopteris linearis* **Weed Biology and Management**, v. 6, p. 59-67, 2006.

VIDAL, A.R. & WINKLER, L.M. *Euphorbia heterophylla* L. Resistente Aos Herbicidas Inibidores de Acetolactato Sintase: II - Distribuição Geográfica e Caracterização Genética de Biótipos do Planalto do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociências**, v. 10, p. 461-465, 2004.

VILLELA, F.A., FILHO, L.D. & SEQUEIRA, E.L. Tabela de Potencial Osmótico em Função da Concentração de Polietileno Glicol 6000 e da Temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

WEIR, T.L. & VIVANCO, J.M. Allelopathi: full circle from Phytotoxicity to Mechanisms of Resistance. In: Zeng, R.S., et al. **Allelopathi in Sustainable Agriculture and Forestry**. New York: Springer, 2008. p. 105-117.

WINDISH, P.G. Pteridófitas do Estado de Mato Grosso: Gleicheniaceae. **Bradea**, v. 6, p. 304 - 311, 1994.

## Capítulo 2

# POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE *GLEICHENELLA PECTINATA* SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE CULTURAS

*“Pensa como os sábios, mas fala como falam as pessoas simples”*

(Aristóteles)

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE *Gleichenella pectinata* (Willd.)  
Ching. SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES DE CULTURAS<sup>1</sup>**

**RESUMO** - No presente trabalho foram feitos bioensaios para determinar o potencial alelopático dos extratos aquosos de frondes adultas de *Gleichenella pectinata* em dois estágios fisiológicos (fértil e estéril) sobre a porcentagem e o tempo médio de germinação, e crescimento inicial de três espécies de plantas infestantes de culturas (*Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia*, *Euphorbia heterophylla*). Foram feitos quatro tratamentos com extratos aquosos (0, 2,5 , 5 e 10%), com cinco repetições. Cada tratamento consistiu de 30 sementes para a germinação e 10 plântulas para o crescimento da radícula e do hipocótilo/coleótilo. O crescimento das raízes foi o parâmetro mais sensível aos aleloquímicos de frondes de *G. pectinata* para as três espécies estudadas. Todos os extratos prejudicaram o crescimento da raiz das três espécies alvo, exceto a menor concentração de frondes estéreis sobre *E. heterophylla*. Os extratos de frondes estéreis atrasaram a germinação de *E. heterophylla* e *E. crus-galli* nas concentrações 5 e 10%. A maior concentração dos extratos de frondes férteis reduziu a porcentagem de germinação das três espécies-alvo.

Palavras chave: Alelopatia, *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*, Pteridófita

**ABSTRACT-** Allelopathic potential of *Gleichenella pectinata* extracts on weed species. This work aims to determine through bioassays the allelopathic potential of aqueous extracts *Gleichenella pectinata* in two physiological stages (fertile and sterile) over the percentage and average time of germination, besides initial growth of three species of crop weeds (*Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia*, *Euphorbia heterophylla*). Four aqueous treatments were made (0, 2,5 , 5 and 10%), with five replications. Each plot consisted of 30 seeds for germination and 10 seedlings for initial growth of root and hypocotyl / coleoptile. Root growth was the most sensitive parameter to *G. pectinata* allelochemicals, for the three species. All extracts damaged root growth of target species, excepting the lower concentration of sterile fronds extracts over *E. heterophylla*. Sterile frond extracts caused a delay on *E. crus-galli* and *E. heterophylla* germination under concentrations 5 and 10%. The higher

concentration of fertile frond extract decreased germination percentage of the three target species.

Key words: Allelopathy, *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla*, *Ipomoea grandifolia*, Pteridophyta

## **Introdução**

Todos os anos as espécies infestantes provocam um prejuízo de cerca de U\$95 bilhões (FAO, 2009) em nível mundial. Além de comprometer o rendimento, ainda podem dificultar o manejo, a colheita da cultura de interesse e causar necessidade de controle, elevando o custo da produção pelo investimento em insumos agrícolas. A principal forma de manejo das plantas infestantes de cultura é por meio dos herbicidas sintéticos (HONG et al., 2004), e só no Brasil os gastos com esses produtos superaram U\$4,6 bilhões em 2008 (SINDAG, 2008). Definidas como plantas que crescem em locais indesejáveis, as espécies infestantes competem por recursos com as culturas de interesse e causam a diminuição das colheitas. As suas sementes podem se acumular no solo, perpetuando o problema nas safras subsequentes. Cerca de 7000 espécies infestantes já foram identificadas e estima-se que duas a três centenas delas são nocivas aos sistemas cultiváveis no mundo (VYVYAN, 2002).

A evolução de populações de plantas infestantes resistentes aos herbicidas é um problema crescente em muitos países. O fenômeno de resistência aos herbicidas ocorre mundialmente e é caracterizado pela diminuição da resposta de uma população a produtos químicos, em sua dose recomendada (GELMINI et al., 2001). O surgimento de plantas com esta característica resulta de um processo dinâmico de evolução, pela adaptação destas às perturbações ambientais causadas por distúrbios naturais ou pelo homem através da agricultura. Este processo continua na atualidade, em resposta à modernização da agricultura. Os herbicidas aplicados no controle das plantas infestantes tem proporcionado uma evolução bastante rápida das mesmas, tornando-as, em algumas situações, resistentes a estes produtos químicos (CHRISTOFFOLETI et al., 1994).

Em agrossistemas comprometidos pela presença de espécies infestantes, o emprego freqüente de um herbicida ou de diversos herbicidas com o mesmo espectro de controle e mecanismo de ação, pode selecionar espécies tolerantes ao longo do tempo. Da mesma forma, herbicidas com efeito residual curto podem selecionar espécies com germinação tardia

(MONQUERO & CRISTOFFOLETI, 2003). A aplicação recorrente de um mesmo tratamento, por vários anos, pode selecionar biótipos resistentes na população da espécie infestante em questão. Assim, ao longo do tempo, a ocorrência de indivíduos suscetíveis decai e, em contrapartida, eleva-se o número de indivíduos tolerantes ou a manifestação de biótipos resistentes. Os indivíduos de biótipos resistentes geralmente pré-existem na população da espécie, mas em baixa frequência (GELMINI et al., 2001). Este tipo de situação ocorre geralmente em sistemas intensivos de monocultivo, onde os herbicidas são aplicados com o objetivo de eliminar quase toda a população de plantas infestantes incidentes (CHRISTOFFOLETI et al., 1994).

Uma das características destes biótipos é a alta diversidade genética, porque se desenvolvem e evoluem em ambientes geralmente hostis (VIDAL & WINKLER, 2004). De acordo com os autores, a alta diversidade genética é comum principalmente entre populações de espécies anuais, justificando ao menos parcialmente que o fenômeno de resistência aos herbicidas, em escala mundial, seja observado para espécies anuais.

Em 1971 Wittaker e Feeny cunharam o termo aleloquímico (allelochemicals) para designar agentes químicos de importância essencial para a adaptação de espécies e organização das comunidades. Chou e Waller (1983) usaram a palavra aleloquímica (allelochemicals) para abordar as interações bioquímicas entre organismos em níveis inter e intra-específicos (CHOU, 1999). Das centenas de aleloquímicos conhecidos, poucos têm seu modo de ação completamente elucidado. Muitos aleloquímicos atuam por mecanismos não desempenhados pelos herbicidas sintéticos. Alguns destes mecanismos incluem a síntese de aminoácidos, síntese de pigmentos, funções da membrana plasmática, fotossíntese, síntese de lipídeos e síntese de ácidos nucléicos (VYVYAN, 2002).

Algumas espécies de pteridófitas exibem forte mecanismo de dominância nas áreas onde crescem, formando associações quase puras, onde poucas espécies coexistem (PERES et al., 1998; PERES et al., 2004; FARIAS et al., 2007; MÜLLER et al., 2007). Este mecanismo de dominância é observado desde os trópicos até as margens de florestas boreais, inclusive para espécies do gênero *Gleichenia*, em especial *G. japonica* Spr. e *G. pectinata* (Willd.) Pr. (PERES et al., 1998; PERES et al., 2004). Tais espécies contêm fitotoxinas capazes de interferir na germinação e no desenvolvimento inicial de certas espécies vegetais (PERES et al., 2004).

*Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching pertence à família Gleicheniaceae, composta por cerca de 130 espécies conhecidas. O gênero *Gleichenella*, entretanto, representa esta única espécie, que se ocorre amplamente distribuída desde o sul do México, América Central, Antilhas, Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Trinidad, Equador, Peru, Bolívia até o Brasil. É exclusivamente heliófita e caracteriza-se por possuir hábito terrestre com rizoma longamente rasteiro, predominando em barrancos ensolarados de margens de estradas ou antigas áreas de cultura nos morros do litoral (PRADO, 2005; LEHMANN, 2008). Ambientes impactados por sucessivas degradações e regenerações sofrem perdas de nutrientes minerais do solo e passam a abrigar algumas espécies de pteridófitas dos gêneros *Pteridium* (Dennstaedtiaceae), *Gleichenia* e *Gleichenella* (Gleicheniaceae). A espécie *Gleichenella pectinata* é descrita como uma das primeiras plantas a ocuparem áreas degradadas (LEHMANN, 2008).

Investigações sobre o potencial alelopático de pteridófitas são descritos na literatura, e abordam diferentes gêneros deste grupo vegetal. Estudos com espécies de Gleicheniaceae descrevem o uso de extratos de diversas propriedades químicas sobre etapas do desenvolvimento de espécies bioindicadoras como alface, cebola (*Allium cepa* L.) e milho (*Zea mays* L.) (SOARES & VIEIRA, 2000; MÜLLER et al., 2007; CAMPOS et al., 2008), e o teste do potencial alelopático de *G. pectinata* sobre a germinação e o crescimento inicial de alface (*Lactuca sativa* L.) confirmou a atividade alelopática desta espécie (SOARES & VIEIRA, 2000). Existem poucos registros sobre a comparação de diferentes estágios fisiológicos de frondes verdes maduras de Gleicheniaceae como fontes doadoras de aleloquímicos (MORAES & GARCIA, 2007) e nenhuma das referências consultadas testou espécies infestantes de culturas como alvo.

Em bioensaios de alelopátia recomenda-se a inclusão de espécies monocotiledôneas e dicotiledôneas como alvo (VYVYAN, 2002; DAYAN et al., 2009). Para este estudo selecionou-se *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. (Poaceae), *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) e *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donnell (Convolvulaceae). As três espécies são infestantes de culturas, e exibem algum tipo de insensibilidade aos herbicidas comerciais recomendados para seu controle, devido às particularidades de tolerância ou de resistência. São descritas como infestantes de culturas anuais e perenes em quase todo território nacional, e causadoras de grandes impactos em sistemas agrocultiváveis (MONQUERO & CRISTOFFOLETI, 2003; VIDAL & WINKLER, 2004; ALIOTTA et al., 2006).

O objetivo neste trabalho foi testar e comparar o potencial alelopático dos extratos aquosos de frondes verdes férteis e estéreis de *G. pectinata* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial destas três espécies infestantes de culturas.

## Material e Métodos

Foram coletados exemplares de *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching no estuário do Rio Massaguaçu (23°37'20''S e 54°21'25''O), no município de Caraguatatuba, São Paulo, Brasil. As coletas foram realizadas no mês de março de 2009. Exsiccatas foram incorporadas ao acervo do Departamento de Botânica da UFSCar (HUFSCar), sob os números 7504 e 7505. Todos os bioensaios ocorreram nos Laboratórios de Sistemática e Ecologia Química, e de Sementes, ambos do Departamento de Botânica – UFSCar.

O corpo d'água do Rio Massaguaçu corre em paralelo à costa, até a foz, constituindo um estuário cego em sua porção final. Uma barra de areia é formada de tempos em tempos e impede a vazão da água do rio para o encontro com o mar. Com a elevação do nível de água do rio, a barra se rompe periodicamente e permite a vazão. Foram determinados três pontos de coleta na região estuarina, correspondentes a três populações distintas de *G. pectinata*.

O material teve seus folíolos separados e colocados em bandejas distintas, triados de acordo com seu estado fenológico – fértil ou estéril – pela presença ou ausência de estruturas reprodutivas (soros). Os ramos foram levados à estufa a 40°C, até a estabilização da massa (cerca de 80 horas). Os materiais foram triturados em moinho mecânico e congelados até sua utilização. Os folíolos férteis passaram pelo processo de moagem com os soros. Para preparo dos extratos o material botânico foi misturado com água destilada na proporção de 1:9 massa/volume. As misturas foram levadas à geladeira, e após 24 horas, foram filtradas com duas folhas de papel filtro (80g.m<sup>-2</sup>, 205µm), obtendo assim os extratos aquosos brutos de frondes férteis (FF) e estéreis (FE), na concentração 10%. Após a filtragem, as diluições de 5% e 2,5% foram preparadas a partir de frações da primeira concentração obtida. Os extratos aquosos de *G. pectinata* foram testados sobre sementes das espécies infestantes *Echinochloa crus-galli*, *Ipomoea grandifolia* e *Euphorbia heterophylla*, que foram obtidas comercialmente e mantidas em geladeira até a sua utilização.

Testes preliminares (AZANIA et al., 2003) aos experimentos foram conduzidos para verificar qual é o melhor método de superação de dormência das sementes *I. grandifolia*. As sementes foram escarificadas através do método químico, submergindo-as em ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> PA) puro, por 4 minutos.

Os experimentos foram realizados em duas etapas. Na primeira etapa foram testados os efeitos alelopáticos dos extratos de *G. pectinata* sobre a germinação de *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia*.

Na primeira parte foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Cada placa foi lavada com água destilada, recebeu dois discos de papel filtro (80 g m<sup>-2</sup>, 205µm.) e foi esterilizada em microondas, durante 4 minutos em potência máxima. Cada uma das placas recebeu 5 mL do respectivo extrato e 30 sementes da respectiva espécie alvo. Em seguida, foram vedadas com filme de PVC para evitar o dessecamento (RIBEIRO et al., 2009). Posteriormente, as placas com as sementes e extratos foram incubadas em câmara climatizada (estufa BOD), sob temperatura de 28°C e alternância de fotoperíodo de 12 horas. Durante o período de escuro, as placas foram expostas à luz apenas durante as contagens, realizadas de 12 em 12 horas, até a 192<sup>a</sup> hora. Foram consideradas germinadas as sementes com protrusão radicular maior ou igual a 2 mm (BRASIL., 1992). Em cada contagem foram retirados das placas os indivíduos germinados, evitando recontagem.

A segunda parte dos experimentos consistiu na análise dos efeitos alelopáticos dos extratos de *G. pectinata* sobre o crescimento e desenvolvimento das plântulas das espécies infestantes. Caixas plásticas transparentes (8x13x5cm) foram esterilizadas com álcool 70%. Cada caixa recebeu duas folhas de papel filtro (80 g m<sup>-2</sup>, 205 µm.), previamente esterilizadas em autoclave, e 12 mL do extrato. Foram aplicados os seis tratamentos com extratos aquosos a 2,5; 5,0 e 10 %, mais controle em água destilada. Para cada tratamento e controle foram feitas cinco réplicas. Dez sementes pré-germinadas em água destilada com protrusão de 3± 1 mm, foram transferidas para cada caixa com o respectivo tratamento (RIBEIRO et al., 2009).

O intervalo decorrido entre a semeadura e germinação varia de espécie para espécie. A transferência das sementes de *I. grandifolia* (escarificadas) e de *E. heterophylla* deu-se 24 horas após sua semeadura em água, e as de *E. crus-galli* requereram 72 horas para emitirem minimamente 2 mm de qualquer parte do embrião. A partir da transferência das plântulas para as caixas com extratos, estabeleceu-se o período 120 horas a para que fossem tomadas as medidas de raiz (do ápice até a base radicular) e da parte aérea (da base do caule até o ápice

das folhas) de cada indivíduo, com auxílio de um paquímetro. Todos os indivíduos foram medidos.

O pH e o potencial osmótico de cada um dos extratos foram medidos e comparados com informações na literatura e com dados do bioensaio de controle osmótico, realizado com Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) (VILLELA et al., 1991). Para este bioensaio utilizou-se a mesma metodologia descrita para os bioensaios de germinação.

O experimento teve desenho totalmente casualizado, com cinco réplicas e controle com água destilada. Todas as concentrações dos extratos FF e FE foram utilizadas sobre todas as espécies alvo.

Para as análises estatísticas utilizou-se o teste não paramétrico Mann-Whitney, a fim de verificar quais concentrações de tratamento apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao controle, e também investigar diferenças entre os extratos FF e FE.

## **Resultados e Discussão**

Os extratos brutos FF e FE exibiram valores de pH a 4,63 e 4,55, e de potencial osmótico iguais a -0,28 e -0,23MPa, respectivamente. Os potenciais osmóticos dos extratos não interferiram significativamente no processo de germinação. No entanto, para *E. crus-galli*, constatou-se o atraso da germinação sob tratamento com PEG 6000 na faixa osmótica correspondentes ao extrato FF10% (-0,3 MPa). Isso deve-se ao fato de a germinação ser muito sensível a soluções de concentração superior à 100 mOsm, logo extratos vegetais com osmolaridades similares ou superiores podem afetar a germinação, independentemente de suas propriedades fitotóxicas (GATTI et al., 2008). Esta metodologia já foi empregada por diversos autores como uma forma de separar efeitos oriundos da osmolaridade e da toxicidade (GATTI et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; GATTI et al., 2008; RIBEIRO et al., 2009). Assim, as respostas observadas na germinação de *E. crus-galli* frente ao tratamento com extrato FF 10% devem-se, ao menos parcialmente, à sensibilidade desta espécie ao potencial osmótico do extrato. Os efeitos causados por este tratamento foram mais severos do que os causados pela mesma concentração do extrato FE (de osmolaridade correspondente à

faixa de -0,2 MPa), quando comparados estatisticamente. *E. heterophylla* e *I. grandifolia* não se mostraram suscetíveis às concentrações osmóticas dos extratos aquosos (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das sementes e crescimento inicial das plântulas de *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia* submetidas a diferentes concentrações dos extratos de Frondes Fértis (FF) e estéreis (FE) de *Gleichenella pectinata*. Os dados foram analisados pelo teste Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ). Valores seguidos por \* representam diferenças significativas em relação ao controle e os valores em negrito representam diferenças significativas entre os dois extratos de mesma concentração.

	Concentração dos extratos (%)	Germinação (%)	Tempo médio de germinação (horas)	Crescimento (mm)			
				Raiz	Parte Aérea	Total	
<i>Echinochloa crus-galli</i>	Controle	0	77,33	72,12	45,98	39,07	85,06
		2,5	68	<b>60,58*</b>	<b>19,04*</b>	34,64	<b>53,68*</b>
	FF	5	68,67	<b>66,37</b>	<b>6,98*</b>	18,32*	25,31*
		10	59,33*	<b>83,12*</b>	<b>6,97*</b>	18,84*	<b>25,81*</b>
		2,5	70,67	<b>79,36</b>	<b>30,44*</b>	50,64	<b>81,08</b>
	FE	5	63,33	<b>87,92*</b>	<b>15,28*</b>	21,65*	36,93*
		10	66	<b>104,59*</b>	<b>9,74*</b>	9,26*	<b>19,01*</b>
	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Controle	0	87,33	39,62	59,03	79,32
		2,5	82,67	<b>41,82</b>	<b>22,60*</b>	58,35	<b>79,28*</b>
FF		5	81,33	<b>43,83</b>	8,78*	31,84*	40,66*
		10	<b>54*</b>	<b>51,09*</b>	<b>1,06*</b>	2,14*	<b>3,31*</b>
		2,5	76,67	<b>48,45</b>	<b>40,93</b>	90,01	<b>130,90</b>
FE		5	75,33	<b>52,17*</b>	11,3*	43,47*	54,78*
		10	<b>73,33</b>	<b>72,84*</b>	<b>8,37*</b>	23,49*	<b>31,86*</b>
<i>Ipomoea grandifolia</i>		Controle	0	85,33	38,2	56,24	73,95
		2,5	80	32,04	20,54*	57,38	77,93*
	FF	5	78	37,07	9,01*	30,83*	39,85*
		10	59,33*	49,48*	<b>8,76*</b>	15,73*	<b>24,49*</b>
		2,5	75,33	39,61	37,01*	90,42	127,4
	FE	5	80,67	41,11	11,74*	40,2*	51,94*
		10	66*	53,47*	<b>9,42*</b>	13,36*	<b>22,79*</b>

*Echinochloa crus-galli* – O extrato FF10% aumentou significativamente o tempo médio de germinação das sementes e reduziu a porcentagem de germinação, enquanto a concentração de 2,5% acelerou o processo germinativo (Figura 1).

Todas as concentrações do extrato FF diminuíram os tamanhos das raízes em relação ao controle e afetaram os tamanhos totais das plântulas, enquanto que as partes aéreas apresentaram-se significativamente menores nas concentrações 5% e 10% (Figura 3).

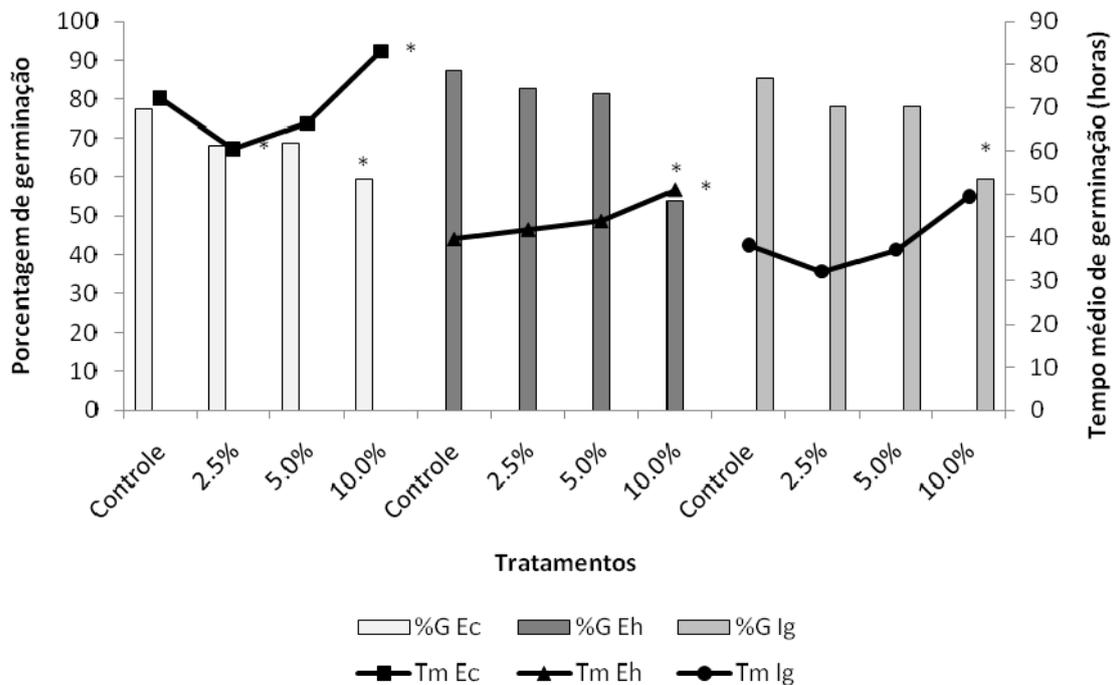


Figura 1. Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes férteis de *G. pectinata*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença significativa de %G em relação ao controle, # = diferença significativa de Tm em relação ao controle.

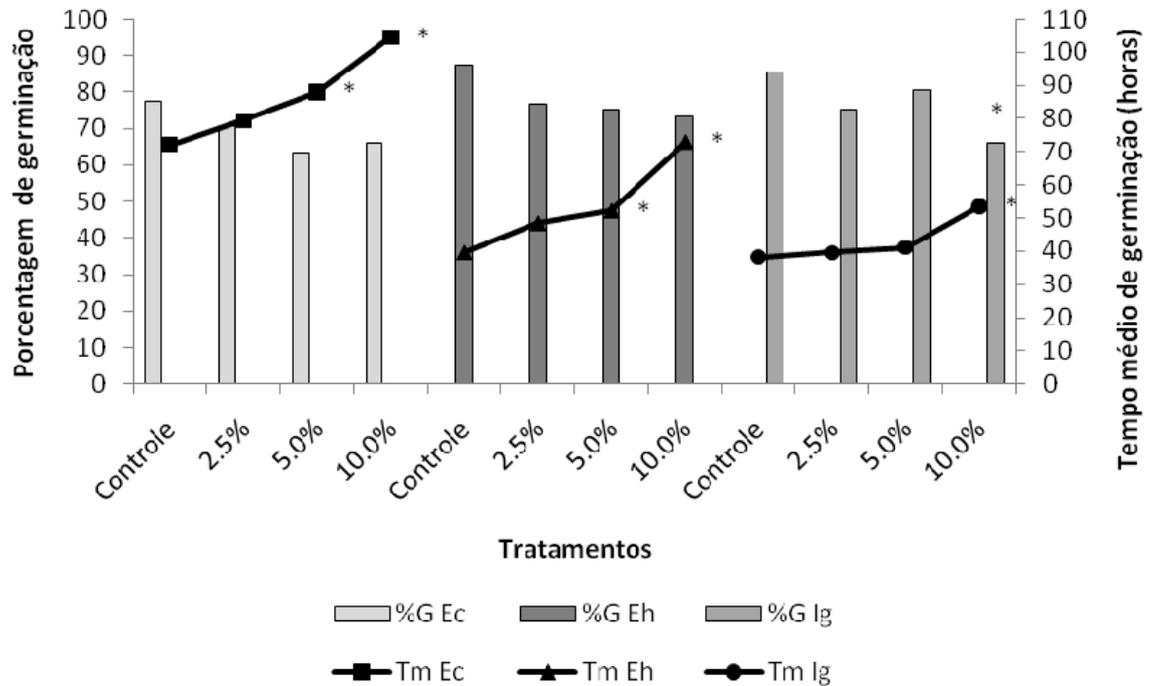


Figura 2. Valores médios de porcentagem e tempo de germinação das espécies infestantes sob diferentes concentrações de extratos aquosos de frondes estéreis de *G. pectinata*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

Os extratos FE 5% e 10% atrasaram a germinação das sementes (Figura 2). Todas as concentrações diminuíram o crescimento das raízes, e os tratamentos 5 e 10% reduziram o crescimento de partes aéreas e os tamanhos totais das plântulas (Figura 4). Constatou-se ainda que o atraso da germinação foi mais expressivo para os tratamentos com extrato FE, enquanto que as raízes e partes aéreas sofreram maior redução quando tratadas com concentrações dos extratos FF (Figura 5).

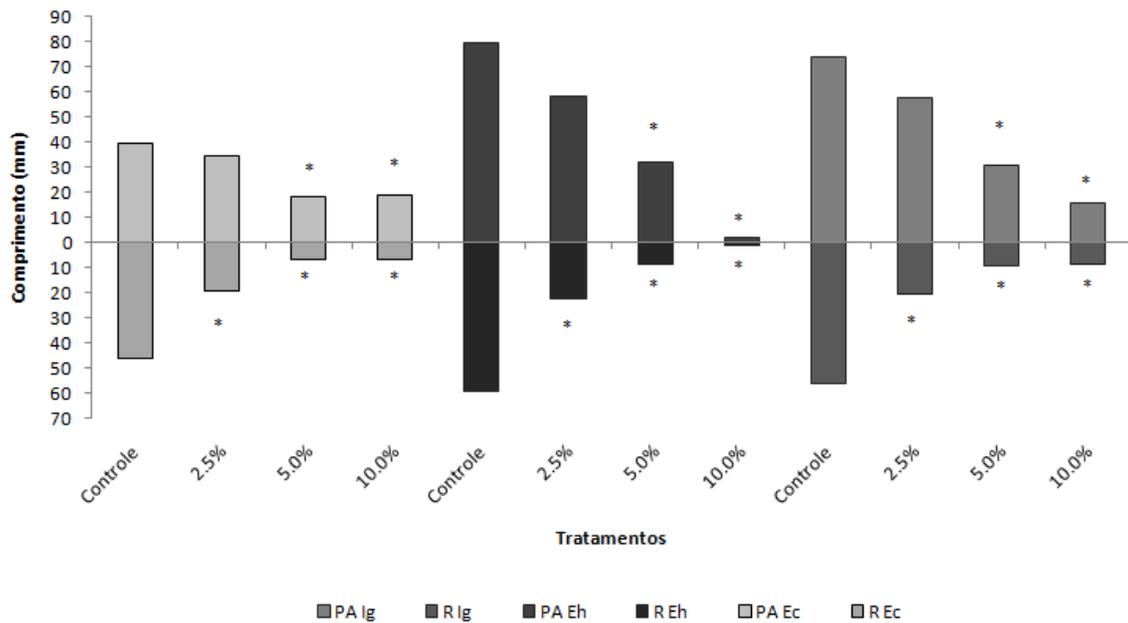


Figura 3. Valores médios de comprimentos radiculares e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes férteis de *G. pectinata*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

***Euphorbia heterophylla*** – A maior concentração do extrato FF reduziu a porcentagem e aumentou o tempo médio de germinação das sementes (Figura1). Todos os tratamentos FF reduziram as raízes e os tamanhos totais das plântulas. As concentrações 5% e 10% causaram redução das partes aéreas (Figura 3). Para os extratos FE, observou-se que as concentrações 5% e 10% atrasaram a germinação das sementes (Figura 2), e reduziram as raízes e partes aéreas das plântulas, afetando também seus tamanhos totais (Figura 4).

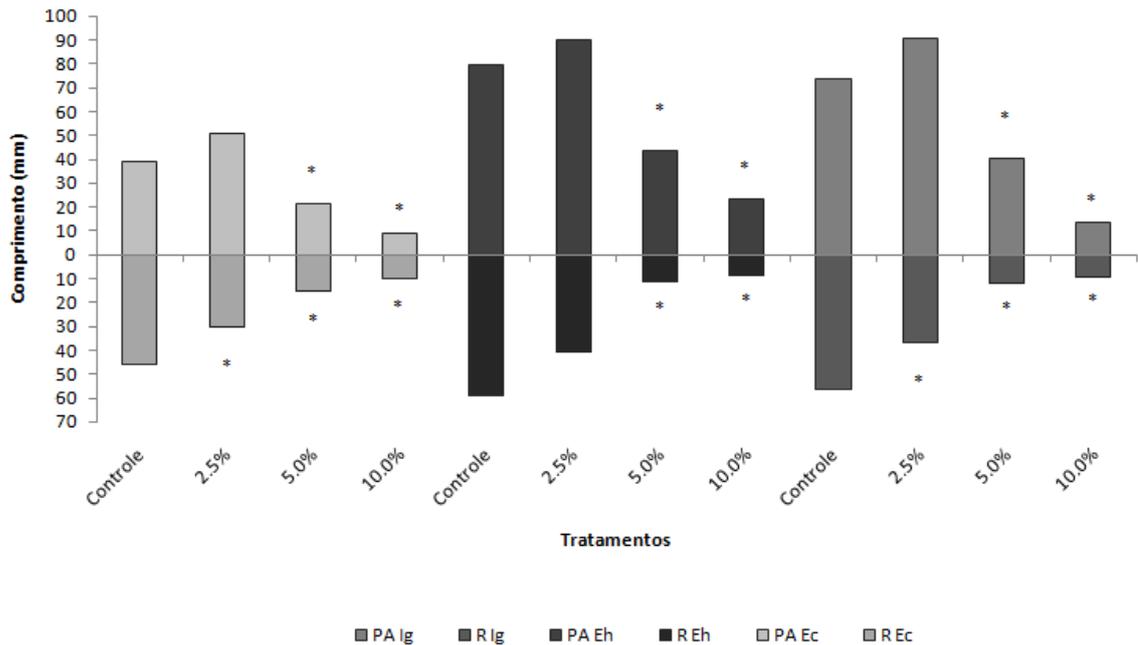


Figura 4. Valores médios de comprimentos radiculares e de partes aéreas de plântulas de espécies infestantes submetidas ao crescimento em extratos aquosos de frondes estéreis de *G. pectinata*. Os tratamentos foram comparados aos controles pelo teste não paramétrico Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Ec = *Echinochloa crus-galli*, Eh = *Euphorbia heterophylla* e Ig = *Ipomoea grandifolia*. \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

A concentração 10% do extrato FF causou maior redução da porcentagem de germinação em relação à mesma concentração do extrato FE (Tabela 1). Os comprimentos das raízes e os tamanhos totais das plântulas foram mais afetados pelos tratamentos FF 10% e 2,5%, quando comparados com as respectivas concentrações do extrato FE (Figuras 3 e 4, melhor visualizados na Figura 5 e Tabela 1).

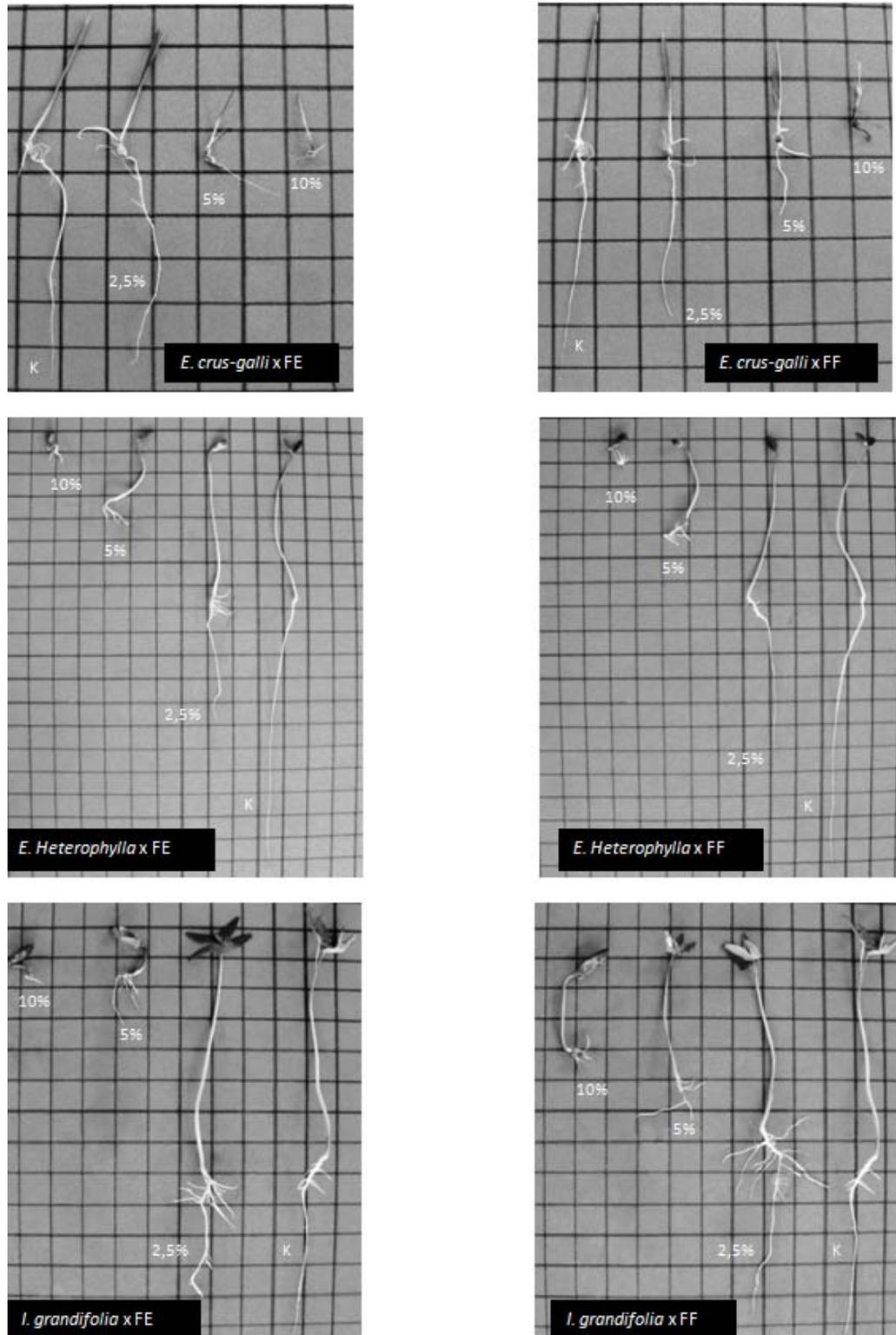


Figura 5. Anormalidades de plântulas de *E. crus-galli*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia* quando crescidas sobre folhas em papel filtro umedecidas com extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *Gleichenella pectinata*, nas concentrações de 2,5% , 5% e 10%. K= controle. Intervalos da grade = 1cm.

***Ipomoea grandifolia*** – O extrato FF 10% reduziu a porcentagem de e aumentou o tempo médio de germinação das sementes (Figura 1). Todas as concentrações deste extrato provocaram redução das raízes e dos tamanhos totais das plântulas, enquanto que as concentrações 5% e 10% causaram diminuição das partes aéreas (Figura 3). A maior concentração do extrato FE também reduziu a porcentagem e atrasou a germinação (Figura 2), e todas as concentrações reduziram os tamanhos radiculares. Os tratamentos com extratos FE 5% e 10% provocaram a diminuição das partes aéreas e dos tamanhos totais das plântulas (Figura 4).

O extrato FF 10% foi mais efetivo na redução do comprimento radicular e a mesma concentração do extrato FE reduziu mais o tamanho total das plântulas de *I. grandifolia* (Tabela 1 e Figura 5).

Os efeitos dos tratamentos sobre sementes de *E. heterophylla*, *E. crus-galli* e *I. grandifolia* foram semelhantes no bioensaio de germinação. O extrato FF 10% mostrou-se efetivo em diminuir as porcentagens de germinação e aumentar os tempos médios em relação ao controle. Os extratos FE 5 e 10% provocaram atraso da germinação das sementes de *E. heterophylla* e *E. crus-galli* enquanto que *I. grandifolia* sofreu alterações na maior concentração.

Os efeitos da toxicidade dos extratos aquosos de *G. pectinata* já foram tema de estudos com diferentes abordagens. A anatomia de células meristemáticas de alface (*Lactuca sativa* L.) (PERES et al., 1998; SOARES & VIEIRA, 2000; MÜLLER et al., 2007) e milho (*Zea mays*) (CAMPOS et al., 2008) sofreram alterações pela inibição do crescimento radicular ou da germinação propriamente dita, possivelmente graças às interferências nos ciclos celulares e devido a alterações cromossômicas. Também constataram atraso no processo de divisão celular e aumento do número de células interfásicas e mortas. Como efeitos clastogênicos foram observados quebras cromossômicas, ligações e fragmentações e também segregação tardia (CAMPOS et al., 2008). Extratos etanólicos brutos de *G. pectinata* inibiram o crescimento radicular de plântulas de cebola (*Allium cepa* L.) na menor concentração ensaiada. Também consta na literatura a ocorrência de estímulo no desenvolvimento do coleóptilo da espécie alvo, e frações de extratos da espécie doadora, em diferentes concentrações, provocaram atraso na germinação de sementes de cebola (MÜLLER et al., 2007). Todos os trabalhos consultados são conclusivos sobre o potencial alelopático das frondes verdes da espécie *G. pectinata*. No presente estudo, constatou-se que os efeitos

oriundos da toxicidade dos extratos atingem também as espécies infestantes de culturas ensaiadas, interferindo no desenvolvimento das suas sementes e plântulas.

A diversidade de componentes químicos e produtos do metabolismo das frondes verdes devem variar qualitativa e quantitativamente ao longo do ciclo de vida da espécie doadora. Não foram encontrados registros de trabalhos que discutam as diferenças metabólicas entre os estágios fenológicos. Tais informações poderiam justificar as diferenças de desempenho encontradas entre os extratos FF e FE, quando comparados estatisticamente entre si, nas respectivas concentrações.

Na região Sul do país, a espécie *E. heterophylla* possui biótipos resistentes a certos herbicidas inibidores da enzima ALS (acetolactato sintase) (VIDAL & WINKLER, 2004). Exemplares desta categoria de herbicidas são utilizados para o controle de *E. heterophylla* e de diversas outras espécies infestantes (GELMINI et al., 2001; VIDAL & WINKLER, 2004; VIDAL et al., 2006). A enzima ALS é fundamental para as vias de síntese de alguns aminoácidos essenciais, como leucina, isoleucina e valina (DUKE, 1990) que entram na composição protéica do metabolismo celular. Os efeitos causados em plântulas e sementes tratadas com extratos de *G. pectinata* (Figuras 1 a 4) mostraram-se eficientes em inviabilizar o seu desenvolvimento, principalmente nas maiores concentrações.

*Echinochloa crus-galli*, popularmente chamado de capim-arroz, é atualmente considerada uma das espécies infestantes mais problemáticas da cultura do arroz irrigado, pois está amplamente distribuído nas lavouras, com crescimento competitivo, apresentando similaridades morfológicas com as plantas do arroz, dificultando assim a aplicação de métodos alternativos de controle (ANDRES et al., 2007). Reduções de até 90% no rendimento de grãos da cultura do arroz podem ser causadas por altas infestações de capim-arroz (ASPIAZÚ et al., 2008). O composto quinclorac apresenta baixa toxicidade ao homem e aos animais, e seletividade à cultura do arroz. Esse princípio ativo começou a ser usado nas regiões orizícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina no início da década de 1990, sendo utilizado intensamente até meados de 1999, quando começaram a surgir queixas sobre falhas de controle de capim-arroz e estudos realizados por instituições do Sul do País confirmaram a ocorrência de resistência (ANDRES et al., 2007).

Assim como *E. heterophylla*, *E. crus-galli* também apresenta biótipos resistentes documentados na região Sul do país (GELMINI et al., 2001; ANDRES et al., 2007), mas a resistência é descrita para o composto Quinclorac. Este produto é um mimetizador de auxina e

reúne a flexibilidade na aplicação, em pré e pós-emergência. A germinação das sementes não é afetada pelo tratamento com este herbicida e a resistência adquirida pode ser devida à baixa sensibilidade das raízes ao seu mecanismo de ação. Desta forma, atribui-se a maior sensibilidade às partes aéreas de indivíduos de *E. crus-galli* (ANDRES et al., 2007).

Neste estudo, constatou-se sensibilidade das partes aéreas e interferência nos parâmetros de germinação de *E. crus-galli* para as maiores concentrações dos extratos *G. pectinata*. Observou-se também redução do comprimento radicular em todas as concentrações de tratamento, e das partes aéreas nas concentrações 5% e 10% dos extratos FF e FE. Neste sentido, os extratos de *G. pectinata* exerceram efeitos de toxicidade diferenciados daqueles provocados pelos herbicidas recomendados para o manejo desta espécie infestante (HERNANDES et al., 2005; ANDRES et al., 2007).

A espécie infestante *I. grandifolia* é descrita como tolerante ao tratamento repetitivo com Glyphosate® em certas regiões do Brasil. Trata-se de uma espécie infestante de lavouras, especialmente em culturas anuais de verão, nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. O Glyphosate®, usado para o controle desta espécie, é um herbicida não-seletivo, de ação sistêmica, usado no controle de plantas infestantes anuais e perenes e, aparentemente, sem atividade residual no solo (MONQUERO & CRISTOFFOLETI, 2003). Os mesmos autores constataram controle insatisfatório da espécie por este tratamento em seus experimentos, diagnosticando inclusive o agravamento temporal das infestações pela possível predominância desta espécie e de outras infestantes experimentadas, em relação às demais.

Constatou-se que o crescimento radicular foi o parâmetro mais sensível à ação dos extratos de *G. pectinata* para as três espécies alvo (Figura 5). Todas as concentrações dos extratos FF foram efetivas para a inibição do crescimento das raízes das espécies alvo. Observou-se que apenas a menor concentração do extrato FE não reduziu o comprimento radicular da espécie *E. heterophylla*. Ambos os tratamentos, FF e FE, afetaram o tamanho médio das partes aéreas a partir da concentração 5%. A porcentagem de germinação foi o parâmetro menos afetado pelos extratos, enquanto que os tempos médios de germinação foram aumentados por todos os extratos a 10%.

Embora os autores Soares et al. (2000) tenham empregado metodologia distinta da adotada neste trabalho para obtenção dos extratos aquosos, verificaram o mesmo padrão de resultados ao testarem extratos de frondes verdes e senescentes de *G. pectinata* sobre *L. sativa* e *A. cepa*. Os extratos de frondes senescentes mostraram-se menos ativos. De acordo com os

autores, a despeito de terem empregado técnica branda de extração (maceração estática em água destilada a temperatura ambiente por 24 h.), a germinação de sementes de *L. sativa* sofreu redução acentuada, e as plântulas que se desenvolveram exibiram forte interferência no sistema radicular. Eles concluíram que as substâncias tóxicas são provavelmente muito ativas e/ou muito polares. No mesmo trabalho, Soares et al. (2000) descreveram que todos os extratos de frondes verdes e alguns de frondes senescentes exibiram formação de espuma persistente, assim como observado no presente estudo. Esse fato, segundo os mesmos autores, é um indicativo da presença de substâncias anfipolares, como saponinas ou outro tipo de terpenóide glicosilado.

Estudos químicos com espécies de *Gleicheniaceae* resultaram no isolamento dos flavonóides quercetina e kaempferol (WALLACE & MARKHAM, 1978) e também de vários diterpenóides. Estes derivados diterpenóicos exibem forte efeito fisiológico sobre plântulas de alface, estimulando o crescimento caulinar e /ou inibindo o crescimento radicular. A intensidade de tais efeitos é dependente da concentração das substâncias (Aoki et al, 1997 citados por Soares et al., 2000). Os extratos aquosos de frondes férteis e estéreis de *Sticherus lanuginosus* (Feé) Nakai (*Gleicheniaceae*) provocaram redução da porcentagem e aumentaram significativamente o tempo médio de germinação de sementes de alface. Ambos os extratos inibiram o crescimento radicular significativamente nas diferentes concentrações (12.5, 25, 50, 75 e 100%), mas apenas o extrato bruto de frondes estéreis causou inibição total do crescimento radicular (MORAES & GARCIA, 2007).

Como os extratos aquosos de *G. pectinata* desencadearam comportamentos inibitórios consideráveis no processo germinativo, no crescimento das raízes e partes aéreas, efeitos de natureza pré e pós-emergentes podem estar ocorrendo. A reunião de efeitos pré e pós emergentes pode ser vantajosa para o uso das substâncias alelopáticas de *G. pectinata* como herbicida. Concluiu-se que os extratos de frondes verdes maduras de *Gleichenella pectinata* representam fonte doadora potencial de aleloquímicos. Esse potencial pode ser explorado, como uma forma de viabilizar o controle e manejo de espécies infestantes através da elaboração de herbicidas verdes. Paralelamente aos demais estudos, estes resultados oferecem subsídios para a continuidade da investigação de *G. pectinata* como fonte doadora de substâncias para controle e manejo de plantas infestantes em agrossistemas.

## Referências

- ALIOTTA, G., CAFIERO, G. & OTERO, A.M. Weed Germination, Seedling Growth and their Lesson for Allelopathy in Agruculture. In: Reigosa, M.J., et al. **Allelopathy: A physiological Process with Ecological Implications**. 2006. p. 285-297.
- ANDRES, A. et al. Detecção da Resistência de Capim-Arroz (*Echinochloa* sp.) ao Herbicida Quinclorac em Regiões Orizíolas do Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, p. 221-226, 2007.
- ASPIAZÚ, I. et al. Relação colmos/folhas de biótipo de capim-arroz em condições de competição. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, p. 22-30, 2008.
- AZANIA, A.A.P.M. et al. Métodos de Superação de Dormência em Sementes de *Ipomoea* E *Merremia*. **Planta Daninha**, v. 21, p. 203-209, 2003.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. 1992. 365 p.
- CAMPOS, J.M.S. et al. Mutagenic effects due to allelopathic action of fern (Gleicheniaceae) extracts. **Allelopathy J.**, v. 22, p. 2008.
- CHOU, C.-H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, p. 609-636, 1999.
- CHRISTOFFOLETI, P.J., FILHO, R.V. & SILVA, C.B.D. Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, p. 13 - 20, 1994.
- DAYAN, F.E., CANTRELL, C.L. & DUKE, S.O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4022-4034, 2009.
- DUKE, S.O. Overview of Herbicide Mechanisms of Action. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 263-271, 1990.

FAO. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/en/item/29402/icode/>>. Acesso em: 18 de Novembro.

FARIAS, C.C. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante e Determinação do Teor de Fenóis Totais em Extratos de Quatro Espécies de Pteridófitas de MS. **30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, v. p. 2007.

GATTI, A.B., LIMA, M.I.S. & PEREZ, S.C.J.G.A. Allelopathic potential of *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer on the germination and growth of *Lactuca sativa* L. and *Raphanus sativus* L. **Allelopathy J.**, v. 21, p. 73-82, 2008.

GATTI, A.B., PEREZ, S.C.J.G.D.A. & LIMA, M.I.S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esmeralda* O. Kuntz na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. . **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, p. 459-472, 2004.

GELMINI, G.A. et al. Resistência de Biótipos de *Euphorbia Heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da enzima ALS utilizados na cultura de soja. **Bragantia**, v. 60, p. 93-99, 2001.

HERNANDES, G.C., VIDAL, R.A. & WINKLER, L.M. Levantamento de práticas agronômicas distribuição geográfica de *Bidens* ssp. resistentes aos herbicidas inibidores da ALS nos estados do Rio Grande do Sul e o Paraná. **Planta Daninha**, v. 23, p. 677-682, 2005.

HONG, N.H. et al. Paddy weed control by higherplants from Southeast Asia **Crop Protection**, v. 23, p. 255-261, 2004.

LEHMANN, D.R.M. 2008. Estudos sobre a propagação de *Gleichenella pectinata* (WILLD.) CHING (Pteridofita - Gleicheniaceae).

MONQUERO, P.A. & CRISTOFFOLETI, P.J. Dinâmica do Banco de Sementes em Áreas com Aplicação Frequente do Herbicida Glyphosate. **Planta Daninha**, v. 21, p. 63 - 69, 2003.

MORAES, L. & GARCIA, Q. Efeito alelopático de samambaia *Sticherus lanuginosus* (feé) nakai sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de alface. **Rev. Bas. Agroecologia**, v. 2, p. 970 - 973, 2007.

MÜLLER, C. et al. Potencial Fitotóxico de Algumas Espécies de Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. **Revista Brasileira Biociências**, v. 5, p. 45-47, 2007.

OLIVEIRA, S.C.C., FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. Effect of *Solanum lycocarpum* fruit extract on sesame seed germination and seedling growth. **Allelopathy J.**, v. 13, p. 201-210, 2004.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial de Atividade Alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (PR.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 131-137, 1998.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial alelopático de espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, p. 723 - 730, 2004.

PRADO, J. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Pteridophyta - Gleicheniaceae. **Rodriguésia**, v. 56, p. 53-55, 2005.

RIBEIRO, J.P.N. et al. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, p. 183-188, 2009.

SINDAG. Disponível em: <<http://www.sindag.com.br/>>. Acesso em: 17 de Novembro.

SOARES, G.L.G. & VIEIRA, T.R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (CV. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, v. 7, p. 180 - 197, 2000.

VIDAL, A.R. & WINKLER, L.M. *Euphorbia heterophylla* L. Resistente Aos Herbicidas Inibidores de Acetolactato Sintase: II - Distribuição Geográfica e Caracterização Genética de

Biótipos do Planalto do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrocências**, v. 10, p. 461-465, 2004.

VIDAL, R.A., LAMEGO, F.P. & TREZZI, M.M. Diagnóstico da Resistência aos Herbicidas em Plantas Daninhas. **Planta Daninha**, v. 24, p. 597-604, 2006.

VILLELA, F.A., FILHO, L.D. & SEQUEIRA, E.L. Tabela de Potencial Osmótico em Função da Concentração de Polietileno Glicol 6000 e da Temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

VYVYAN, J.R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, v. 58, p. 1631-1646, 2002.

WALLACE, J.W. & MARKHAM, K.R. Flavonoids of the primitive ferns: *Stromatopteris*, *Schizaea*, *Gleichenia*, *Hymenophyllum* and *Cardiomanes*. **American Journal of Botany**, v. 65, p. 965-969, 1978.

## Considerações finais

Diante da metodologia aplicada e dos resultados obtidos utilizando extratos aquosos de *Gleichenella pectinata* e *Dicranopteris flexuosa* pode-se inferir que:

- A espécie *E. crus-galli* apresentou sensibilidade aos potenciais osmóticos dos extratos de frondes férteis em concentração 10% de ambas as espécies doadoras.
- Os extratos FF10% de ambas as espécies doadoras apresentaram osmolaridade correspondente à faixa -0.3 MPa. Todas as demais concentrações de extrato, de ambas as fontes, apresentaram osmolaridade correspondente à faixa -0.2 MPa.
- Extratos FF 2,5% de ambas as espécies doadoras aceleraram a germinação da espécie alvo *E. crus-galli*.
- Todas as concentrações dos extratos de frondes férteis, das duas espécies doadoras, afetaram o tamanho total das plântulas de *E. crus-galli*.
- Extratos FF e FE 10% de *D. flexuosa* e FF 10% de *G. pectinata* reduziram a porcentagem de germinação e atrasaram seu tempo médio.
- Todas as concentrações dos extratos FF e FE de *D. flexuosa* reduziram o tamanho das raízes, das partes aéreas e tamanhos totais das plântulas de *I. grandifolia*.
- Extratos FE10% de ambas as espécies doadoras promoveram atraso da germinação de *I. grandifolia* e, em todas as concentrações aplicadas, reduziram as raízes.
- *I. grandifolia* foi a espécie alvo com desenvolvimento inicial mais sensível aos efeitos dos extratos FF e FE de *D. flexuosa* em todas as concentrações, sendo observada diminuição de raízes, partes aéreas e tamanhos totais das plântulas.
- Todos os tratamentos 10% concentrados, provenientes de ambas as espécies doadoras, atrasaram a germinação das espécies alvo, exceto de *I. grandifolia*, quando tratada com extrato FF10% de *D. flexuosa*, para a qual observou-se apenas diminuição da porcentagem de germinação.
- Os extratos aquosos de soros não interferiram em qualquer parâmetro analisado para todas as espécies alvo.
- O potencial alelopático das frondes férteis de *D. flexuosa* não é proveniente das estruturas reprodutivas (soros).
- Para ambas as espécies doadoras, os extratos de frondes férteis acarretaram maiores interferências nos parâmetros analisados.

- Em solo, o maior efeito alelopático sobre a germinação *Lactuca sativa* L. foi observado para o solo pré-ocupado por *D. flexuosa*, não esterilizado.
- Em solo, observou-se a ocorrência de efeitos pré e pós-emergentes combinados num mesmo tratamento, mas variando temporalmente ao longo das semeaduras. Observaram-se efeitos pré e pós-emergentes também para os tratamentos aplicados em papel filtro.
- O solo tratado com frondes pulverizadas teve seu grau de compactação alterado, podendo ter comprometido a avaliação dos parâmetros por interferências nas suas propriedades físicas.
- O potencial alelopático de *D. flexuosa* verificado em bioensaios em papel filtro, neste estudo e em trabalhos anteriores, foi ratificado pelos efeitos observados em solo sobre *L. sativa*.

Os extratos aquosos das espécies *Gleichenella pectinata* e *Dicranopteris flexuosa* apresentaram atividade alelopática sobre todas as espécies testadas. As interferências na germinação de sementes e no crescimento das plântulas das espécies infestantes de cultura *Echinochloa crus-galli*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* indicam que substâncias destas espécies doadoras podem ser utilizadas como herbicidas verdes.