

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

FERNANDO BERTOL CARPANEZZI

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Pittosporum
undulatum* Vent.

SÃO CARLOS – SP

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Pittosporum
undulatum* Vent.

FERNANDO BERTOL CARPANEZZI

ORIENTADOR: SONIA CRISTINA JULIANO GUALTERI DE ANDRADE PEREZ

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

SÃO CARLOS-SP

2009

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

C294ip

Carpanezzi, Fernando Bertol.

Investigação do potencial alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent / Fernando Bertol Carpanezzi. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

59 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Ecologia. 2. Alelopatia. 3. Espécies invasoras. 4. Pau-
incenso. I. Título.

CDD: 574.5 (20^a)

Fernando Bertol Carpanezzi

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Pittosporum undulatum*
Vent.**


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 26 de março de 2009

BANCA EXAMINADORA

Presidente _____ 
Profa. Dra. Sonia Cristina J. G. de A. Perez
(Orientadora)

1º Examinador _____ 
Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima
PPGERN/UFSCar

2º Examinador _____ 
Prof. Dr. Joaquim Rassini
EMBRAPA/S. Carlos-SP


Profa. Dra. Dalva Maria da Silva Matos
Coordenadora
PPGERN/UFSCar

AGRADECIMENTOS

À Professora Sônia Cristina Juliano Gualtieri de Andrade Perez, pela orientação durante a realização desse trabalho.

Aos Professores Gedir Oliveira dos Santos a Antônio Carlos Nogueira, pelo auxílio acadêmico em etapas importantes dos experimentos.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, incluindo seus prestativos funcionários, pela oportunidade de aperfeiçoamento pessoal.

Aos membros da Banca Examinadora da Qualificação, Maria Inês Salgado Lima, Marcos Arduin e João Juarez Soares, pelas críticas construtivas.

Ao Carlos Aparecido Casali, essencial para a realização de alguns procedimentos práticos durante os experimentos.

À Embrapa Florestas e seus funcionários Dr. Antonio Carlos Medeiros e Adilson Tmaschitz, pela doação das sementes.

Aos meus pais, Antonio e Odete, e à minha irmã, Mariana, por serem quem são.

À Jaqueline Diniz, fonte de calma e equilíbrio durante os dois anos de realização desse trabalho.

“Acredito muito na sorte; verifico que quanto mais trabalho, mais a sorte me sorri.”

Thomas Jefferson

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO PAU- INCENSO (*Pittosporum undulatum* Vent.)

RESUMO GERAL – (Investigação do potencial alelopático do pau-incenso (*Pittosporum undulatum* Vent.)). A árvore australiana *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) é encontrada diminuindo o recrutamento de espécies nativas em formações secundárias de Floresta Ombrófila Mista no sul do Brasil. O objetivo do primeiro capítulo desse estudo foi verificar a ação alelopática da espécie no processo invasivo, investigando a sensibilidade de sementes e plântulas de *Bauhinia forficata* Link. (pata-de-vaca) à compostos foliares de pau-incenso. Foram preparados extratos aquosos lixiviados nas concentrações de 20%, 15%, 10% e 5% (m/v), extratos aquosos obtidos do pó de folhas lixiviadas (10%; 7,5%; 5% e 2,5%) e soluções de cumarina a 2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM e 0,3125 mM. Bioensaios em placas de Petri, com contagens realizadas a cada 12 horas, permitiram determinar a germinabilidade e velocidade de germinação; soluções de polietileno glicol (PEG 6000) foram preparadas para analisar os efeitos osmóticos. Nos bioensaios de crescimento, utilizaram-se as três concentrações mais elevadas de cada solução, sendo, após sete dias, medidos o comprimento radicular e de parte aérea. Enquanto a germinabilidade mostrou-se sensível apenas aos extratos de pó de folhas, a velocidade de germinação apresentou resposta dose-dependente para todas as soluções testadas. Quanto ao crescimento, a radícula foi a estrutura mais sensível aos efeitos alelopáticos, sendo observadas alterações morfo-anatômicas. No segundo capítulo, objetivou-se investigar o uso de material foliar de pau-incenso como alternativa ao manejo do capim-arroz, uma gramínea resistente a herbicidas que traz problemas a plantações de arroz e à biodiversidade de planícies úmidas em todo o mundo. Foram preparados extratos aquosos foliares lixiviados nas concentrações de 20%; 15%; 10%; 5% e 2,5% (m/v), extratos aquosos obtidos do pó de folhas lixiviadas e não-lixiviadas (10%; 7,5%; 5%; 2,5% e 1,25%), soluções de cumarina a 5mM; 2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM e 0,3125 mM e solução de Roundup® Original seguindo as recomendações do fabricante. Soluções de PEG também foram utilizadas. Para bioensaios de germinação, as contagens foram realizadas a cada 12 horas, sendo determinadas as porcentagens e velocidades germinativas; para o crescimento, plântulas de sete dias submetidas aos compostos tiveram medidos seus comprimentos de radícula e parte aérea. A

germinação, apesar de fortemente inibida pela cumarina, foi pouco sensível às demais soluções. Quanto ao crescimento, as radículas analisadas apresentaram necrose, ausência de pêlos e redução dose-dependente do comprimento para todos os tratamentos com exceção do controle. Os hipocótilos foram afetados pelo composto fenólico, glifosato e extratos aquosos de folhas não-lixiviadas. Apesar da ação alelopática, aspectos ecofisiológicos relativos ao pau-incenso ainda devem ser esclarecidos para que suas folhas possam ser usadas como herbicida.

Palavras-chave: alelopatia, espécies exóticas invasoras, Pittosporaceae, extratos aquosos.

ASSESSMENT OF ALLELOPATHIC POTENTIAL IN CHEESEWOOD
(*Pittosporum undulatum* Vent.)

GENERAL ABSTRACT- (Assesment of allelopathic potential in cheesewood (*Pittosporum undulatum* Vent.)). *Pittosporum undulatum* Vent., an Australian tree implicated in supression of tree recruiment in many ecosystems, is found invading secondary *Araucaria* forests in subtropical Brazil. The first chapter of this study aimed to investigate the role of allelopathy in the invasive proccess, accessing germination and growth of *Bauhinia forficata* Link. in presence of secondary metabolites from cheesewood leaves. Leachates in concentrations of 20%, 15%, 10% and 5% (w/v), extracts from dry material (10%; 7,5%; 5% and 2,5%) and coumarin solutions (2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM and 0,3125 mM) were prepared. Petri-dishes germination bioassays, with countings done at each 12 hours, allowed to determinate both germinabilty and germination rate; polyethylene glycol (PEG 6000) solutions were used to evaluate osmotic effects. For seedlings growth, the three highest concentrations of each solution were tested and after seven days root and shoot lenght were measured. While germinability was only sensitive to extracts from dry material, the germination rate showed a dose-dependent curve for all solutions. In seedlings, roots were the most sensitive structure and severe morfo-anatomic anomalies were observed. The main purpose of the second chapter was to investigate the use of *Pittosporum undulatum* Vent. (cheesewood) leaves as a possible sustainable alternative for barnyard grass control. Leachates in concentrations of 20%; 15%; 10%; 5% and 2,5% (w/v), aqueous extracts from powdered leachated and non-leachated leaves (10%; 7,5%; 5%; 2,5% and 1,25%), coumarin solutions (2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM and 0,3125 mM) and Roundup Original® according to label informations were prepared. Polyethylene glycol were also used. Both germinability and germination rate were determined by germination biossays, with countings done at each 12 hours. In growth experiments, seedlings were exposed for seven days, when root and shoot length were measured. All solutions, with exception of coumarins, caused only small inhibitory effects on germination. In relation to the growth, all treatments but control caused necrose, absence of hairs and dose-dependent lenght reduction in radicles. Hipocotiles were affected by phenolic compound, extracts from non-leachated leaves and glyphosate.

Although the allelopathic effects, ecophysiological aspects relative to *Pittosporum undulatum* still need to be cleared before its leaves can be used as a herbicide.

Key words: allelopathy, alien invasive species, Pittosporaceae, aqueous extracts.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 1 |
| O conceito de alelopatia..... | 1 |
| Aspectos históricos..... | 1 |
| Principais grupos químicos de compostos alelopáticos..... | 2 |
| Aspectos ecofisiológicos dos compostos alelopáticos..... | 4 |
| Alelopatia e agroecossistemas..... | 5 |
| Plantas exóticas invasoras e alelopatia..... | 6 |
| Referências bibliográficas..... | 9 |
| | |
| CAPÍTULO 1 – EFEITO ALELOPÁTICO DE <i>Pittosporum undulatum</i> Vent. NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE <i>Bauhinia forficata</i> Link..... | 13 |
| | |
| RESUMO..... | 14 |
| ABSTRACT..... | 14 |
| INTRODUÇÃO..... | 15 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 16 |
| Preparação do extrato aquoso lixiviado..... | 16 |
| Preparação do extrato aquoso obtido do pó de folhas lixiviadas..... | 18 |
| Bioensaios de germinação..... | 19 |
| Bioensaios de crescimento..... | 20 |
| Análise morfo-anatômica..... | 21 |
| Análise estatística..... | 22 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 22 |
| Características dos extratos..... | 22 |
| Germinação..... | 23 |

| | |
|---|-----------|
| Crescimento..... | 27 |
| Análise morfo-anatômica..... | 30 |
| Considerações finais..... | 33 |
| Agradecimentos..... | 33 |
| Referências bibliográficas..... | 34 |
| | |
| CAPÍTULO 2 - EFEITO ALELOPÁTICO DE <i>Pittosporum undulatum</i> Vent. NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE <i>Ehichnochloa crus-galli</i> L. (Beauv.)..... | 39 |
| RESUMO..... | 40 |
| ABSTRACT..... | 40 |
| INTRODUÇÃO..... | 41 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 42 |
| Preparação do extrato aquoso lixiviado..... | 42 |
| Preparação do extrato aquoso obtido do pó de folhas lixiviadas..... | 43 |
| Preparação do extrato aquoso obtido do pó de folhas não lixiviadas..... | 43 |
| Bioensaios de germinação..... | 44 |
| Bioensaios de crescimento..... | 44 |
| Análise estatística..... | 45 |
| RESULTADOS | 46 |
| Germinação..... | 46 |
| Crescimento..... | 46 |
| DISCUSSÃO..... | 52 |
| Germinação..... | 52 |
| Crescimento..... | 53 |
| Considerações finais..... | 54 |
| Referências bibliográficas..... | 56 |
| CONCLUSÕES GERAIS..... | 59 |

INTRODUÇÃO GERAL

ALELOPATIA

O Conceito

O termo **alelopatia** foi utilizado pela primeira vez em 1937 pelo pesquisador alemão Molisch, em seu livro intitulado “Der einfluss einer pflanze auf die andere: Allelopathie”. Na verdade, o título de seu trabalho é o próprio conceito da palavra (A influência de uma planta sobre outra – Alelopatia). Além da busca da origem desse conceito pela tradução do título da obra, é ainda possível inferir o significado dessa palavra etimologicamente. Em grego, *allelos* significa um ao outro, mutuamente, e *pathos*, sofrer.

Apesar de Molisch ter definido inicialmente que o termo englobaria tanto influências bioquímicas positivas como negativas de uma planta sobre outra, incluindo microorganismos, muita discussão já foi feita sobre o assunto. Elroy L. Rice, um dos mais importantes estudiosos do assunto, na primeira versão de “Allelopathy”, em 1974, delimitou o conceito apenas às interações prejudiciais. Porém, em 1984, na segunda edição desse livro, o mesmo autor ampliou a definição, passando a concordar com Molisch. De fato, muitos trabalhos demonstraram que a variação de concentração de compostos orgânicos pode causar tanto estímulo como inibição a processos fisiológicos nos organismos vegetais (Jefferson & Pennacchio, 2003; Gatti *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2005)

Aspectos históricos

As primeiras observações da ocorrência de fenômenos alelopáticos foram devido às suas implicações agrônômicas. Teofrasto, sucessor de Aristóteles, afirmou em 300 a.C. que o cultivo de *Cicer arietinum*, o conhecido grão-de-bico, deixava o solo “exausto” e acabava com as ervas daninhas. Cerca de três séculos mais tarde, em 1 d.C., Plínio relatou que restos de

plantas de cevada (*Hordeum vulgare*) e de feno-grego (*Trigonella foenum-graecum*), deixados no solo entre as colheitas, “envenenavam” as áreas de cultivo (Weir *et al.*, 2004).

Apesar dessas observações terem sido feitas há bastante tempo e de inúmeras outras constarem na literatura, principalmente a partir de 1600 d.C., a alelopatia pode ser considerada uma ciência recente. Os primeiros experimentos científicos envolvendo interações alelopáticas foram feitos na segunda metade do século XIX, mas o reconhecimento da alelopatia enquanto fenômeno ecológico veio a ocorrer apenas a partir de 1970 (Rice, 1984).

Apesar do ceticismo de alguns autores em relação à importância da alelopatia em ambientes naturais, devido principalmente à maioria dos experimentos serem feitos em laboratório (Reigosa *et al.*, 1999), inúmeros trabalhos comprovam a influência das interações alelopáticas em comunidades vegetais (Pellissier & Souto, 1999; Callaway & Aschehoug, 2000; Ouden, 2000). Como demonstração da crescente importância atribuída à alelopatia, muitos livros-texto de ecologia já apresentam há algum tempo exemplos convincentes de interferências aleloquímicas (Odum, 1997; Townsend *et al.*, 2006).

Principais grupos químicos de compostos alelopáticos

Historicamente, os compostos produzidos por organismos vegetais têm sido divididos em produtos originários do metabolismo primário e produtos originários do metabolismo secundário. Entre os metabólitos primários, enquadram-se as moléculas essenciais para o desenvolvimento das plantas e que estão presentes em todas as suas células. Os produtos originários do metabolismo secundário, por sua vez, não estão envolvidos em processos imprescindíveis ao metabolismo vegetal e normalmente apresentam produção restrita à algumas partes do corpo da planta. É neste grupo em que estão classificados os compostos alelopáticos (Harborne, 1997; Raven *et al.*, 2007).

A função dos metabólitos secundários para as plantas ainda é objeto de discussões entre ecofisiologistas vegetais. Tendo sido visto durante muito tempo como produtos de excreção, atualmente sabe-se que esses compostos exercem importantes funções ao metabolismo vegetal. Entre elas destacam-se, além da interferência alelopática, a sinalização química a estímulos ambientais, defesa a herbívoros e patógenos, proteção à radiação solar, polinização e dispersão de sementes (Rice, 1984; Harborne, 1997). Em condições naturais, a inibição alelopática geralmente resulta da ação combinada de um grupo de aleloquímicos, que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos (Einhellig, 1996). Segundo Rice (1984), as moléculas com propriedades alelopáticas podem ser divididas em 14 categorias principais, além de um grupo a parte denominado “miscelânea”, que reúne substâncias quimicamente distintas.

Entre as substâncias alelopáticas já conhecidas, os compostos fenólicos e os terpenóides são especialmente importantes pela sua ampla difusão entre as plantas superiores (Inderjit & Duke, 2003). Originados em sua maioria pela via do ácido chiquímico, os fenóis são encontrados, por exemplo, em alfafa, arroz e na canela-sassafrás, *Ocotea odorifera* (Vell.) Rower (Chon *et al.*, 2002; Olofsdotter *et al.*, 2002; Carmo *et al.*, 2007). Os terpenóides, compostos formados por unidades de isopreno na rota do ácido mevalônico, são muito comuns entre as angiospermas (Harborne, 1997), estando presentes em árvores como *Pittosporum undulatum* e *Stryphnodendron adstringens* Mart. (Ferreira *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2006). Dentre eles, os monoterpenóides destacam-se por serem os principais constituintes dos óleos essenciais (Dudai *et al.*, 1999). Os alcalóides, substâncias muito usadas medicinalmente, estão em grande quantidade em plantas como o café e o tabaco (Raven, 2007).

Além das classes comentadas, pode-se citar ainda flavonóides, taninos, purinas, nucleosídeos e cumarinas como aleloquímicos de grande importância. É interessante notar que, além do uso medicinal de alguns vegetais estar relacionado com seu potencial alelopático, observações populares sugerindo interações alelopáticas são frequentemente confirmadas por experimentos científicos (Rice, 1984; Dudai *et al.*, 1999).

Aspectos ecofisiológicos dos compostos alelopáticos

Os aleloquímicos podem ser liberados por lixiviação de folhas, exudatos de raízes, volatilização, decomposição e incorporação de restos vegetais ao solo. No ambiente, fatores abióticos e a ação de microorganismos fazem com que eles se alterem quimicamente, muitas vezes dando origem a novos compostos (An *et al.*, 1997; Reigosa *et al.*, 1999).

Os mecanismos de ação e liberação das fitotoxinas estão relacionados às suas características químicas. Alguns monoterpenóides voláteis, por serem lipossolúveis e apresentarem baixo peso molecular, podem interagir com a membrana mitocondrial, inibindo a respiração celular (Weir *et al.*, 2004). Determinados compostos fenólicos, facilmente lixiviáveis, são capazes de reduzir o número de citocineses e desorganizar o núcleo de células radiculares (Gross, 1975). O processo evolutivo atuou sobre as vias de biossíntese de maneira a favorecer a produção de metabólitos secundários capazes sobre amplo espectro de processos fisiológicos (Rice, 1984).

Weir *et al.* (2004) classificou os mecanismos de ação dos compostos alelopáticos em três grupos principais: (1) Inibição do funcionamento do fotossistema II, comprometendo a fotossíntese, (2) Interrupção da respiração mitocondrial e da formação de moléculas de ATP e (3) Mecanismos mediados por reações de oxirredução. Rice (1984), adotando uma classificação mais detalhada, atribui aos aleloquímicos efeitos na permeabilidade das membranas celulares, na retirada de nutrientes do solo, na síntese protéica e na ultraestrutura das células atingidas, entre outros.

As alterações macroscópicas causadas por efeitos alelopáticos nos organismos receptores são resultados secundários de interações moleculares em eventos bioquímicos bastante diversificados (Einhellig, 1996). A associação de bioensaios de germinação e crescimento à análise morfo-anatômica das estruturas sensíveis à ação alelopática é uma importante ferramenta para esclarecer o modo de ação dos metabólitos secundários. Devido a características ecofisiológicas relacionadas à absorção e ao contato direto com o solo, as

radículas costumam ser os órgãos vegetais mais influenciados pela ação dos metabólitos secundários (Chon *et al.*, 2002).

A produção de compostos alelopáticos é influenciada por inúmeros fatores. Estudos feitos com folhas do pau-incenso, por exemplo, mostraram diferenças sazonais e fenológicas na composição de terpenóides (Ferreira *et al.*, 2006). Condições de estresse ao metabolismo vegetal, como herbivoria e seca, também estão diretamente associadas à intensificação da atividade das rotas metabólicas responsáveis pela produção de fitotoxinas (Reigosa *et al.*, 1999; Thelen *et al.*, 2005). Assim, para um maior rendimento, é essencial que espécies cultivadas cresçam em condições ambientais ótimas de temperatura, umidade, intensidade luminosa, disponibilidade de água e composição mineral do solo (Einhellig, 1996).

Alelopatia em agroecossistemas

A diminuição da produtividade agrícola pode muitas vezes ser atribuída a interferências alelopáticas (Einhellig, 1996; Chou, 1999). Apesar de ervas daninhas serem popularmente conhecidas por seus efeitos prejudiciais sobre espécies cultivadas, a autotoxicidade das culturas agrícolas pode ter efeito igualmente importante (Anaya, 1999; Yu *et al.*, 2000). Isso explica porque a alfafa (*Medicago sativa* L.), quando plantada sucessivamente, tende a produzir menos do que em sistema de rotação de culturas (Chon *et al.*, 2002).

A ação aleloquímica de plantas cultivadas sobre ervas daninhas, por outro lado, abre um importante espectro de aplicação para a ciência alelopática. A incorporação de compostos alelopáticos às práticas de manejo agrícolas pode reduzir o uso de herbicidas sintéticos, responsáveis por diversas conseqüências ecológicas indesejáveis. Segundo Gliessman (1983), a alelopatia pode ser usada de maneira benéfica em sistemas de policultura, rotação de culturas e como cobertura vegetal na preparação de solos.

Nos últimos anos, a busca pela sustentabilidade agrícola impulsionou a realização de estudos alelopáticos envolvendo espécies cultivadas. Os métodos sugeridos para a utilização de aleloquímicos na agricultura podem ser agrupados em três classes principais: (1) plantio de espécies cultivadas capazes de inibir ervas daninhas, (2) implantação de práticas agrícolas que eliminem a autotoxicidade e a ação aleloquímica de plantas indesejadas, e (3) identificação, produção e uso comercial de metabólitos secundários alelopáticos (Einhellig, 1985).

Apesar de suas vantagens, a utilização de compostos alelopáticos como forma de controle de plantas indesejadas em agroecossistemas deve ser visto com cautela. Algumas dessas substâncias, como as presentes em *Tagetes erecta* L., podem propiciar doenças em humanos (Anaya, 1999) e outras podem inibir a nitrificação natural do solo, aumentando a dependência de fertilizantes sintéticos (Rice, 1984; Harborne, 1997). A instabilidade dos metabólitos secundários, devido às reações químicas e microbiológicas no solo, também devem ser consideradas em estudos preliminares.

Plantas exóticas invasoras e alelopatia

A ausência de inimigos naturais é comumente tido como o principal fator ecológico propiciando os processos de invasão biológica (Driesche & Driesche, 2000; McNelly, 2001). Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que a interferência alelopática tem papel preponderante em alguns casos, podendo alterar significativamente a estrutura e os processos das comunidades vegetais invadidas (Callaway & Aschehoug, 2000; Sharma & Raghubanshi, 2007). O comportamento monodominante de plantas exóticas nos ambientes conquistados foi o ponto de partida para pesquisas relacionando ação aleloquímica e invasões biológicas (Hierro & Callaway, 2003).

Ao longo do processo evolutivo, plantas coexistentes tendem a desenvolver mecanismos de tolerância à presença de aleloquímicos. Dessa maneira, espera-se que em comunidades naturais conservadas haja predominância de relações alelopaticamente neutras

(Rabotnov, 1982). Essa mesma teoria, por outro lado, reforça a idéia de que plantas invasoras podem trazer consigo novos metabólitos secundários capazes de agir sobre populações de espécies nativas (Hierro & Callaway, 2003).

A relação entre efeito alelopático e ausência de história coevolutiva torna-se clara ao examinarmos o exemplo de *Centaurea diffusa* Lam., uma asterácea originária do leste europeu. Encontrada invadindo ecossistemas campestres no oeste dos Estados Unidos da América, essa erva apresenta ação alelopática sobre espécies de seu novo ambiente, mas plantas ecologicamente equivalentes em seu habitat original são insensíveis à ação de seus compostos (Callaway & Aschehoug, 2000).

Assim como *Centaurea diffusa*, muitas outras plantas exóticas beneficiam-se da interferência aleloquímica. A losna-branca, *Parthenium hysterophorus* L., é encontrada invadindo ecossistemas naturais da Índia, EUA, Brasil, China, Taiwan e partes da África. A ação alelopática dessa asterácea, comprovada em diversos estudos, é possivelmente intermediada por terpenóides e compostos fenólicos (Evans, 1997). *Lantana camara* L., uma verbenácea brasileira muito conhecida por seu uso ornamental, também beneficia-se da ação sinérgica de diversos aleloquímicos ao formar densos povoamentos em comunidades florestais na Flórida (Singh *et al.*, 1989).

Pittosporum undulatum Vent. é uma árvore da família Pittosporaceae originária da Austrália que pode ser encontrada invadindo formações florestais no seu país de origem, no Caribe, Açores, Havaí e África do Sul (Goodland & Healey 1996). No Brasil, ocorre principalmente na Floresta Ombrófila Mista. As folhas do pau-incenso, como é popularmente conhecida, possuem grandes quantidades de terpenóides (Ferreira *et al.* 2006; Lago *et al.* 2006), sugerindo a influência de substâncias alelopáticas no processo de invasão.

O objetivo desse trabalho foi examinar a contribuição alelopática na supressão do recrutamento de espécies nativas causada por *Pittosporum undulatum*, além de avaliar a possibilidade do uso de suas folhas para o controle de plantas indesejáveis. As espécies-alvo

escolhidas foram *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), uma pioneira que ocorre nos mesmos ambientes do pau-incenso, e *Echinochloa crus-galli* (capim-arroz), uma gramínea que representa sérios problemas a plantações de arroz e à biodiversidade de planícies alagáveis em todo o mundo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AN, M.; PRATLEY, J. E.; HAIG, T. Phytotoxicity of vulpia residues: I. Investigation of aqueous extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 8, p. 1973-1995.

ANAYA, A. L. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 6, p. 697-740, 1999.

CALLAWAY, R. M.; ASCHEHOUG, E. T. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. **Science**, v. 290, n. 5491, p. 521-523, 2000.

CARMO, F. M. S; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rower). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 697-705, 2007.

CHON, S. U.; CHOI, S. K.; JUNG, S.; JANG, H. G.; PYO, B. S.; KIM, S. M. Effects of alfafa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfafa and barnyard grass. **Crop Protection**, v. 21, n. 10, p. 1077-1082, 2002.

CHOU, C.H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 5, p. 609-636, 1999.

DRIESCHE, J.V; DRIESCHE, R.V. **Nature out of place: biological invasions on the global age**. Washington: Island Press, 2000. 365p.

DUDAI, N.; MAYBER, P.; MAYER, A. M.; PUTIEVSKY, E.; LERNER, H. R. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 5, p. 1079-1089, 1999.

EINHELLIG, F. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.

EVANS, H. C. *Parthenium hysterophorus*: a review of its weed status and the possibilities for biological control. **Biocontrol News and Information**, v. 18, n. 3, p.389-398, 1997.

FERREIRA, N. J.; SOUSA, I. G. M.; LUÍS, T. C.; CURRAIS, A. J. M.; FIGUEIREDO, A. C.; COSTA, M. M.; LIMA, A. S. B.; SANTOS, P. A. G.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. *Pittosporum undulatum* Vent. grown in Portugal: secretory structures, seasonal variation and enantiomeric composition of its essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 2006

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GLIESSMAN, S. R. Allelopathic interactions in crop-weed mixtures: applications for weed management. **Journal of Chemical Ecology**, v. 9, n.8, p. 991-999, 1983.

GROSS, D. Growth regulating substances of plant origin. **Phytochemistry**, v. 14, n. 10, p. 2105-2112, 1975.

HARBORNE, J. B. Plant secondary metabolism. In: CRAWLEY, M. J. (Ed.). **Plant Ecology**. Oxford: Blackwell Science, 1997, p. 399-426.

HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R.M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, vol. 256, n. 1, p. 29-39, 2003.

INDERJIT; DUKE, S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, n. 4, p. 529-539, 2003.

JEFFERSON, L. V.; PENNACCHIO, M. Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. **Journal of Arid Environments**, v. 55, n. 2, p. 275-285, 2003.

KIM, Y. O.; JOHNSON, J. D.; LEE, E. J. Phytotoxicity of *Phytolacca americana* leaf extracts on the growth and physiological response of *Cassia mimosoides*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 12, p. 2963-2974, 2005.

McNEELY, J.A; MOONEY, H.A; NEVILLE, L.E; SCHEI, P.; WAAGE, J.K. (eds.) **Global Strategy on Invasive Alien Species**. Cambridge : IUCN, 2001. 50p.

OLOFSDOTTER, M.; REBULANAN, M.; MADRID, A.; DALI, W.; NAVAREZ, D.; OLK, D. C. Why phenolics compounds are unlikely primary allelochemicals in rice? **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 1, p. 229-242, 2002.

OUDEN, J. The allelopathic nature of bracken. In: OUDEN, J. (Ed.). **The role of bracken (*Pteridium aquilinum*) in forest dynamics**. Molenaarsgraaf : Esveco, 2000. p. 107-128.

ODUM, E.P. **Fundamentos de Ecologia**. 5ª. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1997, 927 p.

PELLISSIER, F.; SOUTO, C. Allelopathy in northern temperate and boreal semi-natural woodland. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 5, p. 637-652, 1999

RABOTNOV, T. A. Importance of the evolutionary approach to the study of allelopathy. **Soviet Journal of Ecology**, v. 12, n. 8, p. 127-130, 1982

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 830 p.

REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, New York, v.18 , n.5, p. 577-608, 1999.

RICE, E.L. **Allelopathy**. New York : Academic Press, 1974, 353p.

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2ªed. New York : Academic Press, 1984, 423p.

SHARMA, G. P; RAGHUBANSHI, A. S. Effect of *Lantana camara* L. cover on local depletion of tree population in the Vindhyan tropical dry deciduous forest of India. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 5, n. 1, p. 109-121, 2007.

SILVA, G. B.; MARTIM, L.; YOUNG, M. C. M.; LADEIRA, A. M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Hoehnea**, v. 33, n. 3, p. 331-338, 2006.

SINGH, M.; TAMMA, R. V.; NIGG, H. N. HPLC identification of allelopathic compounds from *Lantana camara*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, n. 1, p.81-89, 1989.

THELEN, G. C.; VIVANCO, J. M.; NEWINGHAM, B.; GOOD, W.; BAIS, H. P.; LANDRES, P.; CAESAR, A.; CALLAWAY, R. M. Insect herbivory stimulates allelopathic exudation by an invasive plant and the suppression of natives. **Ecology Letters**, v. 8, n. 2, p. 209-217, 2005.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em ecologia**. 2^aed. Porto Alegre : Artmed, 2006, 592p.

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

YU, J. Q.; SHOU, S. Y.; QIAN, Z.; ZHU, Z. J.; HU, W. H. Autotoxicity potential of cucurbit crops. **Plant and Soil**, v. 223, n. 1-2, p.149-153, 1999.

**Efeito alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent.
(Pittosporaceae) na germinação e crescimento de *Bauhinia
forficata* Link. (Fabaceae - Caesalpinioideae)**

Efeito alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) na germinação e crescimento de *Bauhinia forficata* Link. (Fabaceae - Caesalpinioideae)

RESUMO- (Efeito alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) na germinação e crescimento de *Bauhinia forficata* Link. (Fabaceae - Caesalpinioideae). A árvore australiana *Pittosporum undulatum* Vent. (pau-incenso), associada a impactos negativos no recrutamento de espécies nativas, é encontrada principalmente em formações secundárias da Floresta Ombrófila Mista no sul do Brasil. O presente estudo buscou verificar a ação alelopática no processo invasivo, investigando a sensibilidade de sementes e plântulas de *Bauhinia forficata* Link. (pata-de-vaca) a compostos foliares de pau-incenso. Foram preparados extratos aquosos lixiviados nas concentrações de 20%, 15%, 10% e 5% (m/v), extratos aquosos obtidos do pó de folhas lixiviadas a 10%; 7,5%; 5% e 2,5% e soluções de cumarina a 2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM e 0,3125 mM. Bioensaios de germinação em placas-de-petri, com contagens realizadas a cada 12 horas, permitiram determinar a germinabilidade e velocidade de germinação; soluções de polietileno glicol (PEG 6000) foram preparadas para verificar possíveis efeitos osmóticos. Nos bioensaios de crescimento, utilizaram-se as três concentrações mais elevadas de cada solução, sendo, após sete dias, medidos o comprimento radicular e da parte aérea. Enquanto a germinabilidade mostrou-se sensível apenas aos extratos de pó de folhas, a velocidade de germinação apresentou resposta dose-dependente para todas as soluções testadas. Quanto ao crescimento, a radícula foi a estrutura mais sensível, sendo a necrose de seu ápice a principal alteração morfo-anatômica encontrada.

Palavras-chave: alelopatia, espécies exóticas invasoras, pau-incenso, extratos aquosos.

ABSTRACT – (Allelopathic effect of *Pittosporum undultum* Vent. (Pittosporaceae) on germination and growth of *Bauhinia forficata* Link. (Fabaceae - Caesalpinioideae). *Pittosporum undulatum* Vent. (cheesewood), an Australian tree implicated in supression of tree recruiment in many ecosystems, is found invading secondary *Araucaria* forests in subtropical Brazil. This study aimed to investigate the role of allelopathy in the invasive process, accessing germination and growth of *Bauhinia forficata* Link. on the presence of secondary metabolites from cheesewood leaves. Leachates in concentrations of 20%, 15%, 10% and 5% (w/v), extracts from dry material (10%; 7,5%; 5% and 2,5%) and coumarin solutions (2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM and 0,3125 mM) were prepared. Petri-dishes germination bioassays, with countings done at each 12

hours, allowed to determinate both germinability and germination rate; polyethylene glycol (PEG 6000) solutions were used to evaluate osmotic effects. For seedlings growth, the three highest concentrations of each solution were tested and, after seven days, root and shoot length were measured. While germinability was only sensitive to extracts from dry material, the germination rate showed a dose-dependent curve for all solutions. In seedlings, roots were the most sensitive structure and necrosis was commonly observed.

Key-words: allelopathy, invasive alien species, cheesewood, aqueous extracts.

Introdução

A interferência alelopática pode exercer influência significativa nas estruturas e processos de comunidades vegetais e sua importância pode ser percebida em ecossistemas florestais de todo o mundo (Blanco 2007). A grande diversidade química, a baixa especificidade de ação e a variedade de formas com que os metabólitos secundários são liberados fazem com que eles intermediem um grande número de relações ecológicas (Inderjit & Weiner 2001; Reigosa *et al.* 1999).

Os aleloquímicos estão relacionados ao sucesso das invasões biológicas. Enquanto comunidades vegetais conservadas tendem a desenvolver relações alelopaticamente neutras, espécies exóticas, beneficiando-se da falta de coexistência evolutiva, muitas vezes trazem consigo metabólitos secundários que causam algum tipo de inibição às espécies nativas (Rabotnov 1984; Shea & Chesson 2002). Áreas onde plantas invasoras atingem altos valores de importância, culminando em situações de monodominância, podem possivelmente ser explicadas por alelopatia (Ouden 2000; Hierro & Callaway 2003).

Pittosporum undulatum Vent., árvore da família Pittosporaceae originária da Austrália, pode ser encontrada invadindo formações florestais no seu país de origem, no Caribe, Açores, Havaí e África do Sul, exercendo forte influência sobre o recrutamento

de espécies nativas (Goodland & Healey 1996). No Brasil, onde é popularmente conhecida como pau-incenso, ocorre principalmente no sul do país, causando impactos significativos na Floresta Ombrófila Mista. A presença de grandes quantidades de terpenóides em suas folhas (Ferreira *et al.* 2006; Lago *et al.* 2006), conferindo à árvore um odor característico que deu origem a seu nome popular, sugere a influência de substâncias alelopáticas no processo de invasão.

A associação de experimentos de germinação e crescimento à análise anatômica de radículas é importante para a elucidação dos efeitos alelopáticos sobre o metabolismo vegetal. Segundo Einhellig (1996), as alterações macroscopicamente observáveis nas espécies receptoras são resultados secundários de interações moleculares em eventos bioquímicos bastante diversificados. O conhecimento de aspectos ecofisiológicos sobre relações alelopáticas entre espécies exóticas e a vegetação circundante é um importante subsídio para o manejo do processo invasivo.

O objetivo desse trabalho foi conhecer o potencial alelopático de folhas de *Pittosporum undulatum* sobre sementes e plântulas de *Bauhinia forficata* Link. (pata-de-vaca), uma árvore pioneira nativa que ocorre nos mesmos ambientes da espécie invasora.

Material e métodos

Preparação do extrato aquoso lixiviado - Em agosto de 2007, folhas adultas de *Pittosporum undulatum* foram coletadas no Parque Municipal da Barreirinha (25°25'40"S, 49°16'23"W), localizado em Floresta Ombrófila Mista montana de Curitiba-PR (Fig. 1 e 2). Acondicionadas em geladeira a 5 °C durante 24 horas, elas foram imersas em água destilada na proporção de 1:4 (m/v), na ausência de luz (Fig. 3A). Decorridas 24 horas de extração aquosa, as folhas foram separadas e a solução

passou por peneiras de porosidade decrescente para retenção de partículas sólidas (Fig. 3B). O extrato obtido, em concentração de 20%, foi fracionado em recipientes plásticos (Fig. 3C) e congelado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a montagem dos experimentos, quando foram medidos o pH e o potencial osmótico (pHmetro Analion PM 608 e osmômetro $\mu\text{Osmette 5004}$, respectivamente).

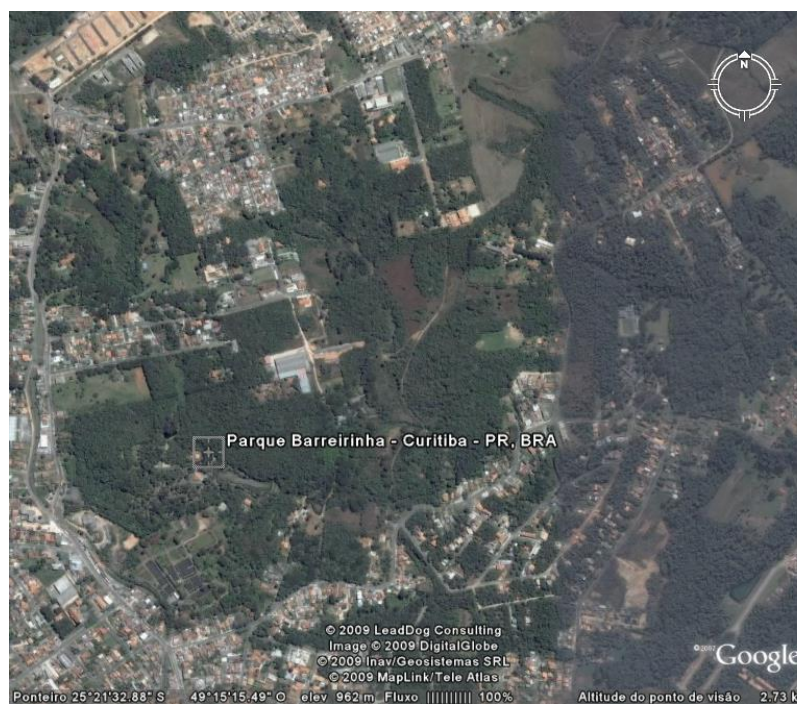


Figura 1. Vista aérea do Parque Municipal da Barreirinha, em Curitiba - PR.



Figura 2. Folhas adultas de pau-incenso (*Pittosporum undulatum*) Vent.



Figura 3. Etapas da preparação do extrato lixiviado. (A) Extração aquosa na ausência de luz. (B) Passagem por peneiras. (C) Fracionamento em recipientes plásticos.

Preparação do extrato aquoso obtido do pó de folhas lixiviadas - As folhas usadas na preparação do extrato aquoso lixiviado foram secas, primeiramente em casa-de-vegetação durante 48 horas e posteriormente em estufa com ventilação forçada a 40°C, pelo mesmo período (Fig. 4A). O material vegetal seco foi utilizado para a realização de testes fitoquímicos qualitativos, seguindo especificações de Falkenberg *et al.* (1999). Após a secagem, as folhas foram moídas em moinho industrial, embaladas a vácuo em sacos plásticos (Fig. 4B) e congeladas a -18 °C até o início da montagem dos experimentos. Para extração aquosa, o pó das folhas foi homogeneizado e deixado durante 24 horas em solução com água na proporção de 1:9 (m/v), a 5 °C e protegido da luz (Astarita *et al.* 1996). Decorrido o tempo determinado, a solução passou por peneiras de porosidade decrescente, quando finalmente foi filtrada em funil de Buckner contendo papel-filtro Whatman # 1, acoplado a uma bomba elétrica a vácuo (Fig. 4C). Os extratos, em concentração inicial de 10%, foram preparados na ocasião da montagem dos experimentos, quando também foram medidos o pH e o potencial osmótico.

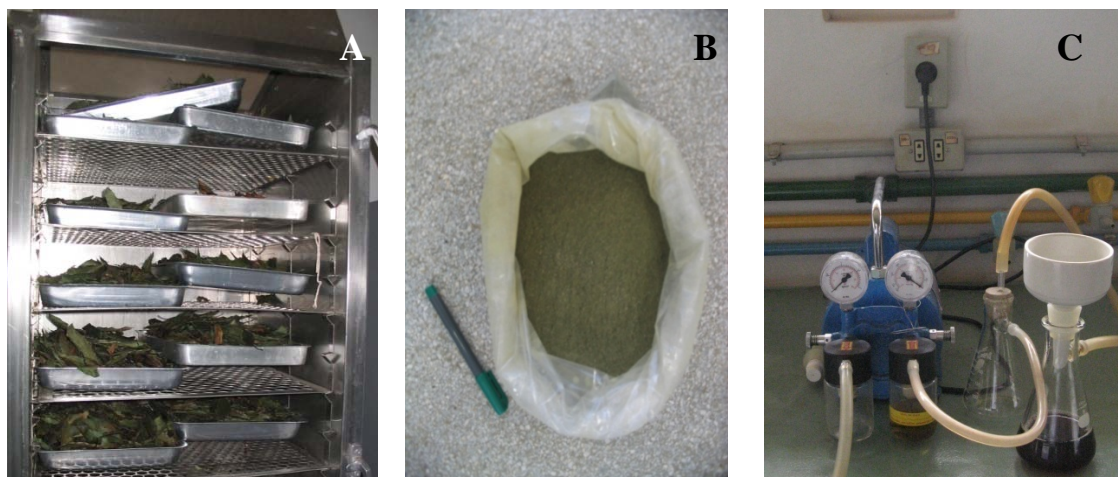


Figura 4. Etapas da preparação do extrato do pó de folhas lixiviadas. (A) Secagem das folhas em estufa. (B) Fracionamento do pó (C) Filtragem em bomba a vácuo

Bioensaios de germinação - As sementes de *Bauhinia forficata* utilizadas foram cedidas pela Embrapa Florestas, localizada em Colombo, PR. De acordo com resultados obtidos em pré-teste, a quebra de dormência dos propágulos foi feita por imersão em ácido sulfúrico p.a. durante 15 minutos. Foram realizados quatro tratamentos com extratos lixiviados (20%, 15%, 10% e 5%), quatro tratamentos com extratos obtidos a partir do pó das folhas (10%; 7,5%; 5% e 2,5%), quatro tratamentos com soluções alcoólicas de cumarina (2,5 mM ; 1,25 mM; 0,625 mM e 0,3125 mM), além de um tratamento controle com água destilada. Para isolar o efeito osmótico dos extratos e do álcool nas soluções de cumarina, também foram testadas soluções de polietileno glicol - PEG 6000 (Villela *et al.* 1991) e de álcool, respectivamente. Cada tratamento contou com quatro repetições de 25 sementes, distribuídas em placas de Petri de 140 mm de diâmetro previamente esterilizadas com álcool 96 °GL, contendo duas folhas de papel-filtro Whatman #1 e 8 ml das soluções (Fig. 5A). As placas foram dispostas aleatoriamente na câmara de germinação (Estufa BOD), à temperatura constante de 30 °C e fotoperíodo de oito horas de luz fluorescente branca (Rosa & Ferreira 2001). As sementes foram consideradas germinadas quando possuíam aproximadamente 2 mm de protrusão

radicular (Fig. 5B). As contagens, feitas em intervalos regulares de 12 horas, foram encerradas 72 horas após a constatação da última semente germinada; os propágulos deteriorados foram retirados dos recipientes assim que constatados.

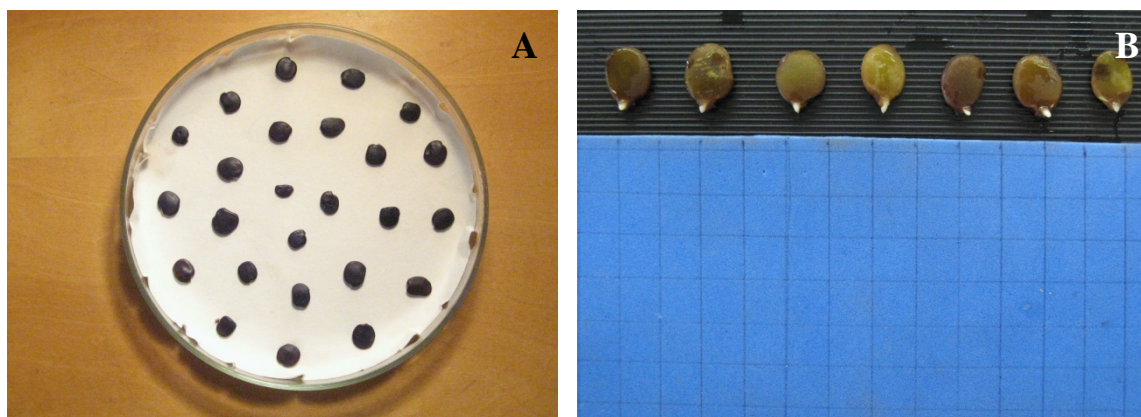


Figura 5. Bioensaios de germinação (A) Sementes dispostas em placas de Petri (B) Sementes recém-germinadas.

Bioensaios de crescimento - Para os experimentos de crescimento, foram utilizadas sementes pré-germinadas em água destilada, com raízes de aproximadamente 2 mm de comprimento. Cada uma das quatro repetições por tratamento constituía-se de caixas plásticas (30,5 x 24,5 x 2 cm), previamente esterilizadas com álcool e especialmente desenvolvidas para o crescimento de plântulas pelo Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, Argentina). Como substrato, foi utilizado 4 g de algodão uniformemente distribuído sobre a superfície do recipiente, uma camada de papel germitest e uma última camada de papel-filtro qualitativo, embebidos com 45 ml das soluções testadas (Fig. 6A). Foram realizados três tratamentos com extratos lixiviados (20%, 15%, 10%), três tratamentos com extratos obtidos a partir do pó das folhas (10%; 7,5%; 5%), três tratamentos com soluções alcoólicas de cumarina (2,5 mM ; 1,25 mM; 0,625 mM), além de um tratamento controle e um tratamento com solução alcoólica. Cada tratamento foi constituído por quatro repetições de 15 plântulas cada (Fig. 6B). As

caixas foram dispostas aleatoriamente em câmara climatizada, nas mesmas condições do experimento de germinação. Após sete dias, as plântulas foram escaneadas em resolução de 300 dpi e medições de raiz e parte aérea foram feitas com o software Image Pro.

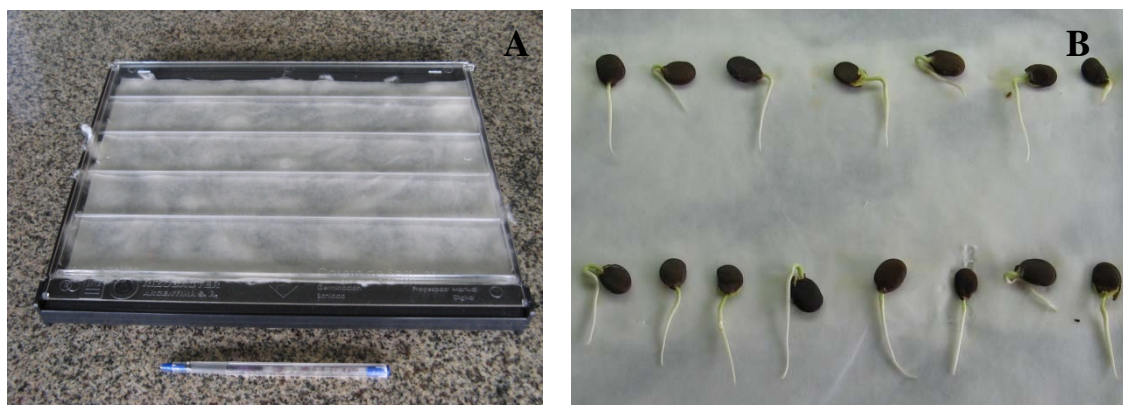


Figura 6. Bioensaios de crescimento. (A) Caixas com substrato (B) Plântulas em réplica do tratamento controle.

Análise morfo-anatômica – Para os estudos anatômicos, foram realizados cortes histológicos longitudinais de radículas desenvolvidas na presença do extrato aquoso obtido do pó de folhas lixiviadas (10%) e água destilada. Ápices radiculares de plântulas de dois e quatro dias foram fixados em FAA 70 e emblocados em historresina, segundo a técnica de Feder & O’Brian (1968). Cortes de 5 μ m de espessura foram obtidos a partir da secção dos blocos em micrótomo rotativo (RM 2155 - Leica). A coloração foi realizada com azul de toluidina (O’Brian *et al.* 1964) e as lâminas foram montadas em resina sintética Permound. Alguns aspectos morfológicos das plântulas (presença de raízes secundárias, pelos radiculares e necroses) foram avaliados ao término dos bioensaios de crescimento.

Análise estatística - Foram calculadas a velocidade (Lavoriau 1983) e as porcentagens de germinação. Os dados referentes ao processo germinativo e ao crescimento foram submetidos a análise de variância (ANOVA), sendo posteriormente examinados com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para cada tipo de solução testada, as concentrações foram comparadas entre si e com o tratamento controle.

Os experimentos de germinação e crescimento foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia de Sementes do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos. A análise anatômica das plântulas foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná.

Resultados e discussão

Características dos extratos – Os valores de pH encontrados nesse estudo (Tab. 1) podem ser considerados aceitáveis. De acordo com Rice (1984) e Ferreira & Aquila (2000), apenas condições de extrema acidez ou alcalinidade afetam decisivamente a germinação de sementes e o crescimento de plântulas.

Os valores de potenciais osmóticos encontrados (Tab. 1) não foram inibitórios à germinação das sementes, exceto para a solução de cumarina a 2,5mM. O composto fenólico em sua maior concentração apresentou efeito inibitório estatisticamente semelhante à sua respectiva solução de PEG 6000. Diversos compostos, como aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos podem alterar consideravelmente as condições das soluções-teste, provocando efeitos similares aos causados por fitoalexinas (Ferreira & Aquila 2000).

Tabela 1. Valores de pH e potencial osmótico dos extratos aquosos foliares de *Pittosporum undulatum* Vent. e de solução de cumarina, em suas maiores concentrações.

| Solução | pH | Potencial osmótico (MPa) |
|--|------|--------------------------|
| Extrato lixiviado 20% | 4,68 | 0,088 |
| Extrato do pó de folhas lixiviadas 10% | 4,10 | 0,221 |
| Cumarina 2,5 mM | 6,63 | 0,398 |

Germinação – No tratamento controle foram verificados índices elevados para porcentagem (Fig. 7) e velocidade média de germinação (Fig. 8), atestando a qualidade das sementes de *Bauhinia forficata* e das condições utilizadas nos experimentos. Os valores presentes nesse estudo são maiores do que os encontrados por Pereira (1992) e Lopes *et al.* (2006) em trabalhos utilizando propágulos da mesma espécie.

As médias de germinabilidade obtidas com os extratos lixiviados, superiores a 90%, igualaram-se estatisticamente ao tratamento controle. Em relação às soluções de cumarina, houve inibição alelopática significativa apenas na concentração de 1,25mM. Os menores valores médios foram obtidos com o extrato do pó de folhas, cujos efeitos dose-dependentes diferiram estatisticamente do tratamento controle a partir da concentração 7,5% (Fig 7).

Comparativamente às porcentagens, as velocidades médias de germinação apresentaram maior sensibilidade aos tratamentos, respondendo de maneira dose-

dependente a todos os tipos de soluções testadas (Fig. 8). Os extratos aquosos lixiviados causaram atrasos significativos no processo germinativo a partir da concentração de 10%. Os extratos obtidos do pó de folhas retardaram a germinação independentemente das concentrações testadas. As soluções mais concentradas de cumarina também foram responsáveis por severos efeitos inibitórios, resultando nos menores valores numéricos de velocidade média.

Diversos estudos demonstraram que a inibição produzida por substâncias alelopáticas se expressa principalmente sobre a velocidade de germinação, enquanto o percentual de sementes germinadas pode permanecer inalterado (Periotto *et al.* 2004; Barreiro *et al.* 2005). Provavelmente, as concentrações dos aleloquímicos responsáveis por esses efeitos desaceleram as reações bioquímicas e enzimáticas responsáveis pelo processo germinativo, sendo, porém, insuficientes para bloquear a emissão radicular (Harborne 1997; Santana & Ranal 2000).

Os efeitos alelopáticos dos extratos lixiviados geralmente são atribuídos às substâncias presentes na superfície foliar, como ácidos graxos, ceras e secreções liberadas por tricomas. Em trabalho investigando a ação aleloquímica de *Pinus radiata* D. Don, Guerrero & Bustamante (2007) demonstraram que extratos lixiviados podem aumentar, numa relação dose-dependente, o tempo médio de germinação de sementes de *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser.

Testes fitoquímicos feitos neste estudo a partir do pó de folhas de *Pittosporum undulatum* mostraram a presença de taninos, triterpenos e saponinas. Levantamentos em literatura também indicam grandes quantidades de terpenóides e compostos derivados (Medeiros *et al.* 2003; Ferreira *et al.* 2007). Diversos metabólitos secundários descritos para o pau-incenso, principalmente terpenóides, já foram associados a efeitos inibitórios em processos germinativos de gramíneas (Abrahim *et al.*

2000; Tunbridge *et al.* 2000; Ferreira *et al.* 2006). A inibição alelopática muitas vezes resulta da ação sinérgica de um grupo de aleloquímicos interferindo em diversos processos metabólicos (Einhellig 1996).

Entre outras conseqüências fisiológicas, as cumarinas podem diminuir a entrada de água, o consumo de oxigênio e a capacidade de retenção de eletrólitos no interior da semente (Abenavoli *et al.* 2006). Os resultados encontrados referentes à germinação de *Bauhinia forficata* na presença de cumarina diferiram dos encontrados por Alotta *et al.* (1993), em que sua aplicação diminuiu significativamente tanto a velocidade quanto o percentual germinativo de *Raphanus sativus*. O tamanho da semente, a proteção conferida pelas substâncias de reserva e a espessura do tegumento podem ter amenizado os efeitos nocivos do composto fenólico sobre as sementes de *Bauhinia forficata*.

Excetuando-se a solução de cumarina em concentração de 2,5 mM, os efeitos germinativos verificados neste estudo podem ser explicados por interações alelopáticas. A inibição da germinabilidade causada pela maior concentração do composto fenólico (Fig. 7) deve ter sido fortemente influenciada por seu potencial osmótico (Tab. 1), já que o valor médio para esse tratamento igualou-se estatisticamente ao encontrado em sua respectiva solução de PEG 6000. Em estudos com *Mimosa bimucronata* DC. Kuntze, Astarita *et al.* (1996) também concluíram que potenciais osmóticos de 0,4 MPa podem ter influência determinante nos padrões germinativos dessa espécie.

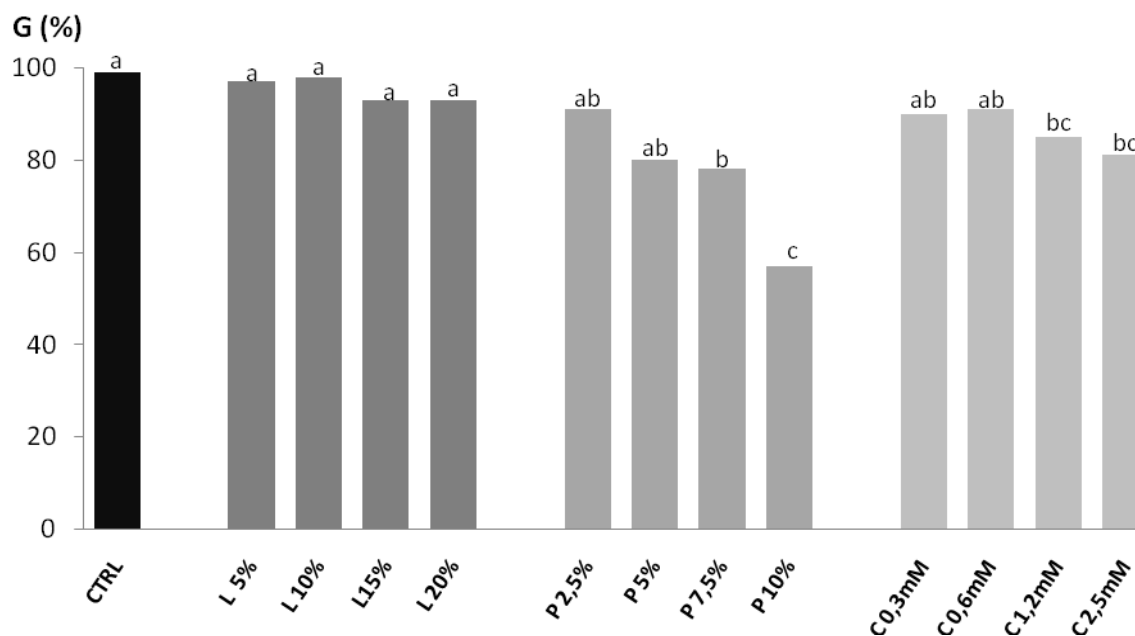


Figura 7. Porcentagem de germinação de sementes de *Bauhinia forficata* Link., submetidas a diferentes extratos aquosos de folhas de *Pittosporum undulatum* Vent. e a soluções de cumarina. (CTRL = controle; L = extrato lixiviado; P = extrato obtido do pó de folhas lixiviadas; C = soluções de cumarina). Letras iguais indicam que os valores médios não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

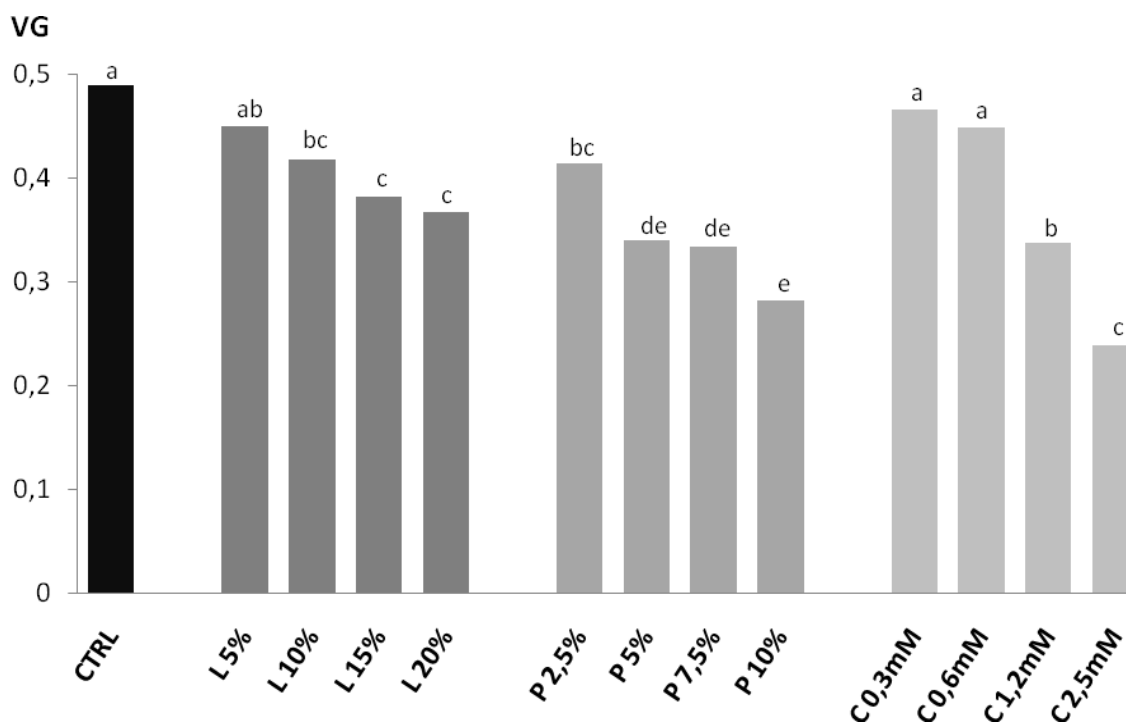


Figura 8. Velocidade de germinação (dias^{-1}) de sementes de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes extratos aquosos de folhas de *Pittosporum undulatum* Vent. e a cumarina. (CTRL = controle; L = extrato lixiviado; P = extrato obtido do pó de folhas lixiviadas; C = soluções de cumarina). Letras iguais indicam que os valores médios não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Crescimento – A parte aérea das plântulas mostrou-se pouco sensível aos efeitos dos tratamentos. O comprimento das raízes, por outro lado, apresentou ampla variabilidade de respostas, havendo inibição dose-dependente para todas as soluções testadas (Fig. 9). Esse padrão de susceptibilidade é comum em estudos de alelopatia, já tendo sido encontrados por Aires *et al.* (2005) e Maraschin-Silva & Aquila (2005) em plântulas de *Sesamum indicum* L. (gergelim) e *Lactuca sativa* L. (alface), respectivamente. Características ecofisiológicas relacionadas à absorção de água e sais minerais fazem com que o sistema radicular seja mais sensível à ação aleloquímica do que a parte aérea (Reigosa *et al.* 1999).

Os extratos lixiviados, independentemente da concentração, foram responsáveis por médias de comprimentos radiculares estatisticamente inferiores à do tratamento com água destilada. Apesar de apresentarem partes aéreas normais, com valores de comprimento semelhantes ao controle, algumas plântulas analisadas mostravam sinais de necrose em seus ápices radiculares.

Soares & Vieira (2000), estudando o potencial alelopático de extratos aquosos de pteridófitas, concluíram que regiões necrosadas em raízes de alface assemelhavam-se aos danos causados por detergentes naturais, como as saponinas. A grande quantidade de espuma formada ao manipular o extrato lixiviado e levantamentos fitoquímicos confirmando a presença de saponinas triterpenoídicas em folhas de *Pittosporum undulatum* (Medeiros *et al.* 2003; Ferreira *et al.* 2006) também sugerem a associação desses compostos aos efeitos alelopáticos da espécie.

Apesar de não haver diferença estatística em relação ao tratamento controle, os extratos de folhas moídas foram responsáveis pelos maiores valores numéricos para comprimentos de parte aérea (Fig. 9). Esses resultados concordam com os dados encontrados por Gatti *et al.* (2004), que demonstraram que determinadas concentrações de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* estimulam o crescimento do hipocótilo em plântulas de alface.

Os valores médios para comprimentos de raízes crescidas na presença do extrato de pó de folhas foram baixos, aproximando-se daqueles encontrados nos tratamentos com cumarina. Em estudo investigando a autoxicidade da alfafa, Chon *et al.* (2002) também verificaram que soluções de compostos fenólicos podem causar efeitos alelopáticos semelhantes aos causados por extratos aquosos. Diferentemente dos extratos lixiviados, muitos metabólitos secundários inter e intracelulares são liberados na preparação de extratos obtidos a partir de pó de folhas. A ação aditiva ou sinérgica dos terpenos,

taninos e saponinas, encontrados em folhas de *Pittosporum undulatum*, pode ter tido papel fundamental nos efeitos inibitórios causados nas raízes.

As soluções de cumarina foram responsáveis por efeitos inibitórios pronunciados, causando fortes reduções tanto dos comprimentos radiculares como de parte aérea. Esses compostos fenólicos, encontrados em Pittosporaceae (Simões *et al.* 1999), são capazes de atuar sobre amplo espectro de processos fisiológicos vegetais mesmo em baixas concentrações (Chon *et al.* 2002). Os seus mecanismos de ação geralmente são mediados por etileno, incluindo reduções no alongamento celular, na elasticidade da parede celular, desequilíbrios hormonais de auxinas e alterações bruscas na curvatura geotrópica (Alexieva *et al.* 1995).

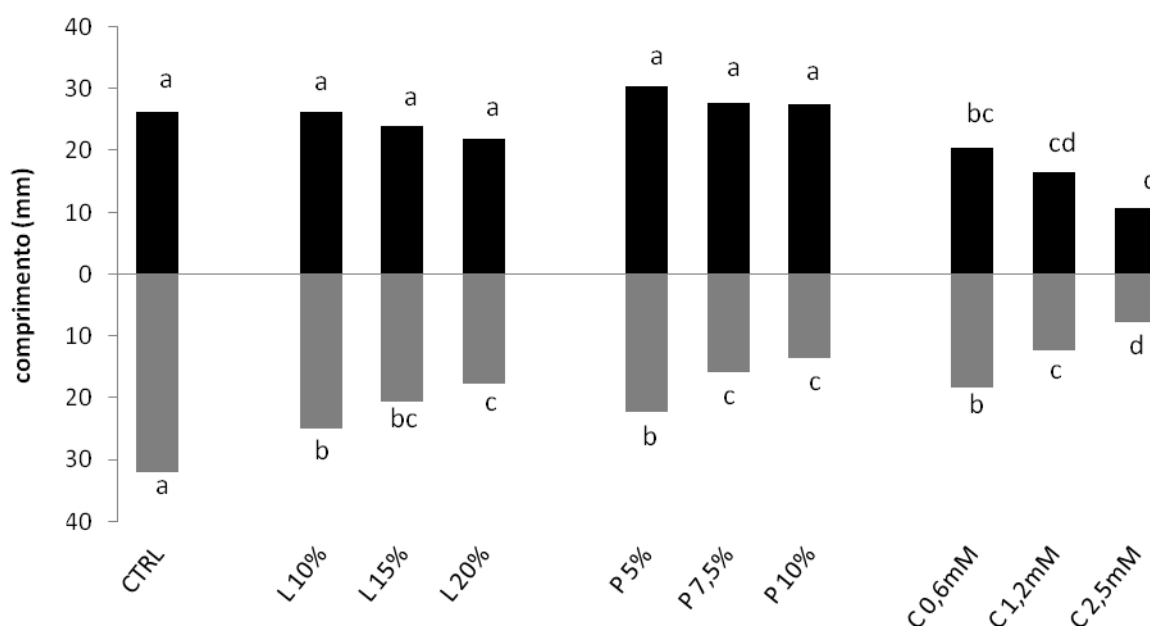


Figura 9. Comprimentos de parte aérea (em preto) e raiz (em cinza) de plântulas de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes extratos aquosos de folhas de *Pittosporum undulatum* Vent. e a cumarina. (CTRL= controle; L = extrato lixiviado; P = extrato obtido do pó de folhas lixiviadas; C = soluções de cumarina). Letras iguais indicam que os valores médios não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Análise morfo-anatômica - Danos superficiais na região de alongamento celular foram visíveis em radículas crescidas por dois dias na presença do extrato, enquanto plântulas do tratamento controle de mesma idade apresentaram células organizadas em toda a extensão radicular (Fig. 10). Aos quatro dias, as lesões causadas pelos agentes aleloquímicos mostraram-se profundas, atingindo a região cortical (Fig. 11).

A ação superficial dos extratos vegetais nas radículas indica que os efeitos alelopáticos devem-se principalmente a terpenóides, compostos altamente lipossolúveis capazes de interagir com membranas celulares por reações oxidativas ou formação de micelas (Soares & Vieira 2000; Abraham *et al.* 2001). O formato observado das lesões laterais (Fig. 11) provavelmente foi conseqüência da ação aleloquímica associada à continuidade do crescimento longitudinal em células adjacentes.

A necrose do ápice radicular foi o principal efeito morfológico em plântulas de *Bauhinia forficata* (Fig. 12B). Tanto o aprofundamento das lesões corticais, interrompendo o fluxo basípeto de carboidratos pelo cilindro vascular, quanto a ação direta dos compostos alelopáticos sobre as células meristemáticas contribuíram para as anormalidades observadas. Efeitos semelhantes causados por terpenóides foram encontrados por Abraham *et al.* (2001).

Ao final dos bioensaios de crescimento, as plântulas sensíveis à ação aleloquímica apresentaram muitas raízes laterais (Fig. 12). Efeitos alelopáticos semelhantes de ervas daninhas sobre *Picea abies* L. Karst. foram descritos por Schuck *et al.* (1976). A necrose do ápice radicular promove aumento na concentração de auxina, hormônio que, por atuar no alongamento e diferenciação das células do periciclo, estimula a emissão de novas raízes (Himanem *et al.* 2002).

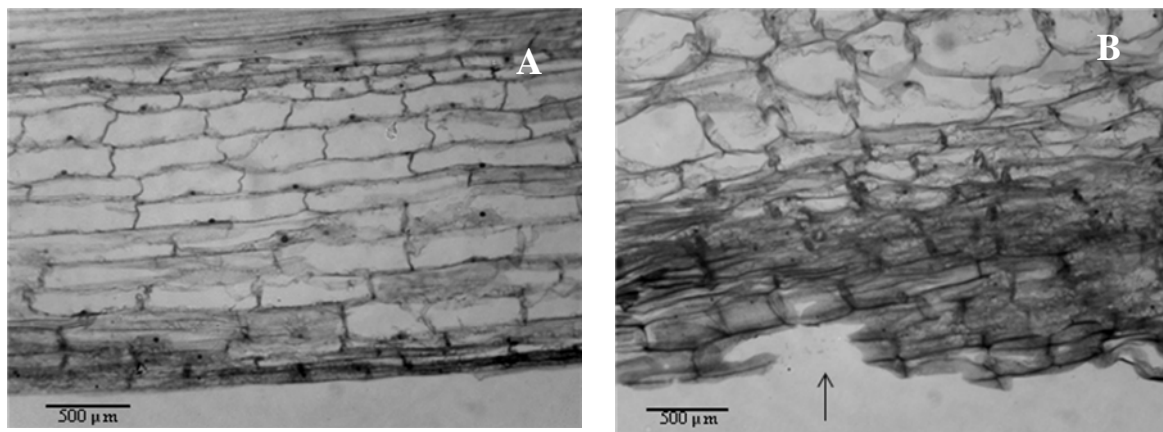


Figura 10. Secção longitudinal a 10 mm do ápice radicular em plântulas de *Bauhinia forficata* Link. de dois dias. (A) Plântula do tratamento controle com arranjo organizado das células. (B) Plântula crescida em extrato aquoso foliar de *Pittosporum undulatum* Vent. com lesão na superfície radicular e camadas superficiais necrosadas (indicadas pela seta).

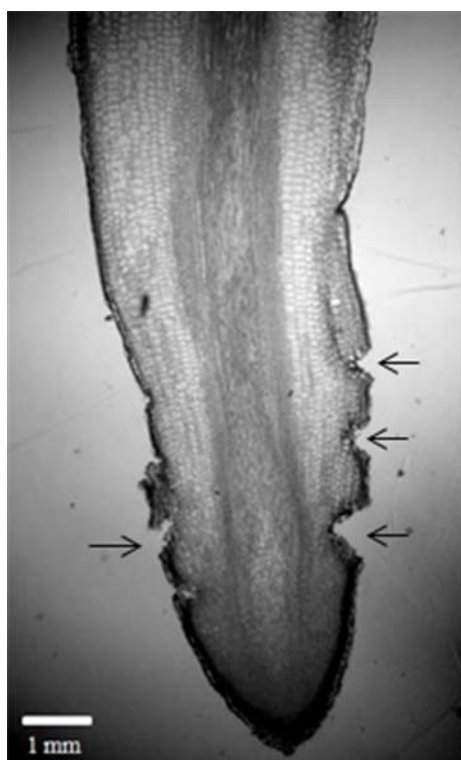


Figura 11. Secção longitudinal em radícula de *Bauhinia forficata* Link. crescida por quatro dias em extrato aquoso foliar de *Pittosporum undulatum* Vent. As setas indicam as lesões.

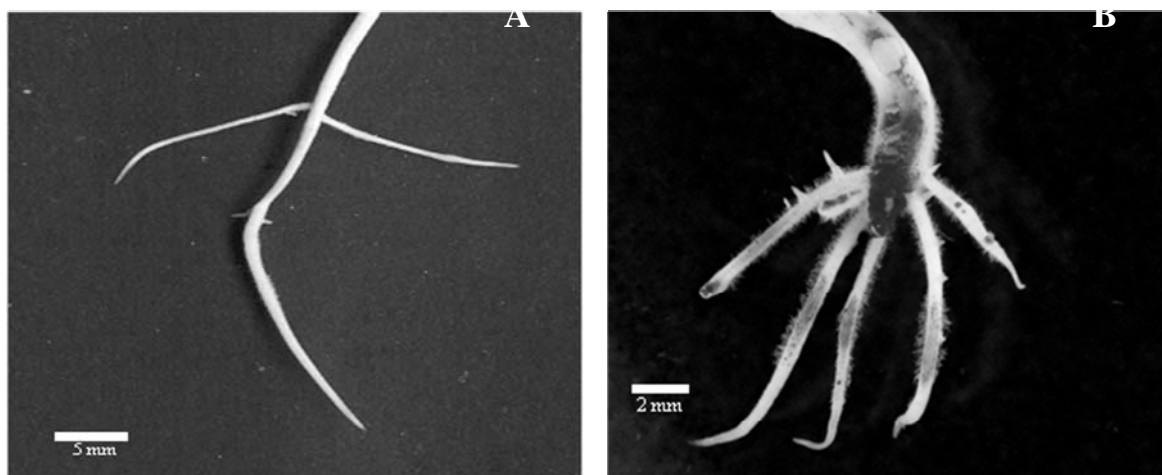


Figura 12. Aspecto externo de radículas de *Bauhinia forficata* Link aos sete dias. (A) Plântula do tratamento controle. (B) Plântula crescida em extrato aquoso foliar de *Pittosporum undulatum* Vent.

Considerações finais - Compostos presentes nas folhas de *Pittosporum undulatum* são capazes de influenciar a germinação e crescimento de *Bauhinia forficata* em condições laboratoriais. Para conhecer o verdadeiro papel da alelopatia na invasão biológica, entretanto, há necessidade de complementação com estudos de campo que levem em conta a heterogeneidade das condições ambientais. Estudos envolvendo solos de áreas ocupadas pelo pau-incenso, decomposição de resíduos vegetais e efeitos sobre outras plantas nativas devem ser conduzidos antes que se afirme a contribuição dos aleloquímicos dessa espécie nos processos invasivos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Antônio Medeiros (EMBRAPA Florestas), pela doação das sementes de *Bauhinia forficata* e a Dra. Maria Inês Salgueiro Lima (UFSCar), pelos conselhos dados durante a realização dos experimentos.

Referências bibliográficas

- Abenavoli, M.; Cacco, G.; Sorgoná, A.; Marabottini, R.; Paolacci, A.; Ciaffi, M. & Badiani, M. 2006. The inhibitory effects of coumarin on the germination of Durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*, cv. Simeto) seeds. **Journal of Chemical Ecology** **32**(2): 489-506.
- Abraham, D.; Braguini, W. L.; Kelmer-Bracht, A. M. & Ishii-Iwamoto, E. L. 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology** **26**(3): 611-624.
- Aires, S. S.; Ferreira, A. G. & Borghetti, F. 2005. 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 Botanica Brasilica** **19**(2): 339-344.
- Alexieva, V.; Karanov, E.; Nikolova, R.; Bojilov, A. 1995. Plant growth regulating activity of some phosphorus derivatives of coumarin. **Bulgarian Journal of Plant Physiology** **21**(1): 45-51.
- Alotta, G.; Cafiero, G.; Fiorentino, A. & Strumia, S. 1993. Inhibition of radish germination and root growth by coumarin and phenylpropanoids. **Journal of Chemical Ecology** **19**(2): 175-183.
- Astarita, L. V.; Ferreira, A. G. & Bergonci, J. I. 1996 *Mimosa bimucromata*: allelopathy and osmotic stress. **Allelopathy Journal** **3**(1): 43-50.
- Barreiro, A. P.; Delachiave, M. E. A & Souza, F. S. 2005. Efeito alelopático de extratos de parte aérea de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] na germinação e desenvolvimento da plântula de pepino. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** **8**(1): 4-8.

- Blanco, J. A. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. 2007. **Ecological Modelling** **209**(2-4): 65-77.
- Chon, S. U.; Choi, S. K.; Jung, S.; Jang, H. G.; Pyo, B. S. & Kim, S. M. 2002. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. **Crop Protection** **21**(10): 1077-1082.
- Einhellig, F. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal** **88**(6): 886-893.
- Falkenberg, M. B.; Santos, R. I. & Simões, C. M. O. 1999. Introdução a análise fitoquímica. Pp. 229-245. In: C. M. O. Simões.; E. P. Schenkel; G. Gosman.; J. C. P. Mello; L. A. Mentz & P. R. Petrovick(eds.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis, Editora da UFSC.
- Feder, N. & O'Brian, T. P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany** **55**(1): 123-142.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **12**(Edição especial): 175-204.
- Ferreira, N. J.; Sousa, I. G. M.; Luís, T. C.; Currais, A. J. M.; Figueiredo, A. C.; Costa, M. M.; Lima, A.S.B.; Santos, P. A. G.; Barroso, J. G.; Pedro, L. G. & Scheffer, J. J. C. 2006. *Pittosporum undulatum* Vent. grown in Portugal: secretory structures, seasonal variation and enantiomeric composition of its essential oil. **Flavour and Fragrance Journal** **22**(1): 1-6.
- Gatti, A. B.; Perez, S. C. J. G. A. & Lima, M. I. S. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica** **18**(3): 459-472.

- Goodland, T. & Healey, J. R. 1996. **The invasion of Jamaican montane rainforests by the Australiantree *Pittosporum undulatum***. Bangor, University of Wales.
- Guerrero, P. C. & Bustamante, R. O. 2007. Can native tree species regenerate in *Pinus radiata* plantations in Chile? Evidence from field and laboratory experiments. **Forest Ecology and Management** **253**(1-3): 97-102.
- Harborne, J. B. 1997. Plant secondary metabolism. Pp. 399-426. In: M. J. Crawley (ed.). **Plant Ecology**. Oxford, Blackwell Science.
- Hierro, J. L. & Callaway, R.M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil** **256**(1): 29-39.
- Himanem, K. Vanneste, S.; Engler, J. A.; Inzé, D. & Beeckman, T. 2002. Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation. **The Plant Cell** **14**(10): 2339-2351.
- Inderjit & Weiner, J. 2001. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology? **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics** **4**(1): 3-12.
- Inderjit & Duke, S. O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta** **217**(4): 529-539.
- Laboriau, L.G. 1983. **A germinação das sementes**. Washington, OEA.
- Lago, J. H. G.; Favero, O. A. & Romoff, P. 2006. Microclimatic factors and phenology influences in the chemical composition of the essential oils from *Pittosporum undulatum* Vent. leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society** **17**(7): 1334-1338.
- Lopes, J. C.; Barbosa, L. G. & Capucho, M. T. 2007. Germinação de sementes de *Bauhinia* spp. **Floresta** **32**(2): 265-274.

- Medeiros, J. R.; Campos, L. B.; Mendonça, S. C.; Davin, L. B. & Lewis, N. G. 2003. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from invasive species of the Azores, *Hedychium gardnerianum* and *Pittosporum undulatum*. **Phytochemistry** **64**(2): 561-565.
- O'Brian, T. P.; Feder, N. & McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cells by toluidine blue O. **Protoplasma** **59**: 368-373.
- Ouden, J. 2000. The allelopathic nature of bracken. Pp. 107-128. In: J. Ouden (ed.). **The role of bracken (*Pteridium aquilinum*) in forest dynamics**. Molenaarsgraaf, Esveco.
- Oyun, M. B. 2006. Allelopathic potentialities of *Gliricidia sepium* and *Acacia auriculiformis* on the germination and seedling vigour of maize (*Zea mays L.*). **American Journal of Agricultural and Biological Science** **1**(3): 44-47.
- Pereira, T. S. 1992. Germinação de sementes de *Bauhinia forficata* LINK. (Leguminosae Caesalpinoideae). **Revista Brasileira de Sementes** **14**(1): 77-82.
- Periotto, F.; Perez, S. C. J. G. A. & Lima, M. I. S. 2004. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. Ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa L.* e *Raphanus sativus L.* **Acta Botanica Brasílica** **18**(3): 425-430.
- Rabotnov, T. A. 1982. Importance of the evolutionary approach to the study of allelopathy. **Soviet Journal of Ecology** **12**: 127-130.
- Reigosa, M. J.; Sánchez-Moreiras, A. & González, L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences** **18**(5): 577-608.
- Rice, E.L. **Allelopathy**. 1984. 2^aed. New York, Academic Press.
- Rosa, S.G.T. & Ferreira, A. G. 2001. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botanica Brasílica** **15** (2): 147-154.

- Santana, D. G. & Ranal, M. A. 2000. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 12(Edição Especial): 205-237.
- Schuck, H.; Schutt, P. & Sydow, A. von. 1976. Allelopathic effects of Forest weeds. 2. Influence of weed extracts on root development of *Picea abies*. **Forstwissenschaftliches Centralblatt** 95(5/6): Abstract.
- Shea, K. & Chesson, P. 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. **Trends in Ecology and Evolution** 17(4): 170-176.
- Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosman, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. 1999. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis, Editora da UFSC.
- Soares, G. L. V. & Vieira, T. R. 2000. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. "Grand Rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente** 7(1): 180-197.
- Tunbridge, A.; Simmons, D. & Adams, R. 2000. Allelopathic effects of sweet Pittosporum *Pittosporum undulatum* Vent. on the germination of selected native plant species. **The Victorian Naturalist** 117(2): 44-50.
- Villela, F. A.; Filho, L. D. & Sequeira, E. L. 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 26(11-12): 1957-1968.

**Efeito alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) na
germinação e crescimento de *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (Poaceae)**

Efeito alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) na germinação e crescimento de *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (Poaceae)

RESUMO – (Efeito alelopático de *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) na germinação e crescimento de *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv (Poaceae)). A gramínea *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (capim-arroz), resistente a diversos herbicidas, traz problemas a plantações de arroz e à biodiversidade de planícies alagáveis em todo o mundo. O objetivo desse trabalho foi investigar o possível uso de material foliar de *Pittosporum undulatum* Vent. (pau-incenso) para o manejo do capim-arroz. Foram preparados extratos aquosos foliares lixiviados nas concentrações de 20%; 15%; 10%; 5% e 2,5% (m/v), extratos aquosos obtidos do pó de folhas lixiviadas e não-lixiviadas (10%; 7,5%; 5%; 2,5% e 1,25%), soluções de cumarina a 5mM; 2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM e 0,3125 mM e solução de Roundup® Original seguindo as recomendações do fabricante. Para os bioensaios de germinação em placas-de-petri, também foram preparadas soluções de polietileno glicol (PEG 6000) a fim de avaliar a influencia osmótica. Contagens, realizadas a cada 12 horas, permitiram determinar a porcentagem e velocidade germinativa. Para análise do crescimento, plântulas de sete dias submetidas aos extratos tiveram medidos seus comprimentos de radícula e parte aérea. A germinação, apesar de fortemente inibida pela cumarina, foi pouco sensível às demais soluções. Quanto ao crescimento, as radículas analisadas apresentaram necrose, ausência de pêlos e redução dose-dependente do comprimento para todos os tratamentos com exceção do controle. Os hipocótilos foram afetados pelo glifosato, cumarina e extratos aquosos de folhas não-lixiviadas. Apesar da ação alelopática, aspectos ecofisiológicos relativos ao pau-incenso ainda devem ser esclarecidos para que suas folhas possam ser usadas como herbicida.

Palavras-chave: alelopatia, agroecossistemas, áreas alagáveis, pau-incenso, capim-arroz.

ABSTRACT – (Allelopathic effect of *Pittosporum undulatum* Vent. (Pittosporaceae) on germination and growth of *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv (Poaceae)). Barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) is a herbicide-resistant weed that causes negative impacts on rice crops and threatens biodiversity of flood plains worldwide. The present study aimed to investigate the use of *Pittosporum undulatum* Vent.

(cheesewood) leaves as a sustainable alternative for barnyard grass control. Leachates in concentrations of 20%; 15%; 10%; 5% and 2,5% (w/v), aqueous extracts from powdered leached and non-leached leaves (10%; 7,5%; 5%; 2,5% and 1,25%), coumarin solutions (2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM and 0,3125 mM) and Roundup Original® according to label informations were prepared. Petri-dishes germination bioassays, with countings done at each 12 hours, allowed to determinate both germinabilty and germination rate; polyethylene glycol (PEG 6000) solutions were prepared to evaluate osmotic effects. In growth experiments, seedlings were exposed for seven days, when root and shoot length were measured. All solutions, with exception of coumarins, caused only small inhibitory effects on germination. In relation to the growth, all treatments but control caused necrose, absence of hairs and dose-dependent lenght reduction in radicles. Hipocotiles were affected by extracts from non-leached leaves, phenolic compounds and glyphosate. Ecophysiological aspects relative to *Pittosporum undulatum* still need to be cleared before its leaves can be used as a herbicide.

Key-words: allelopathy, agroecosystems, floodplains, cheesewood, barnyard grass.

Introdução

A alelopatia é uma forma de interferência química entre plantas mediada por metabólitos secundários, moléculas bioquimicamente diversificadas capazes de atuar em inúmeros processos fisiológicos (Harborne 1997). Apesar de, em 300 a.C., o primeiro relato sobre a interação ter abordado a perda de produtividade agrícola, apenas nas últimas décadas foi reconhecida a importância desses compostos vegetais na dinâmica dos agroecossistemas. Em áreas de cultivo, o conhecimento das relações alelopáticas é essencial para o manejo da produção (Einhellig 1996; Chou 1999).

Echinochloa crus-galli (L.) Beauv., uma gramínea euro-asiática conhecida no Brasil como capim-arroz, representa um dos mais sérios problemas às plantações de arroz em todo mundo. Além de seu impacto agrônômico, ela é globalmente encontrada

invadindo e diminuindo a biodiversidade em ambientes úmidos (Muller & Okuda 1998). O manejo da espécie é complexo devido à heterogeneidade das condições ambientais nas áreas onde ocorre e, principalmente, pela resistência a diversos tipos de herbicidas utilizados comercialmente. (Chun *et al.* 2002; Juraimi *et al.* 2006)

A incorporação de compostos alelopáticos ao controle de plantas indesejáveis pode substituir, com vantagens ambientais, a utilização de herbicidas sintéticos. A busca por plantas com compostos potencialmente úteis ao manejo ecológico frequentemente deriva da observação empírica e constitui-se em importante ferramenta para a construção da agricultura sustentável (Anaya 1999; Chou 1999).

Pittosporum undulatum Vent. (pau-incenso), árvore da família Pittosporaceae originária da Austrália, é encontrada invadindo vegetações secundárias de Floresta Ombrófila Mista na região subtropical do Brasil. A formação de povoamentos densos associada à presença de cumarinas e terpenóides em suas folhas (Ferreira *et al.* 2006; Lago *et al.* 2006), conferindo à árvore um odor característico que deu origem ao seu nome popular, sugere a influência de substâncias alelopáticas nas áreas onde ocorre.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos alelopáticos de *Pittosporum undulatum* na germinação e crescimento de *Echinochloa crus-galli*, lançando subsídios para a utilização de material vegetal foliar do pau-incenso no controle do capim-arroz.

Material e métodos

Preparação do extrato aquoso lixiviado – Em agosto de 2007, folhas adultas de *Pittosporum undulatum* foram coletadas no Parque Municipal da Barreirinha, em Floresta Ombrófila Mista montana de Curitiba-PR (25°25'40"S, 49°16'23"W). Acondicionadas em geladeira a 5 °C durante 24 horas, elas foram imersas em água

destilada na proporção de 1:4 (m/v), na ausência de luz. Decorridas 24 horas de extração aquosa, as folhas foram separadas e a solução passou por peneiras metálicas de porosidade decrescente para retenção de partículas sólidas. O extrato obtido, em concentração de 20%, foi fracionado em recipientes plásticos e congelado a -18 °C até a montagem dos experimentos, quando foram medidos o pH e o potencial osmótico (pHmetro Analion PM 608 e osmômetro μ Osmette 5004, respectivamente).

Preparação do extrato aquoso obtido do pó de folhas lixiviadas – As folhas usadas na preparação do extrato aquoso lixiviado foram secas, primeiramente em casa-de-vegetação durante 48 horas e posteriormente em estufa com ventilação forçada a 40°C, pelo mesmo período. O material vegetal resultante foi utilizado para a realização de testes fitoquímicos qualitativos, seguindo especificações de Falkenberg *et al.* (1999). As folhas secas foram moídas em moinho industrial, embaladas a vácuo em sacos plásticos e congeladas a -18 °C até o início da montagem dos experimentos. Para extração aquosa, o pó das folhas foi homogeneizado e deixado durante 24 horas em solução com água na proporção de 1:9 (m/v), a 5 °C e protegido da luz (Astarita *et al.* 1996). Decorrido o tempo determinado, a solução passou por peneiras de porosidade decrescente, sendo finalmente filtrada em funil de Buckner contendo papel-filtro Whatman # 1 acoplado a uma bomba elétrica a vácuo. Os extratos, em concentração inicial de 10%, foram preparados na ocasião da montagem de experimentos, quando tinham medidos seu pH e potencial osmótico.

Preparação do extrato aquoso obtido do pó de folhas não-lixiviadas – Folhas coletadas no mesmo período, mas que não sofreram lixiviação, foram submetidas aos mesmos processos realizados para preparação do extrato aquoso do pó de folhas lixiviadas.

Bioensaios de germinação - Propágulos de *Echinochloa crus-galli*, adquiridos junto à empresa Shokucho do Brasil Agrícola Ltda., foram selecionados visualmente, eliminando-se as sementes defeituosas ou carunchadas. Além de dois tratamentos com água destilada, foram realizados cinco tratamentos com extratos lixiviados (20%, 15%, 10%, 5% e 2,5%), cinco tratamentos com soluções alcoólicas de cumarina (5 mM; 2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM e 0,3125 mM) e cinco tratamentos para cada tipo de extrato obtido a partir do pó de folhas (10%; 7,5%; 5%; 2,5% e 1,25%). Houve ainda um tratamento com o herbicida glifosfatado Roundup® Original na concentração recomendada pelo fabricante. Soluções de etanol e polietileno glicol - PEG 6000 (Villega *et al.* 1991) também foram testadas para isolar, respectivamente, o efeito alcoólico nas soluções de cumarina e da osmolaridade nos extratos. Cada tratamento contou com quatro repetições de 25 sementes, distribuídas em placas de Petri de 90 mm de diâmetro previamente esterilizadas com álcool 96 °GL. Como substrato, foram utilizadas duas folhas de papel-filtro Whatman #1 embebidas em 5 ml das soluções. As placas foram dispostas aleatoriamente na câmara de germinação (Estufa BOD) a temperaturas de 30 / 20 °C e fotoperíodo de doze horas de luz fluorescente branca (Rahman & Ungar 1990). As sementes foram consideradas germinadas ao apresentarem aproximadamente 2 mm de protrusão radicular. As contagens, feitas em intervalos regulares de 12 horas, eram encerradas 72 horas após a constatação da última semente germinada.

Bioensaios de crescimento - Sementes pré-germinadas em água destilada, com raízes de aproximadamente 2 mm de comprimento, foram colocadas em caixas plásticas transparentes (19,5 x 13 x 6 cm) esterilizadas com álcool. Como substrato, utilizou-se uma camada de papel germitest e uma camada de papel-filtro qualitativo embebidas

com 15 ml das soluções testadas (Fig 1 A). As condições da câmara climatizada, o delineamento experimental e os tratamentos foram os mesmos dos experimentos de germinação. Cada tratamento foi constituído por quatro repetições de 15 plântulas. Após sete dias, as plântulas foram escaneadas em resolução de 300 dpi (Fig. 1B) e medições de raiz e parte aérea foram feitas com o software Image Pro. Aspectos morfológicos, tais como presença de raízes secundárias, pelos radiculares e necrose também foram verificados.

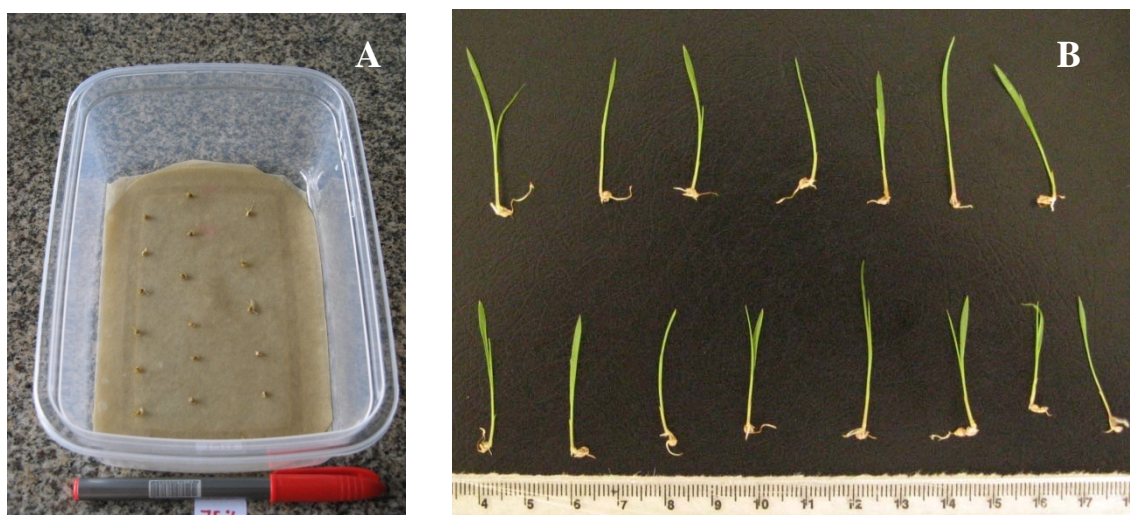


Figura 1. Bioensaios de crescimento. (A) Réplica de tratamento com extrato aquoso (B) Imagem escaneada.

Análise estatística – As porcentagens, transformadas em arco-seno, e as velocidades de germinação foram calculadas segundo Laboriau (1983). Os dados referentes ao processo germinativo e ao crescimento foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia de Sementes do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

Resultados

Germinação – Extratos de folhas intactas lixiviadas de *Pittosporum undulatum* tiveram pouca influência sobre o processo germinativo de *Echinochloa crus-galli* (Fig. 2). Enquanto a velocidade de germinação permaneceu inalterada em relação ao tratamento controle, a germinabilidade apresentou redução significativa apenas para a concentração de 10%. As soluções mais concentradas de cumarina, por outro lado, inibiram fortemente ambas as variáveis.

Os extratos do pó de folhas lixiviadas e não-lixiviadas tiveram efeitos inibitórios semelhantes sobre os parâmetros germinativos analisados (Fig. 3), evidenciando a presença de compostos aleloquímicos mesmo após o processo de lixiviação. Apesar de moderada ação alelopática, houve resposta dose-dependente em todos os casos. O herbicida comercial Roundup® Original inibiu significativamente a capacidade germinativa, igualando-se estatisticamente aos extratos do pó de folhas lixiviadas a partir da concentração de 5% e ao extrato do pó de folhas não-lixiviadas em todas suas concentrações. A velocidade de germinação, como esperado, não foi afetada pelo glifosato.

Crescimento – Os extratos aquosos lixiviados e as soluções de cumarina apresentaram forte efeito inibitório sobre as radículas, havendo inibição estatisticamente significativa em relação ao tratamento controle para todas as concentrações testadas. A parte aérea das plântulas, por outro lado, mostrou-se sensível apenas às soluções de cumarina, respondendo de maneira dose-dependente aos compostos (Fig. 4).

Os extratos obtidos do pó de folhas lixiviadas e não-lixiviadas foram responsáveis por pronunciadas reduções do comprimento radicular, independentemente das concentrações testadas. O tratamento com o herbicida comercial Roundup® Original

também apresentou forte ação alelopática, igualando-se estatisticamente às concentrações intermediárias (2,5% e 5%) de ambos os extratos vegetais (Fig. 5).

A parte aérea das plântulas teve seu comprimento significativamente reduzido pelo efeito do glifosato e, em escala menos acentuada, pelas maiores concentrações do extrato do pó de folhas não-lixiviadas. Por outro lado, os hipocótilos crescidos em extratos obtidos do pó de folhas lixiviadas não mostraram diferença estatística em relação ao controle, mas resultaram em valores médios distribuídos de maneira ascendente em curva dose-dependente (Fig. 5).

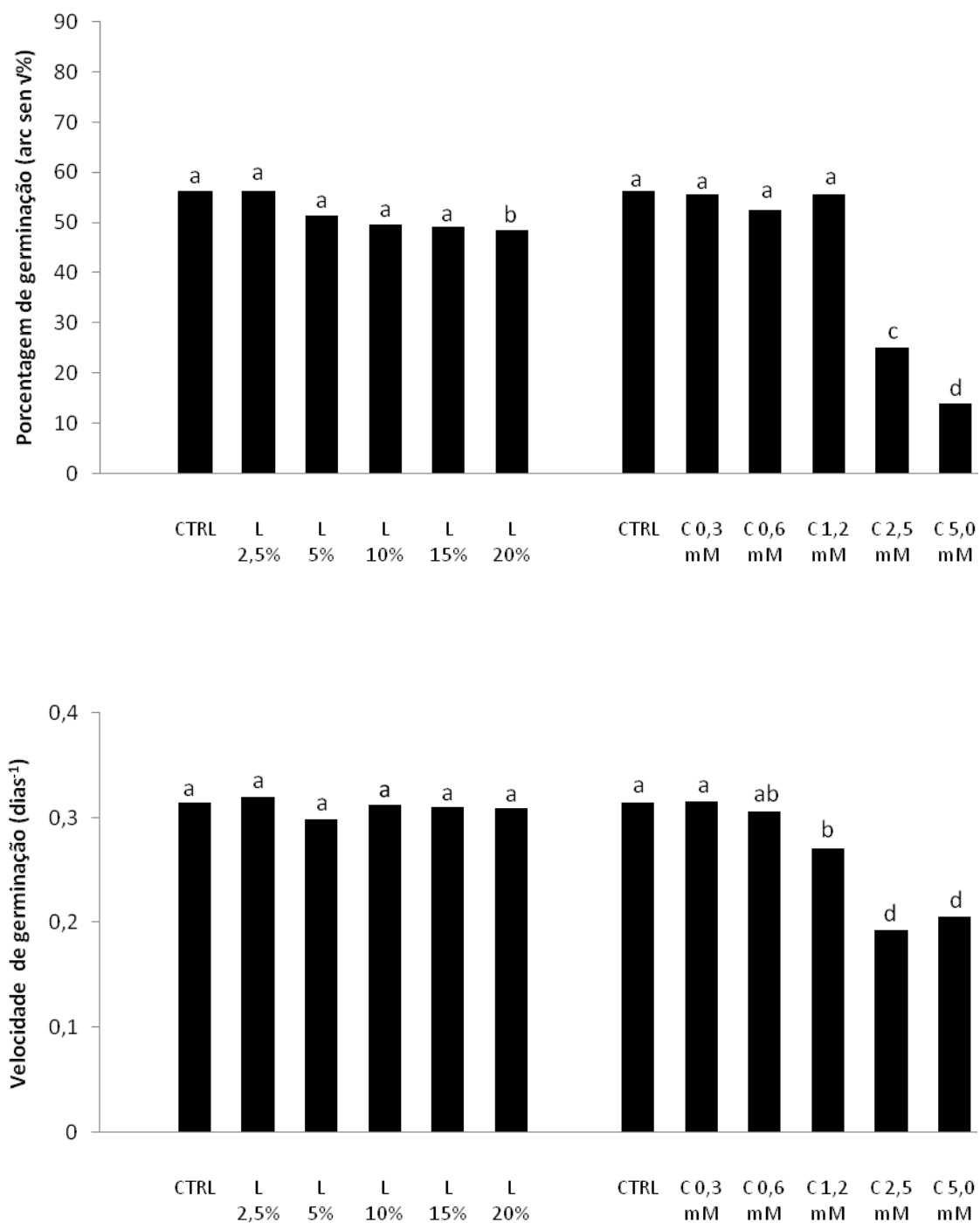


Figura 2. Valores médios de porcentagem e velocidade de germinação de sementes de *Echinichloa crus-galli* L. Beauv. submetidas a diferentes soluções. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (CTRL= tratamento controle; L= extrato aquoso lixiviado de folhas de *Pittosporum undulatum* Vent.; C= soluções de cumarina).

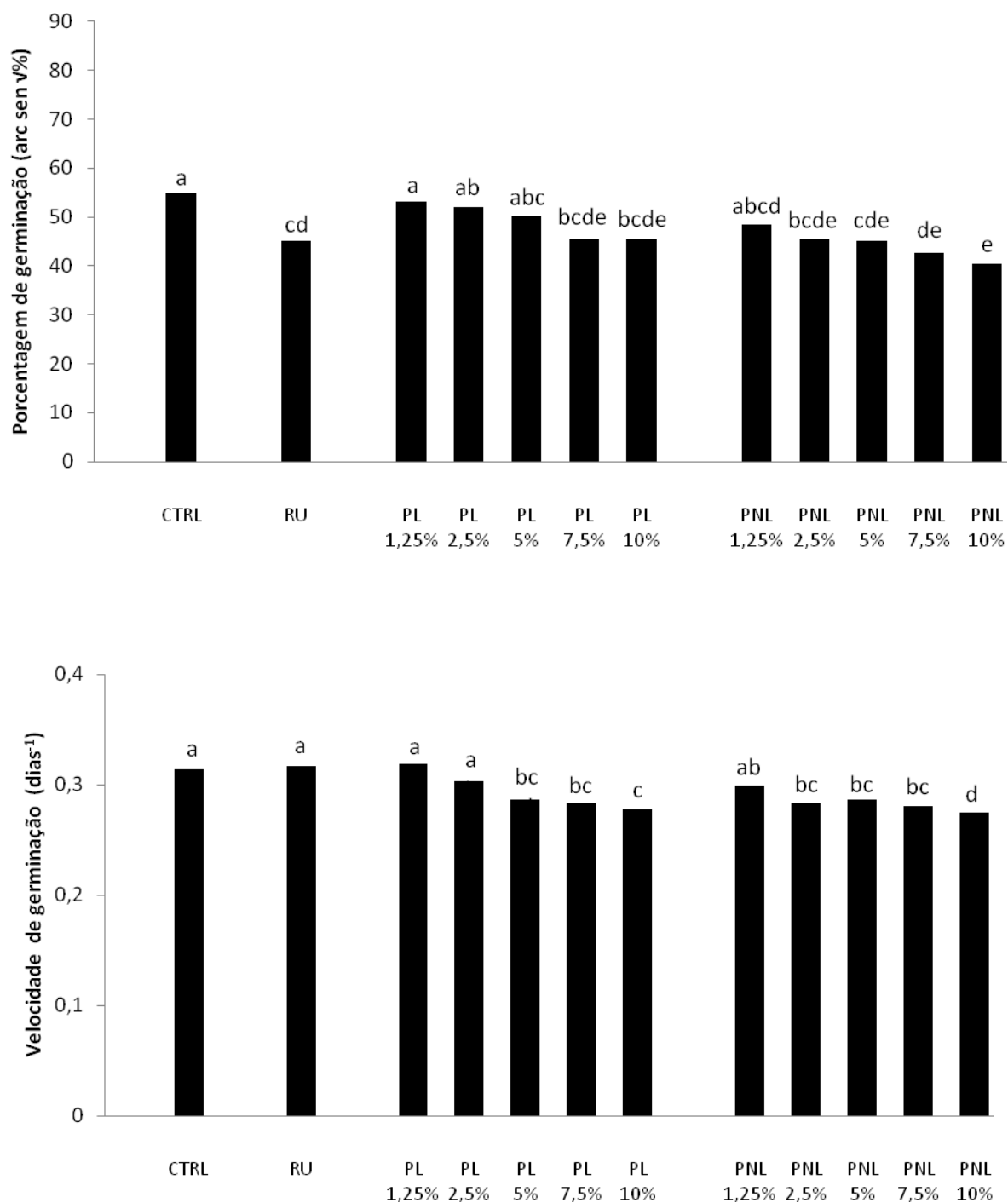


Figura 3. Valores médios de porcentagem e velocidade de germinação de sementes de *Echinichloa crus-galli* L. Beauv. submetidas a diferentes soluções. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (CTRL = tratamento controle; RU = herbicida Roundup® Original; PL = extrato aquoso lixiviado do pó de folhas de *Pitosporum undulatum* Vent.; PNL = extrato do pó de folhas não-lixiviadas).

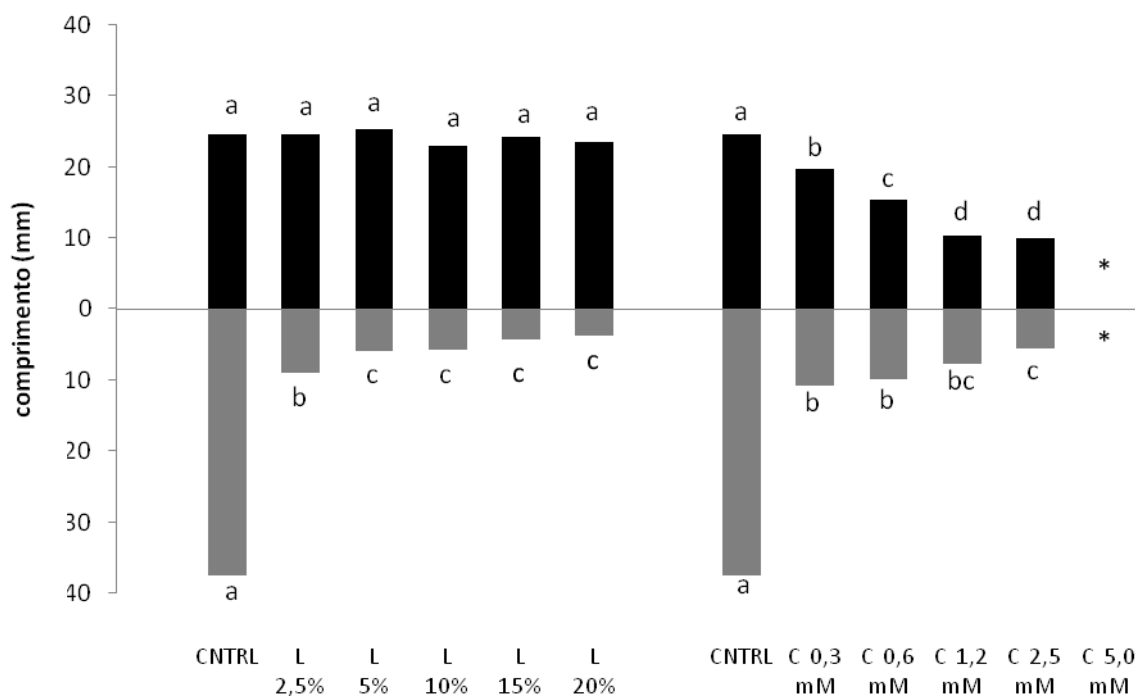


Figura 4. Comprimentos de parte aérea (em preto) e radícula (em cinza) de plântulas de *Echinochloa crus-galli* L. Beauv. submetidas à diferentes soluções. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (CTRL = tratamento controle; L = extrato aquoso lixiviado de folhas de *Pittosporum undulatum* Vent.; C = soluções de cumarina; * não mensurável devido à necrose generalizada).

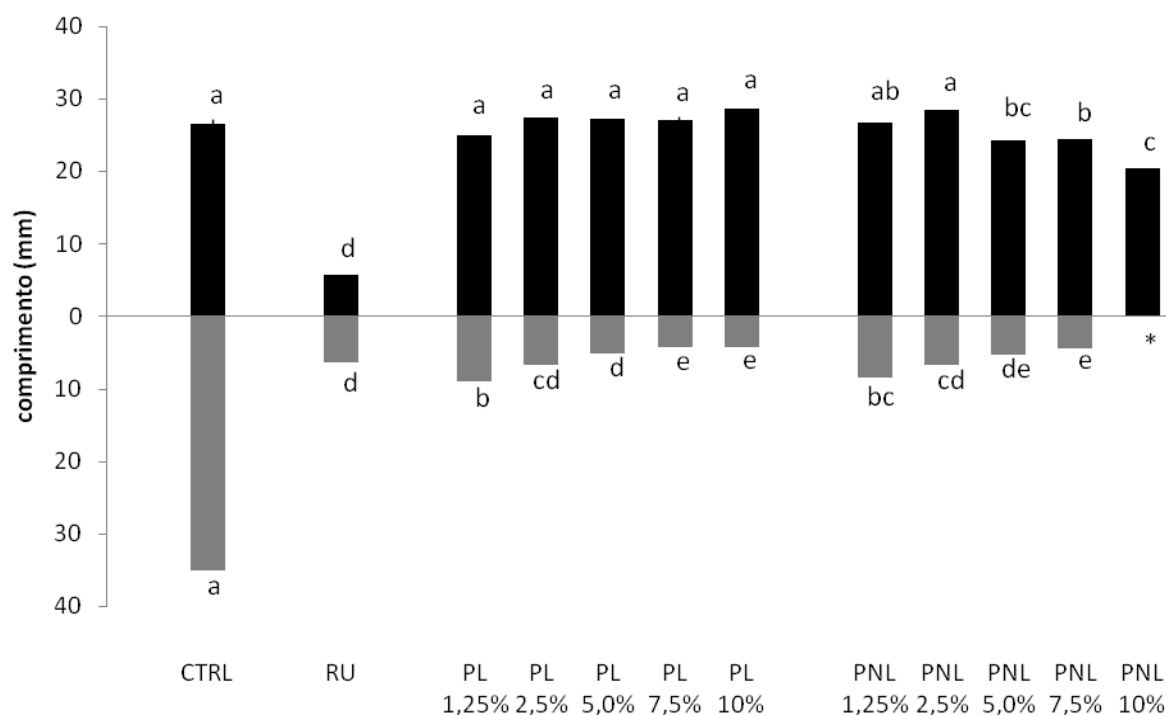


Figura 5. Comprimentos de parte aérea (em preto) e radícula (em cinza) de plântulas de *Echinochloa crus-galli* L. Beauv. submetidas a diferentes soluções. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (CTRL = tratamento controle; RU = herbicida Roundup® Original; PL = extrato aquoso lixiviado do pó de folhas de *Pittosporum undulatum* Vent.; PNL = extrato do pó de folhas não-lixiviadas; * não mensurável devido à necrose generalizada).

Discussão

Germinação – Extratos vegetais obtidos por lixiviação geralmente trazem consigo metabólitos secundários superficiais. Folhas de *Pittosporum undulatum* apresentam tricomas secretores de mono e sesquiterpenóides localizados na face adaxial, mas a alta lipossolubilidade desses compostos tende a reduzir a ação alelopática dos extratos aquosos sobre as sementes (Ferreira *et al.* 2006; Abrahim *et al.* 2000). Concordando com os resultados obtidos neste estudo, Tunbridge *et al.* (2000) demonstraram que extratos lixiviados foliares de pau-incenso são incapazes de influenciar a germinação da gramínea *Poa morrisii* Vick.

As cumarinas são conhecidas por seus pronunciados efeitos inibitórios. Esses compostos fenólicos atuam em diversos processos fisiológicos nas sementes, sendo capazes de bloquear a mitose, diminuir o consumo de oxigênio e prejudicar a retenção de eletrólitos (Abenavoli *et al.* 2006). Diferentemente dos resultados encontrados neste estudo, Valio (1973) demonstrou que sementes de *Coumarouna odorata* Aublet são tolerantes a elevadas concentrações de cumarinas exógenas.

Os metabólitos secundários das camadas foliares internas são os principais constituintes de soluções aquosas obtidas a partir do pó de folhas. A similaridade dos resultados de germinação entre os dois tipos de extratos preparados com material vegetal pulverizado indica que os compostos responsáveis pelos efeitos inibitórios observados, ainda que leves, encontram-se intra ou intercelularmente. Testes fitoquímicos realizados neste estudo apontaram a presença de taninos, triterpenóides e saponinas nas folhas de pau-incenso. A ação alelopática é geralmente consequência de interações moleculares sinérgicas que atuam sobre ampla gama de processos fisiológicos (Einhellig 1996).

Apesar de informações na bula de Roundup® Original referirem-se à neutralidade do glifosato sobre o processo germinativo, nesse estudo foram encontrados efeitos inibitórios significativos do herbicida na germinabilidade de *Echinochloa crus-galli*. Estudos científicos sobre esse tema específico são escassos, mas a provável causa do ocorrido encontra-se no desequilíbrio hormonal causado pelo princípio ativo N-fosfometil glicina, o glifosato (Cole 1985).

Crescimento – As plântulas mostraram maior sensibilidade aos efeitos alelopáticos que as sementes. A transição entre a germinação e o estabelecimento das plântulas é crucial ao organismo vegetal, uma vez que tanto o tegumento quanto o endosperma deixam de funcionar como barreiras físico-químicas. Adicionalmente, os meristemas primários radiculares são os primeiros tecidos expostos às condições ambientais e, ainda que protegidos pela coifa, costumam ser sensíveis à ação aleloquímica (Gatti *et al.* 2004; Taiz & Zeiger 2004).

Enquanto plântulas de *Echinochloa crus-galli* submetidas a extratos lixiviados foliares de *Pittosporum undulatum* apresentaram suas partes aéreas inalteradas, as cumarinas causaram redução dose-dependente dos hipocótilos. Em ambos os tipos de soluções, entretanto, a totalidade das plântulas tinha sinais de necrose em suas extremidades radiculares. Compostos superficiais das folhas de pau-incenso, como ceras, saponinas e outros terpenóides, podem interagir com membranas celulares, causar desequilíbrios hormonais e atuar diretamente no processo fotossintético. Os fenóis, por sua vez, atuam diminuindo o alongamento e a elasticidade da parede celular, além de bloquear a respiração mitocondrial (Weir 2004). A morte do ápice radicular, observável macroscopicamente, é consequência comum para muitas interações moleculares fisiologicamente distintas (Einhellig 1996)

A similaridade entre os efeitos alelopáticos dos extratos provenientes de material vegetal seco, associada à pronunciada inibição pelos extratos lixiviados, permite afirmar que compostos aleloquímicos nas folhas de *Pittosporum undulatum* estão localizados tanto superficial como internamente. As radículas analisadas provavelmente são sensíveis tanto à mono e sesquiterpenóides, presentes externamente em tricomas secretores, quanto a outros terpenóides de cadeia longa, presentes em vacúolos e espaços intercelulares (Ferreira *et al.* 2006; Abraham *et al.* 2000). A necrose dos ápices radiculares foi o principal efeito morfológico observado.

A pronunciada ação herbicida de Roundup® Original sobre as plântulas analisadas demonstra sua eficiência no controle de ervas daninhas. Diferentemente dos extratos aquosos provenientes de folhas pulverizadas, houve inibição severa também da parte aérea das plântulas. O principal mecanismo de ação do princípio ativo N-fosfometil glicina é a inibição da via do ácido chiquímico, interrompendo a síntese de aminoácidos essenciais. A atuação sistêmica do glifosato é responsável pelos efeitos inibitórios em todo o eixo hipocótilo-radicular (Cole 1985).

Considerações finais - Os compostos fenólicos e os terpenóides são os metabólitos secundários mais abundantes entre as angiospermas, sendo a lixiviação um dos principais processos externalizadores de agentes aleloquímicos em condições naturais. Estudos envolvendo extratos foliares lixiviados e soluções derivadas de fenóis apresentam, portanto, relevante significado ecológico. A pequena influência sobre o processo germinativo, associada à pronunciada ação aleloquímica dos extratos aquosos sobre as radículas, indicam que a supressão por alelopatia no recrutamento de espécies associadas ao pau-incenso ocorre na fase de plântula.

A similaridade dos efeitos inibitórios entre os extratos obtidos a partir de material vegetal seco e o herbicida Roundup® Original suscita a possibilidade do uso de paucenço em ações de manejo ambiental. A alelopatia pode ser usada de maneira benéfica em sistemas de policultura, rotação de culturas e como cobertura vegetal na preparação de solos. A identificação, produção e uso comercial de metabólitos secundários em substituição aos princípios ativos dos herbicidas convencionais também é uma alternativa viável.

Para que a utilização das folhas de *Pittosporum undulatum* seja feita de forma responsável, alguns aspectos ecofisiológicos da espécie necessitam ser esclarecidos. O acúmulo de agentes aleloquímicos no solo, a influência fenológica na concentração de metabólitos secundários e a ação alelopática sobre espécies nativas e agrícolas são potenciais linhas de pesquisa.

Referências bibliográficas

- Abenavoli, M.; Cacco, G.; Sorgoná, A.; Marabottini, R.; Paolacci, A.; Ciaffi, M. & Badiani, M. 2006. The inhibitory effects of coumarin on the germination of Durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*, cv. Simeto) seeds. **Journal of Chemical Ecology** 32(2): 489-506.
- Abraham, D.; Braguini, W. L.; Kelmer-Bracht, A. M. & Ishii-Iwamoto, E. L. 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology** 26(3): 611-624.
- Anaya, A. L. 1999. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. **Critical Reviews in Plant Sciences** 18(6): 697-740.
- Astarita, L. V.; Ferreira, A. G. & Bergonci, J. I. 1996. *Mimosa bimucromata*: allelopathy and osmotic stress. **Allelopathy Journal** 3(1): 43-50.

- Cole, D. J. 1985. Mode of action of glyphosate – a literature analysis. Pp. 48-74. In: E. Grossboard; D. Atkinson (eds.). **The herbicide glyphosate**. London, Butterworths.
- Chou, C.H. 1999. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences** 18(5): 609-636.
- Chun, I. M.; Kim, K. H.; Ahn, J. K.; Chun, S. C.; Kim, C. S.; Kim, J. T. & Kim, S. H. 2002. Screen of allelochemicals on barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) and identification of potentially allelopathic compounds from rice (*Oryza sativa*) variety hull extracts. **Crop Protection** 21(10): 913-920.
- Einhellig, F. A. & Leather, G. R. 1988. Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. **Journal of Chemical Ecology** 14(10): 1829-1844.
- Einhellig, F. 1996 Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal** 88(6): 886-893.
- Falkenberg, M. B.; Santos, R. I. & Simões, C. M. O. 1999. Introdução à análise fitoquímica. Pp. 229-245. In: C. M. O. Simões.; E. P. Schenkel; G. Gosman.; J. C. P. Mello; L. A. Mentz & P. R. Petrovick (eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis, Editora da UFSC
- Ferreira, N. J.; Sousa, I. G. M.; Luís, T. C.; Currais, A. J. M.; Figueiredo, A. C.; Costa, M. M.; Lima, A.S.B.; Santos, P. A. G.; Barroso, J. G.; Pedro, L. G. & Scheffer, J. J. C. 2006. *Pittosporum undulatum* Vent. grown in Portugal: secretory structures, seasonal variation and enantiomeric composition of its essential oil. **Flavour and Fragrance Journal** 22(1): 1-6.
- Gatti, A. B.; Perez, S. C. J. G. A. & Lima, M. I. S. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica** 18(3): 459-472.

- Gliessman, S. R. 1983. Allelopathic interactions in crop-weed mixtures: applications for weed management. **Journal of Chemical Ecology** 9 (8): 991-999.
- Harborne, J. B. 1997. Plant secondary metabolism. Pp. 399-426. In: M. J. Crawley (ed.). **Plant Ecology**. Oxford, Blackwell Science.
- Juraimi, A. S.; Tasrif, A.; Kadir, J.; Napis, S.& Sastroutomo, S. S. Differential susceptibility of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli*) ecotypes to *Exserohilum longirostratum*. **Weed Biology and Management** 6(3): 125-130.
- Laboriau, L.G. 1983. **A germinação das sementes**. Washington, OEA.
- Lago, J. H. G.; Favero, O. A. & Romoff, P. 2006. Microclimatic factors and phenology influences in the chemical composition of the essential oils from *Pittosporum undulatum* Vent. leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 17(7): 1334-1338.
- Muller, N. & Okuda, S. 1998. Invasion of alien plants in floodplains – a comparison of Europe and Japan. Pp. 321-332. In: U. Starfinger, K. Edwards, I. Kowarik and M. Williamson. **Ecological Mechanisms and Human Responses**. Leiden, Backhuys Publishers.
- Rahman, M.& Ungar, I. A. 1990. The effect of salinity on seed germination and seedling growth of *Echinochloa crus-galli*. **Ohio Journal of Science** 90(1): 13-15.
- Taiz, L. & Zeiger, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^aed. Porto Alegre: ArtMed, 2004, 719p.
- Tunbridge, A.; Simmons, D.& Adams, R. 2000. Allelopathic effects of sweet Pittosporum *Pittosporum undulatum* Vent. on the germination of selected native plant species. **The Victorian Naturalist** 117(2): 44-50.

Valio, I. F. M. Effect of endogenous coumarin on the germination of seeds of *Coumarouna odorata* Aublet. 1973. **Journal of Experimental Botany** 24(79): 442-449.

Villela, F. A.; Filho, L. D. & Sequeira, E. L. 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 26(11-12): 1957-1968.

Weir, T. L.; Park, S. W. & Vivanco, J. M. 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology** 7(4):472-479.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados dos experimentos conduzidos sobre alelopatia de *Pittosporum undulatum* em relação a *Bauhinia forficata* e *Echinochloa crus-galli* permitem afirmar que:

- Extratos aquosos foliares de *Pittosporum undulatum* são capazes de influenciar no crescimento de *Bauhinia forficata* e *Echinochloa crus-galli*.
- Folhas de *Pittosporum undulatum* apresentam pronunciada atividade alelopática mesmo após lixiviação, evidenciando a presença de agentes aleloquímicos no interior das folhas.
- A ação alelopática de *Pittosporum undulatum* ocorre principalmente sobre as plântulas, sendo a necrose do ápice radicular a alteração morfo-anatômica mais comum.
- Em relação às radículas de *Echinochloa crus-galli*, há similaridade quantitativa entre os pronunciados efeitos inibitórios do herbicida a base de glifosato e os extratos aquosos foliares.