

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais

“Alterações no desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. e *Dalbergia miscolobium* Benth. produzidas por extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* Stapf. e *Melinis minutiflora* Beauv.”

Daniela Cristina Bonfim

São Carlos-SP.

2007

**“Alterações no desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. e *Dalbergia miscolobium*
Benth produzidas por extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* Stapf e *Melinis
minutiflora* Beauv.”**

Daniela Cristina Bonfim

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

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima

São Carlos-SP.

2007

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar

B713ad

Bonfim, Daniela Cristina.

Alterações no desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. e *Dalbergia miscolobium* Benth. produzidas por extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* Stapf. e *Melinis minutiflora* Beauv / Daniela Cristina Bonfim. -- São Carlos : UFSCar, 2007.

70 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2007.

1. Alelopatia. 2. Gramíneas invasoras. 3. *Dalbergia miscolobium*. 4. Cerrado. I. Título.

CDD: 581.23 (20ª)

Daniela Cristina Bonfim

Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima

Daniela Cristina Bonfim

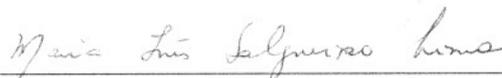
**Alterações no desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. e *Dalbergia
miscolobium* Benth produzidas por extratos de folhas de *Brachiaria
decumbens* Stapf e *Melinis minutiflora* Beauv**

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 13 de junho de 2007

BANCA EXAMINADORA

Presidente



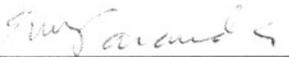
Prof. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima
(Orientadora)

1º Examinador



Prof. Dra. Sonia Cristina J. G. de Andrade Perez
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Prof. Dra. Elenice Mouro Varanda
USP/Ribeirão Preto-SP

Nós sabemos o que somos, mas não o que podemos ser.

(William Shakespeare)

Dedico este trabalho ao pequeno João Ricardo.

Desejo que ele plante uma semente por mais minúscula que seja e, que acompanhe seu crescimento, para que saiba de quantas muitas vidas é feita uma árvore.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço a Deus pela vida e pela oportunidade concedida.

Agradeço aos meus pais Maria e Manoel pela educação e todo amor com o qual me criaram.

À Profa. Inês que me orientou com carinho e dedicação, e que esteve sempre presente e por ter sido tão compreensiva e atenciosa.

Também não poderia deixar de agradecer a ajuda valiosa de todos que contribuíram de alguma forma para que este trabalho fosse realizado e gostaria de deixar claro que sem a presença e a ajuda de vocês, não teria sido possível.

Agradeço ao Alessandro, Alexandre, Luciana, Priscila, Jussara, Sadao, Zé Pedro, Gilberto, Juliano, Maristela, enfim, todos os meus amigos que me ajudaram nesta etapa do meu caminho, que fizeram este tempo que passamos juntos ser bem mais agradável, e que se tornaram tão especiais que jamais serão esquecidos.

Agradeço à Mônica Mai e à Talita Sampaio, pessoas muito especiais.

Agradeço aos meus amigos virtuais que apesar da distância sempre estiveram presentes, participando das minhas alegrias e frustrações.

Agradeço ao Casali e à todos os funcionários do Departamento de Botânica.

Agradeço a todos os professores que participaram em algum momento da minha formação.

À professora Sonia, sempre tão atenciosa e prestativa.

À Beatriz Gatti por toda ajuda oferecida durante o desenvolvimento desta dissertação.

Ao João Paulo, pelo auxílio com os testes estatísticos.

Ao Professor Marcos Arduim, pela dedicação e ajuda imprescindíveis nos experimentos de anatomia.

Ao técnico José Roberto Sanches e à Professora Marisa Narciso Fernandes do Departamento de Ciências Fisiológicas, pelo auxílio no uso do osmômetro.

Agradeço à Leda, minha amiga desde a infância e por toda a vida..., que sempre esteve e está presente me encorajando com suas palavras e atos.

Agradeço especialmente ao Daniel Henrique, pela presença constante em minha vida, e pela felicidade estarmos juntos.

Agradeço a todos que enlouqueci e aos que me enlouqueceram durante o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço à todos que algum dia me ajudaram contar sementes.

Se esqueci de alguém não é por falta de gratidão e nem de amizade e sim por falta de memória.

Finalmente agradeço à CAPES pela concessão da bolsa.

*Valeu?
Claro que valeu !!!
Se não houver frutos, valeu a beleza das flores.
Se não houver flores, valeu a sombra das folhas.
Se não houver folhas, valeu a intenção da semente.
(Henfil)*

Sumário	Página
ÍNDICE DE TABELAS	2
ÍNDICE DE FIGURAS	4
RESUMO GERAL	5
INTRODUÇÃO GERAL	7
CAPÍTULO 1	22
Resumo	23
Abstract	24
Introdução	25
Materiais e métodos	27
Resultados e Discussão	29
Conclusões	39
Referências	40
CAPÍTULO 2	44
Resumo	45
Abstract	46
Introdução	47
Materiais e métodos	48
Resultados e Discussão	50
Conclusões	59
Referências	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
Referências	70

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd.) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*: Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (Ch), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).....Página 32
- Tabela 2. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*: Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05)..... Página 32
- Tabela 3. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Dalbergia miscolobium*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (Ch), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).....Página 33
- Tabela 4. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Dalbergia miscolobium*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).....Página 33
- Tabela 5. Efeito dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc) fracionados com os solventes orgânicos hexano (Hex) e acetato de Etila (Act). Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).....Página 34
- Tabela 6. Efeito dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd.) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (Ch) fracionados com os solventes orgânicos hexano (Hex) e acetato de Etila (Act). Bioensaio

de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indiicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).....Página 34

Tabela 7. Efeito dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd.) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Dalbergia miscolobium*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc) fracionados com os solventes orgânicos hexano (Hex) e acetato de Etila (Act). Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).....Página 35

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Valores médios do comprimento da parte aérea e comprimento radicular de plântulas de *Lactuca sativa* sob o efeito dos tratamentos com extratos aquosos de *Brachiaria decumbens* (Bd. Sc) e *Melinis minutiflora* (Mm. Sc), obtidos de material vegetal coletados na estação seca, *Brachiaria decumbens* (Bd. Ch) e *Melinis minutiflora* (Mm. Ch), obtidos de material vegetal coletados na estação chuvosa e Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).....Página 53
- Figura 2. Valores médios do comprimento da parte aérea e comprimento radicular de plântulas de *Dalbergia miscolobium* sob o efeito dos tratamentos com extratos aquosos de *Brachiaria decumbens* (Bd. Sc) e *Melinis minutiflora* (Mm. Sc), obtidos de material vegetal coletados na estação seca, *Brachiaria decumbens* (Bd. Ch) e *Melinis minutiflora* (Mm. Ch), obtidos de material vegetal coletados na estação chuvosa e Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).....Página 53
- Figura 3. Plântulas de *Dalbergia miscolobium* crescidas em papel de filtro umedecido com extratos aquosos de: a. controle, b. *Brachiaria decumbens* (estação seca), c. *Melinis minutiflora* (estação chuvosa), d. raízes de *Dalbergia miscolobium* com extrato de *Melinis minutiflora* (estação chuvosa), e. raízes de *Dalbergia miscolobium* com extrato de *Brachiaria decumbens* (estação seca).....Página 56
- Figura 4. Alterações celulares observadas em raízes de *Dalbergia miscolobium* provocadas pelos extratos aquosos de folhas de *Brachiaria decumbens* e *Melinis minutiflora* coletados na estação seca e na estação chuvosa.....Página 61
- Figura 5. Alterações celulares observadas em raízes de *Lactuca sativa* (aumento 40 x) provocadas pelos extratos aquosos de folhas de *Brachiaria decumbens* e *Melinis minutiflora* coletados na estação seca e na estação chuvosaPágina 62

Resumo Geral: O presente estudo teve por objetivo avaliar *in vitro* qual o tipo de interferência é produzido pela adição de extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* Stapf e *Melinis minutiflora* Beauv (espécies exóticas, invasoras do cerrado), coletadas na estação chuvosa e na estação seca sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. (espécie bioindicadora) e *Dalbergia miscolobium* Benth. (espécie nativa do cerrado). Foi verificado também que o pH e o potencial osmótico dos extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* não causaram interferência nos índices de germinação das sementes. A germinação de *D. miscolobium* não foi afetada pelos extratos foliares obtidos de material coletados nas estações seca e chuvosa. A velocidade de germinação foi mais sensível à ação dos extratos do que a porcentagem de germinação de *L. sativa*. O comprimento total das plântulas foi reduzido em praticamente todos os tratamentos quando, comparados ao grupo controle, contudo, diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas na parte aérea das plântulas de *L. sativa* tratadas com extratos de folhas de *B. decumbens* coletadas na estação seca. Houve estímulo do crescimento radicular de *L. sativa* quando extrato de folhas de *M. minutiflora* colhidas na estação seca foi adicionado ao meio. Para as plântulas de *D. miscolobium* o extrato de folhas de *B. decumbens* colhidas na estação seca reduziu o comprimento da parte aérea e da raiz, sendo o mesmo fato observado com o uso de extrato de *M. minutiflora* da estação chuvosa. Estudos anatômicos de tecidos meristemáticos das raízes de *D. miscolobium* e *L. sativa* evidenciaram que os extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* provocaram danos às células das raízes destas plântulas em diferentes intensidades, mas as células das raízes de *D. miscolobium*, exibiram alterações mais acentuadas.

Palavras chave: efeitos alelopáticos, crescimento, porcentagem de germinação.

Abstract – The present study objected to appraise *in vitro* the kind of interference that is produced by addition of leaves extracts *Brachiaria decumbens* Stapf and *Melinis minutiflora* Beauv. (exotic species, alien weeds) collected in raining season (12/01/2006) and dry season (10/08/2006) over germination and initial development of *Lactuca sativa* L. (bioindicator species) and *Dalbergia miscolobium* Benth. (native species of savanna). It were verified also that pH and osmotic potencial of both *B. decumbens* and *M. minutiflora* extracts did not cause interference in seed germination indices. The germination of *D. miscolobium* was not affected by leaves extracts obtained of material collected in dry season and raining season. The germination speed was more sensitive to action of extracts than germination percentage of *L. sativa*. The total length of the seedlings was reduced in practically all treatments when, compared with the control group, however significative statistical differences were observed just in above-ground part of the seedlings of *L. sativa* treated with leaves extracts of *B. decumbens* collected in dry season. The *L. sativa* root was stimulated when leaves extracts of *M. minutiflora* collected in dry season was added in Petri dishes. For seedlings of *D. miscolobium* the leaves extracts of *B. decumbens* collected in dry season decreased the length of the above-ground part and the root, and the same was observed for leaves extracts of *M. minutiflora* collected in the raining season. Anatomy studies of root-tip cells carried of *D. miscolobium* e *L. sativa* showed that the extracts of *B. decumbens* e *M. minutiflora* cause damage on the root cells of seedlings with different intensities, but the root cells of *D. miscolobium*, showed alterations most emphasized.

Key-words: allelopathic effects, growing, germination percentage.

INTRODUÇÃO GERAL

O termo alelopatia refere-se à capacidade que as plantas têm de interferirem no desenvolvimento de outras plantas, por meio de substâncias liberadas na atmosfera ou no solo (Medeiros 1990; Ferreira 2004). Segundo Almeida (1988) este termo foi criado por Molisch em 1937 e, de acordo com esse autor, engloba todas as interferências desencadeadas entre microrganismos e entre plantas, provocadas pela liberação de substâncias químicas através de tecidos vegetais vivos ou mortos.

A maior parte destes compostos é resultado da atividade do metabolismo secundário da planta, sendo que sua concentração pode variar de espécie para espécie e, dentro da mesma espécie, de um local de ocorrência para outro, já que a síntese de muitos destes compostos é desencadeada por variações bióticas e abióticas às quais as plantas estão expostas (Ferreira & Aquila 2000).

Rice (1984) define alelopatia como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta ou de microrganismos sobre outra planta, mediante produção de compostos químicos que são liberados no ambiente. Ele ainda distingue alelopatia de competição dizendo que: “os efeitos alelopáticos dependem dos aleloquímicos liberados no ambiente pelas plantas doadoras, dessa forma, a alelopatia distingue-se da competição, pois a competição envolve a redução ou a retirada de algum fator do ambiente, como água, luz e nutrientes necessários à outra planta no mesmo ecossistema”.

Quem são os aleloquímicos ?

De acordo com Gliessman (2000) os aleloquímicos são biomoléculas responsáveis pelos efeitos alelopáticos e, portanto, são substâncias naturais que podem ser metabólitos diretos, subprodutos de outros processos metabólicos ou produtos em decomposição de compostos ou da biomassa. São freqüentemente nocivos para as plantas que os produzem se não forem armazenados de

uma forma atóxica ou liberados antes de se acumularem internamente até atingirem níveis tóxicos a uma determinada espécie.

De acordo com Rice (1984) vários tipos de compostos orgânicos foram identificados como aleloquímicos, produzidos por microrganismos ou plantas superiores, podendo ser relacionados os seguintes: ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia linear, aldeídos alifáticos e cetonas, lactonas insaturadas simples, ácidos graxos de cadeia longa e poliacetilenos, naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas, fenóis simples, ácido benzóico e derivados, ácido cinâmico e derivados, cumarinas, flavonóides, taninos condensados e hidrolisáveis, terpenóides e esteróides, aminoácidos e polipeptídeos, alcalóides e cianoidrinas, sulfetos e glicosídeos, purinas e nucleosídeos.

Como agem os aleloquímicos e quais as suas funções ?

Os mecanismos de ação dos agentes aleloquímicos ainda são pouco conhecidos, dada à dificuldade de se separar os efeitos secundários das causas primárias. No entanto, vários estudos já demonstraram que algumas plantas produzem compostos do metabolismo secundário que atuam inibindo ou favorecendo o processo germinativo, por afetar o processo de divisão celular, alongamento de estruturas celulares, crescimento induzido por hormônios, permeabilidade de membranas, absorção mineral, abertura estomática, fotossíntese, respiração, síntese protéica, metabolismo de lipídios e ácidos orgânicos, atividade de várias enzimas e nas relações hídricas do vegetal (Rice 1984). A ação alelopática se dá através do efeito destas substâncias aliado às condições ambientais e pode ser um fator determinante do sucesso ou insucesso no cultivo de plantas (Ferreira 2004).

A inibição alelopática resulta da ação conjunta de um grupo de aleloquímicos que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos e dependem da extensão dos estresses bióticos e abióticos associados. A alelopatia está estreitamente ligada a outros estresses ambientais, incluindo temperaturas extremas, deficiências de nutrientes e de umidade, radiação, insetos, doenças e

herbicidas (Einhellig 1996). Em geral as condições de estresse aumentam a produção de aleloquímicos, aumentando o potencial de interferência alelopática (Einhellig 1995).

Os metabólitos secundários podem atuar em diversos processos dos vegetais, desempenhando uma infinidade de funções, tais substâncias podem, por exemplo, prevenir a decomposição das sementes e interferir na dormência e também no desenvolvimento das gemas (Harborne 1988).

No entanto, de acordo com Rice (1984) é importante lembrar que os efeitos benéficos de uma planta sobre outra não devem ser desvinculados do conceito de alelopatia, uma vez que, um dado composto químico pode ter efeito inibitório ou estimulante, dependendo da sua concentração no ambiente e sensibilidade do tecido a eles.

A ação visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os estudos referentes ao efeito de aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de processos ocorridos a nível molecular e celular (Ferreira & Aquila 2000; Ferreira 2004).

Pires *et al.* (2001) ressaltam que a maioria dos estudos em alelopatia refere-se apenas ao efeito do aleloquímico sobre a germinação e o crescimento da planta-alvo, sem considerar os eventos celulares relacionados às mudanças fisiológicas e genéticas.

Porém Macias *et al.* (1998) evidenciam a importância dos estudos sobre as interações alelopáticas, que podem ser úteis na busca por fitotoxinas naturais produzidas por plantas ou microrganismos, e, que seus derivados sintéticos podem ser empregados como herbicidas naturais mais específicos e, menos prejudiciais ao meio ambiente.

Vias de liberação dos aleloquímicos

De acordo com a literatura os compostos aleloquímicos podem ser encontrados em folhas, caules aéreos, rizomas, raízes, flores, frutos e sementes de diversas espécies, mas as folhas e as raízes

são as fontes mais importantes de aleloquímicos. Os aleloquímicos podem ser liberados pelas plantas por lixiviação a partir dos tecidos, volatilização, exsudação pelas raízes e decomposição de resíduos da planta (Rodrigues *et al.* 1992; Inderjit & Dakshini 1992, 1994).

As toxinas solúveis em água (ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos, substâncias pécticas, terpenóides, alcalóides, compostos fenólicos e giberelinas), são lixiviadas da parte aérea e das raízes ou dos resíduos vegetais em decomposição depositando-se no solo e interferindo no crescimento da comunidade ao seu redor (Almeida 1988).

Na volatilização, os compostos aromáticos das folhas, flores, caules e raízes podem ser absorvidos por outras plantas afetando principalmente o crescimento ou o desenvolvimento das plantas que se encontram nas proximidades (Almeida 1988; Durigam & Almeida 1993). Nesse grupo, encontram-se compostos como o gás carbônico, a amônia, o etileno e os terpenóides. Os terpenóides atuam sobre as plantas vizinhas por meio dos próprios vapores ou condensados no orvalho ou alcançam o solo e são absorvidos pelas raízes (Souza 1988).

Pelas raízes são exsudados um grande número de compostos alelopáticos que são liberados na rizosfera circundante e podem atuar direta ou indiretamente nas interações planta/planta e na ação de microrganismos. Entre esses compostos exsudados pelas raízes, podem ser citados o ácido oxálico, a amidalina, a cumarina e o ácido transcinâmico (Souza 1988).

Na decomposição de resíduos as toxinas são liberadas pela decomposição das partes aéreas ou subterrâneas, direta ou indiretamente, pela ação de microrganismos. A perda da integridade de membranas celulares permite a liberação de um grande número de compostos (como os glicosídeos cianogênicos, ácidos fenólicos, agropireno, cumarinas e flavonóides), que são tóxicos aos organismos vizinhos (Rice, 1984; Souza, 1988).

Detecção do potencial alelopático

Para a determinação do potencial alelopático de uma planta, inicialmente utiliza-se a técnica de preparação dos extratos aquosos e orgânicos, e a realização de biotestes de germinação de sementes e crescimento de plântulas (Rice 1984; Jacobi & Ferreira 1991; Fagioli *et al.* 2000). Realizada em laboratório e casa de vegetação, esta técnica é considerada a mais simples e usual, fundamentada na capacidade de melhor isolar o efeito alelopático de outras interferências (Gomide 1993). A técnica da extração dos aleloquímicos consiste em mergulhar o material fresco ou seco em um solvente por um determinado período de tempo e, após filtração, obtém-se o extrato. Esses extratos podem ser feitos com toda planta ou órgãos, inteiros ou triturados. O solvente mais utilizado nas extrações é a água destilada seguido por solventes orgânicos, com diferentes graus de polaridade.

As técnicas empregadas para a preparação dos extratos utilizados nos biotestes podem variar de acordo com o pesquisador e seu interesse, podendo-se obter os extratos por maceração estática fria ou quente (Maraschin-Silva & Aquila 2005), através de material seco ou de material fresco triturado (Goetze & Thomé 2004), entre outras técnicas.

O emprego de extratos aquosos em testes alelopáticos tem como objetivo procurar simular o que acontece na natureza. Muitas substâncias químicas ou aleloquímicos, que se encontram em plantas vivas ou resíduos, são geralmente lixiviadas em quantidades significativas para o solo pela chuva e orvalho (Medeiros 1989).

Um exemplo comum de determinação do potencial alelopático de uma planta sobre outra é o estudo dos efeitos dos extratos de resíduos de plantas infestantes sobre sementes ou plântulas de espécies cultivadas, geralmente de ciclo anual, devido à interferência das plantas infestantes na produção e rentabilidade dessas culturas. A alelopátia pode ocorrer entre espécies cultivadas, de espécies cultivadas sobre plantas infestantes e vice-versa, e entre as próprias plantas infestantes (autotoxidez) (Rice 1984).

Biodiversidade do Cerrado e o estudo de espécies com potencial alelopático.

O Brasil é considerado um dos países com maior biodiversidade no mundo, pois se calcula que nada menos do que 10% de toda a biota terrestre encontram-se no Brasil, e grande parte desta diversidade de espécies e fitofisionomias encontram-se no cerrado. Apesar de ser a maior e mais rica formação vegetal de savana tropical do mundo e o segundo maior bioma da América do Sul, o cerrado encontra-se entre os 25 *hotspots* terrestres mais importantes para a conservação da biodiversidade mundial. Atualmente restam apenas 20% de sua extensão original ainda não perturbada, e desta, apenas 1,2% preservada em áreas de proteção ambiental (Mittermeier *et al.* 1997; Ribeiro & Walter 1998; Myers *et al.* 2000; Silva & Bates 2002).

Segundo Klink & Machado (2005) as pastagens constituídas com gramíneas de origem africana cobrem atualmente uma área de 500.000 km², ou seja, o equivalente à área da Espanha. Outras monoculturas são cultivadas em outros 100.000 km². A área total destinada para a conservação é de cerca de 33.000 km², claramente insuficiente quando comparada com os principais usos da terra no cerrado.

A grande diversidade de espécies de plantas do Cerrado está associada com a grande diversidade de ambientes, enquanto que a estratificação vertical, ou seja, a existência de várias camadas de ambientes é encontrada na Amazônia ou na Mata Atlântica. No cerrado a heterogeneidade espacial, representada pela variação dos ecossistemas ao longo do espaço, é um fator determinante para a ocorrência de um variado número de espécies. Os ambientes do Cerrado variam significativamente no sentido horizontal, sendo que áreas campestres, capões de mata, florestas e áreas brejosas podem existir em uma mesma região (Machado *et al.* 2004).

A ocupação do Cerrado ocorreu em diferentes momentos e velocidades. Muito provavelmente, a abertura de áreas de pastagem para a criação de gado de corte foi a principal causa de desmatamento

do Cerrado. Dias (1994) afirma que até 1985 o manejo de áreas nativas para a criação de gado foi a principal atividade econômica a ocupar as paisagens naturais do Cerrado.

Hoje, além da criação de gado, está havendo uma intensa substituição do cerrado *sensu lato* por monoculturas de cana-de-açúcar, soja, laranja, café, seringueira dentre outras e, com isso, grande parte dessa biodiversidade está sendo perdida. Porém, outro fator que ameaça fortemente a biodiversidade do cerrado é o fenômeno da invasão biológica, no qual espécies exóticas com alta capacidade competitiva dominam as nativas e acabam por extingui-las. O amplo uso de gramíneas africanas para a formação de pastagens é prejudicial à biodiversidade, aos ciclos de queimadas e à capacidade produtiva dos ecossistemas (Pivello *et al.* 1999 b).

De acordo com Barcellos (1996) para a formação das pastagens os cerrados têm a sua vegetação lenhosa suprimida, em seguida são queimados e, então, semeados com gramíneas africanas, como *Andropogon gayanus* Kunt., *Brachiaria brizantha* (Hochst.ex. A. Rich) Stapf, *B. decumbens* Stapf, *Hyparrhenia rufa* (Ness) Stapf e *Melinis minutiflora* Beauv.

Espécies invasoras do Cerrado

As gramíneas africanas invasoras são os maiores agentes de mudanças no cerrado e uma das espécies mais utilizadas é o capim-gordura (*Melinis minutiflora*), que provoca grande impacto para a biodiversidade e para o funcionamento dos ecossistemas (Mack *et al.* 2000). Tais espécies são amplamente dispersas em áreas perturbadas, faixas laterais de estradas, plantações abandonadas e reservas naturais no Cerrado e, podem alcançar biomassas extremamente elevadas que quando secas, são altamente inflamáveis, iniciando uma interação gramíneas-fogo capaz de impedir o brotamento da vegetação nativa (Pivello *et al.* 1999 a). Segundo estes autores, uma vez que o cerrado *sensu lato* admite fisionomias com farto estrato herbáceo e de gramíneas, tais como: campo limpo, campo sujo, campo cerrado, cerrado *sensu stricto*, sua vocação, em termos de uso antrópico, sempre foi voltada às

pastagens que inicialmente eram extensivas e baseadas nas espécies nativas, mas que foram substituídas por espécies exóticas, com maior produtividade.

Devido a esses usos, as plantas exóticas que se tornaram invasoras do cerrado são justamente algumas espécies de gramíneas de origem africana - especialmente *Melinis minutiflora* (capim-gordura), *Hyparrhenia rufa* (capim-jaraguá), *Panicum maximum* (capim-colonião) e *Brachiaria* spp. (braquiárias), introduzidas como forrageiras para a criação de gado, além da pteridófito *Pteridium aquilinum* (samambaia-brava), que é uma espécie ruderal de ampla distribuição em todo o mundo. No estado de São Paulo, *Pinus elliottii* (pinheiro) também se tornou espécie invasora de cerrados, quando estes estão próximos à áreas de silvicultura com essa espécie, entretanto, não há estudos, até o momento, que caracterizem o processo de invasão dos cerrados por *Pinus* (Pivello 2005).

As gramíneas africanas ao chegarem ao cerrado, encontraram condições ecológicas semelhantes às de seus habitats de origem (as savanas africanas) facilitando sua disseminação. Além da semelhança climática, especialmente os regimes de chuvas e temperatura, fatores de sua própria biologia também contribuíram para seu sucesso como plantas invasoras do cerrado. São espécies heliófitas e possuem metabolismo C₄, sendo adaptadas para colonizar áreas abertas e ensolaradas, como os campos e cerrados brasileiros; têm alta eficiência fotossintética e de utilização dos nutrientes, sobrevivendo em solos menos férteis; apresentam altas taxas de crescimento, rebrotamento e regeneração, além de alta tolerância ao desfolhamento e à herbivoria. Sua eficiência reprodutiva se deve ao ciclo reprodutivo rápido, à intensa produção de sementes com alta viabilidade, e à formação de um banco de sementes denso, além de sua grande capacidade de se reproduzir vegetativamente. Todos esses fatores caracterizam um comportamento oportunista, que permite a rápida re-colonização de áreas queimadas e/ou perturbadas, fazendo-as competir com vantagem e deslocar as espécies nativas do cerrado (Coutinho 1982; D'Antonio & Vitousek 1992; Freitas 1999; Pivello *et al.* 1999 b).

Além de afetarem diretamente as populações herbáceas nativas, por competição, podem causar extinções de espécies locais e perda direta de biodiversidade, as gramíneas africanas impactam o ecossistema como um todo, descaracterizando as fisionomias e modificando sua estrutura. Alguns estudos mostram que, além disso, podem alterar o regime de fogo das áreas invadidas, interferir nos processos vitais, como o ciclo de nutrientes, reduzindo drasticamente a quantidade de nitrogênio inorgânico no solo, em razão da grande captação e utilização deste elemento durante seu crescimento (D'Antonio & Vitousek 1992; Asner & Beatty 1996).

Em consequência dos incêndios, outros processos ecológicos, como a dinâmica sucessional, podem ser comprometidos (D'Antonio & Vitousek 1992; Asner & Beatty 1996). Ao formarem densa camada de biomassa, reduzem drasticamente a luminosidade na superfície do solo, podendo impedir os processos de germinação e o recrutamento de espécies nativas presentes no banco de sementes, bem como a regeneração natural de *habitats* (Hughes & Vitousek 1993).

A presença de gramíneas africanas é praticamente certa, em qualquer área de cerrado, especialmente nas unidades de conservação. Alguns estudos realizados em unidades de conservação, no estado de São Paulo, antevêm prováveis efeitos competitivos entre *Melinis minutiflora* e *Brachiaria decumbens* com as herbáceas nativas, oferecendo perigo de exclusão das espécies nativas pelas espécies exóticas (Pivello *et al.* 1999 a, 1999 b).

Com relação aos padrões de distribuição espacial, percebe-se que *B. decumbens* inicia sua ocupação nas bordas do fragmento de cerrado, cobrindo totalmente o solo onde se estabelece e avançando maciçamente para o centro. *Melinis minutiflora* vai ocupando a área também pelas bordas e margens de estradas, mas também se utiliza de trilhas e outras porções de solo nu, como sobre os ninhos de formigas, numa disseminação mais espaçada (Coutinho 1982; Freitas 1999).

Espécies vegetais dominantes, ou seja, presentes em alta densidade e, que formam comunidades homogêneas, influenciam nas condições do solo e da vegetação sob o dossel através de meios diretos como sombreamento, umidade e disponibilidade de nutrientes. Entretanto, a alelopatia também pode

determinar as características do habitat, podendo por supressão alelopática, invadir comunidades vegetais pré-existentes e retardar sua substituição por outras plantas. Os efeitos aleloquímicos causados no solo podem limitar o estabelecimento de outras espécies tanto de nas comunidades em processo de sucessão quanto naquelas em clímax (Wittaker & Feeny 1971).

Alelopatia é um fenômeno que ocorre largamente em comunidades vegetais, é um dos mecanismos por meio do qual, determinadas plantas interferem no desenvolvimento de outras, alterando-lhes o padrão e a densidade. Relatos encontrados na literatura mostram que o efeito alelopático das gramíneas pode dificultar a associação gramínea/leguminosas forrageiras (Chou 1989, Almeida 1991, 1993; Souza Filho 1995; Almeida *et al.* 1997). Este fato que nos levou a levantar a hipótese de que extratos de *M. minutiflora* e *B. decumbens* poderiam interferir na germinação e/ou nos estágios iniciais de desenvolvimento de *Dalbergia miscolobium*, uma espécie típica do Cerrado.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F.S. 1988. A Alelopatia e as Plantas, IAPAR, Londrina, 60p.
- ALMEIDA, F.S. 1991. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 26(2):221-236.
- ALMEIDA, A.R.P. 1993. Efeito alelopático de espécies de *Brachiaria* Griseb. sobre algumas leguminosas forrageiras tropicais. Piracicaba: USP/ Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 73f. Dissertação de Mestrado.
- ALMEIDA, A.R.P., LUCCHESI, A.A. ABBADO, M.R. 1997. Efeitos alelopáticos de *Brachiaria* Griseb. sobre algumas leguminosa forrageiras tropicais. II. Avaliações em casa de vegetação **Boletim de Indústria animal**, Nova Odessa, 54(2):55-64.
- ASNER, G.P., BEATTY, S.W. 1996. Effects of an African grass invasion on Hawaiian shrubland nitrogen biogeochemistry. **Plant & Soil**, 186:205-211.
- BARCELLOS, A.O. 1996. Sistemas extensivos e semi-intensivos de produção: pecuária bovina de corte nos cerrados. In: R.C. Pereira & L.C.B. Nasser (eds.). Biodiversidade e produção sustentável de alimentos e fibras nos Cerrados. VIII Simpósio sobre o Cerrado. pp. 130-136. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Cerrados), Planaltina, Brasil.
- CHOU, C.H. 1989. Allelopathic reserch of subtropical vegetation in Taiwan. IV- Comparative phytotoxic nature of leachate from four subtropical grasses. **Journal of Chemical Ecology**. New York, V. 15(7):2149-2159.
- COUTINHO, L.M. 1982. Aspectos ecológicos da saúva no cerrado - os murundus de terra, as características psamofíticas das espécies de sua vegetação e a sua invasão pelo capim-gordura. **Revista Brasileira de Botânica**, 42:147-153.

- D'ANTONIO, C.M., VITOUSEK, P.M. 1992. Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle, and global change. **Annual Review of Ecology and Systematics** 23:63-87.
- DIAS, B.F.S. 1994. A conservação da natureza. *In*: Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas. M.N. PINTO (org.). 2a edição, Editora Universidade de Brasília, Brasília-DF. p.607-663.
- DURIGAM, J.C., ALMEIDA, F.L.S. 1993. **Noções sobre alelopatia**. Jaboticabal: FUNEP, 28p
- EINHELLIG, F.A. 1995. Allelopathy: Current status and future goals. *In*: INDERJIT: DAKSHINI, K.M.M., EINHELLIG, F.A. (Ed). **Allelopathy: organisms, processes and applications**. Washington: **American Chemical Society**, p.1-25.
- EINHELLIG, F.A.1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, 88:886-893.
- FAGIOLI, M., RODRIGUES, T.J.D., ALMEIDA, A.R.P, ALVES, P.L.C.A. 2000. Efeito inibitório da *Brachiaria decubens* Stapf. Prain.e *B. brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf. cv. MARANDU sobre a germinação e vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Boletim da Indústria Animal**, 57(2):129-137.
- FERREIRA, A.G. & AQUILA, M.E.A. 2000. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12:175-204.
- FERREIRA, A.G. *In*: FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. 2004. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 323p.
- FREITAS, G.K. 1999. Invasão biológica pelo capim-gordura (*Melinis minutiflora* Beauv.) em um fragmento de Cerrado (A.R.I.E Cerrado Pé-de-Gigante, Santa Rita do Passa Quatro, SP). Departamento de Ecologia Geral, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. Dissertação de Mestrado.
- GLIESSMAN, S.R. 2000. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFGRS, 653p.

- GOETZE, M., THOMÉ, G.C.H. 2004. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, 10(1):43-50.
- GOMIDE, M. B.1993. Potencialidades alelopáticas dos restos culturais de dois cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), no controle de algumas plantas daninhas. 96 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- HARBORNE, J.B. 1988. Introduction to Ecological Biochemistry, 3a ed. Academic Press, London, 382p.
- HUGHES, F., VITOUSEK, P.M.1993. Barriers to shrub establishment following fire in the seasonal submontane zone of Hawaii. **Oecologia** 93:557-563.
- INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. 1992. Interference potencial o *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) growth and physiological responses of asparagus bean, *Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*. **American Journal of Botany**, 79:977-981.
- INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. 1994. Allelopathic effect of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) on characteristics of four soils and tomato and mustard growth. **American Journal of Botany**, 81:799-804.
- JACOBI, U.S., FERREIRA, A.G. 1991. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucromata* sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 26(7):935-943.
- KLINK, C.A., MACHADO, R.B. 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, 1(1).
- MACHADO, R.B., RAMOS NETO, M.B., PEREIRA, P., CALDAS, E., GONÇALVES, D., SANTOS, N., TABOR, K. & STEININGER, M. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Conservation International do Brasil, Brasília.

- MACIAS, F.A., VARELA, R.M., TORRES, A., OLIVA, R.M. & MOLINILLO, J.M.G. 1998. Bioactive norsesquiterpenos from *Helianthus annuus* with potencial allelopathic activity. **Phytochemistry**, 49(3):709-717.
- MACK, R.N., D. SIMBERLOFF, W.M. LONSDALE, H. EVANS, M. CLOUT & BAZZAZ, F.A. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. **Ecological Applications**, 10:689-710.
- MARASCHIM-SILVA, F., AQÜILA, M.E.A. 2005. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia**, Ser. Bot., Porto Alegre, 60(1):.91-98.
- MEDEIROS, A. R. M. de. 1989. Determinação de potencialidades alelopáticas em agroecossistemas. 92 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- MEDEIROS, A.R.M. 1990. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Horti Sul**, 1(3):27-32.
- MITTERMEIER, R.A., P.R. GIL e C.G.MITTERMEIER. 1997. Megadiversidad - los países biológicamente más ricos del mundo. CEMEX. Mexico, MX.
- MYERS, N. MITTERMEIER, R.A, MITTERMEIER, C.G, da FONSECA, G.A.B., KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 403:853–858.
- PIRES, N.M., SOUZA, I.R.P., PRATES, H.T., FARIA, T.C.L., FILHO, I.A.P., MAGALHÃES, P.C. 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 13(1):55-65.
- PIVELLO, V.R., CARVALHO,V.M.C., LOPES, P.F., PECCININI, A.A., ROSSO, S. 1999 a. Abundance and distribution of native and invasive alien grasses in a cerrado (Brazilian savanna) biological reserve. **Biotropica**, 31:71-82.
- PIVELLO, V.R., SHIDA, C.N., MEIRELLES,S.T. 1999 b. Alien grasses in Brazilian savannas: a threat to biodiversity. **Biodiversity & Conservation**, 8:1281-1294.

- PIVELLO, V.R. 2005 Invasões Biológicas no Cerrado Brasileiro: Efeitos da Introdução de Espécies Exóticas sobre a Biodiversidade <<http://www.ecologia.info/cerrado>> acesso em 12, nov.2005).
- RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do bioma do Cerrado p.89-166. In S.M. Sano & S.P. Almeida. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: Embrapa, CPAC.
- RICE, E.L. 1984. *Allelopathy*. Orlando: Academic Press.
- RODRIGUES, L.R.A., RODRIGUES, T.J.D., REIS, R.A. 1992. *Alelopatia em plantas forrageiras*. Jaboticabal: FCAVJ-UNESP/FUNEP, 18p.
- SILVA, J.M. C., BATES, J.M. 2002. Biogeographic Patterns and Conservation in the South American Cerrado: A Tropical Savanna Hotspot **BioScience**, 52(3):225-23, march .
- SOUZA, I.F. 1988. Alelopatia de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte,13(150):75-78.
- SOUZA FILHO, A. P. S. 1995. Potencialidades alelopáticas envolvendo gramíneas e leguminosas forrageiras e plantas invasoras de pastagens. Tese de Doutorado. UNESP/ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 137p.
- WHITTAKER, R.H., FEENY, P.P. 1971. Allelochemicals: Chemical Interactions between Species. **Science**, Washington, 171(3973):757-769.

CAPÍTULO 1

**Efeitos alelopáticos de extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* Stapf e
Melinis minutiflora Beauv. na germinação de *Lactuca sativa* L.
e *Dalbergia miscolobium* Benth.**

RESUMO – (Efeitos alelopáticos dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* Stapf e *Melinis minutiflora* Beauv. na de germinação de *Lactuca sativa* L. e *Dalbergia miscolobium* Benth.). O presente estudo teve por objetivo avaliar a interferência alelopática sobre a germinação das sementes de *Lactuca sativa* L. (espécie bioindicadora) e *Dalbergia miscolobium* Benth. (espécie nativa do cerrado). Foram utilizados extratos de folhas das gramíneas invasoras: *Melinis minutiflora* Beauv e *Brachiaria decumbens* Stapf (espécies exóticas, invasoras do cerrado), obtidos a partir de material vegetal coletado na estação seca e na estação chuvosa. Não houve influências do pH e do potencial osmótico na germinação das sementes utilizadas como espécies receptoras. A porcentagem de germinação de *D. miscolobium* não foi afetada pelo uso de extratos obtidos a partir de material vegetal coletado na estação seca e estação chuvosa. A velocidade de germinação de *L. sativa* foi afetada.

Palavras chave: Alelopatia, *Dalbergia miscolobium*, gramíneas, cerrado.

Abstract – (Allelopathic effects of *Brachiaria decumbens* Stapf and *Melinis minutiflora* Beauv. extracts of leaves on the germination of *Lactuca sativa* and *Dalbergia miscolobium* Benth.). The present study aims to evaluate the possible allelopathic effects on the germination process *Lactuca sativa* L. seeds (bioindicator species) and *Dalbergia miscolobium* Benth. (native savanna species). Leaves extracts of alien savanna species: *Melinis minutiflora* Beauv. and *Brachiaria decumbens* Stapf (exotic species, savanna's invader), Were obtained from vegetal material collected in both dry and raining season. There are no pH effects and the osmotic effect on the germination of *D. miscolobium* was not affected by the treatments obtained from the vegetal material collected either in dry season, on raining season. The germination rate was more sensitive to the allelopathic effects of the extracts than the percentage of germination in *Lactuca sativa* seeds.

Key-words: Allelopathy, *Dalbergia miscolobium*, weeds, savanna.

Introdução

Gramíneas forrageiras, tais como *Festuca arundinaceae* (L.) Lilj., *Bromus inermis* Stev., *Dactylis glomerata* L., *Phleum pratense* L., *Agrostis gigantea* Roth, *Agrostis alba* Kunze, *Phalaris arundinaceae* L., *Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Lolium perenne* L., (Chung e Miller 1995), *Panicum maximum* Ness, *Panicum repens* Burm.f. e muitas espécies do gênero *Brachiaria* (Rodrigues *et al.* 1992; Almeida 1993; Souza Filho 1995; Fagioli *et al.* 2000; Souza Filho 2003; Souza Filho *et al.* 2005; Souza *et al.* 2003) apresentam efeito alelopático sobre outras espécies vegetais. Diversos estudos demonstraram esse efeito utilizando como espécies receptoras, hortaliças e gramíneas forrageiras. Os efeitos alelopáticos observados foram bastante variados incluindo diminuição na porcentagem e velocidade de germinação, perda de biomassa seca das plântulas e redução do comprimento da radícula.

Chung & Miller (1995) avaliaram o efeito alelopático dos extratos aquosos das gramíneas forrageiras como *Festuca arundinacea*, *Bromus inermis*, *Dactylis glomerata*, *Phleum pratense*, *Agrostis gigantea*, *Agrostis alba*, *Phalaris arundinacea*, *Sorghum bicolor* e *Lolium perenne*, sobre as sementes de alfafa e, constataram que, com exceção de *A. gigantea* e *P. arundinacea*, todos os demais extratos reduziram a germinação das sementes de alfafa. Os extratos de *F. arundinacea*. e de *B. inermis* foram os que causaram maior redução na porcentagem de germinação das sementes de alfafa.

A fitotoxicidade de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni-2), uma gramínea invasora de difícil controle, encontrada no sul do Brasil, utilizando como plantas receptoras o *Lolium multiflorum* Lam. (azevém anual), *Trifolium repens* L. (trevo branco), e *Lotus corniculatus* L. (cornichão) foi estudada por Coelho (1986). A germinação das sementes e o crescimento das plântulas de trevo branco foram prejudicados com a presença dessa gramínea e o crescimento das plântulas de azevém anual foi prejudicado quando essa forrageira foi cultivada em solo onde a invasora se desenvolveu,

mostrando que sua agressividade, pelo menos em parte, era devida a substâncias alelopáticas produzidas e liberadas ao meio.

Dentre as plantas forrageiras de maior interesse para a pecuária nacional, destacam-se as do gênero *Brachiaria*, que ocupam extensas áreas no Brasil e são responsáveis pela alimentação de grande parte do rebanho nacional. Muitas espécies deste gênero apresentam efeito alelopático sobre outras plantas em pastagens. Este fato é interessante quando são considerados plantios exclusivos de gramíneas, pois pode haver controle mais eficiente das plantas que os colonizam. Por outro lado, o efeito alelopático das gramíneas pode dificultar a associação gramínea/leguminosa (Chou 1989; Almeida 1991, 1993; Souza Filho 1995; Almeida *et al.* 1997).

Brachiaria decumbens e *Melinis minutiflora* são espécies de origem africana que foram introduzidas no Brasil, acidentalmente ou pra fins comerciais e, se espalharam por grandes extensões de ecossistemas naturais, deslocando espécies herbáceas nativas devido à sua agressividade e ao seu poder competitivo (Pivello *et al.* 1999).

Dalbergia miscolobium Benth (Fabaceae), apresenta porte arbóreo, altura variável entre 8 a 20 metros e diâmetro do tronco entre 30 e 50 cm (Lorenzi 2002). Sua ocorrência é registrada nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul, preferencialmente nas áreas de cerrado. É uma espécie semidecídua, heliófita, pioneira e seletiva xerófila, comumente encontrada em terrenos arenosos e bem drenados, freqüente em formações secundárias, onde chegam a formar grandes agrupamentos. Produz quase todos os anos grandes quantidades de sementes viáveis, floresce nos meses de janeiro-fevereiro e a maturação dos frutos ocorre entre os meses de maio-junho, entretanto, estes permanecem na árvore por vários meses (Lorenzi 2002).

Estudos sobre a interferência de gramíneas exóticas sobre espécies arbóreas são escassos. Souza *et al.* (2003) estudaram em condições de casa-de-vegetação a ocorrência de efeito alelopático de 18 espécies de plantas daninhas sobre o crescimento inicial de *Eucalyptus grandis* e observaram alterações importantes no desenvolvimento das mudas. Dentre as alterações encontradas observou-se a desaceleração no crescimento em altura, redução do diâmetro do caule, produção de matéria

seca, bem como variações no teor de clorofila. Entre as espécies testadas, *B. decumbens* provocou os efeitos mais drásticos, principalmente no desenvolvimento da parte aérea, reduzindo a matéria seca de caules, folhas e das raízes de eucalipto.

A interferência de gramíneas exóticas sobre espécies arbóreas nativas do cerrado, foi pouco estudada. Este fato nos levou a investigar os efeitos dos extratos aquosos brutos e das frações hexânica, de acetato de etila e aquosa de folhas das gramíneas *M. minutiflora* e *B. decumbens* sobre a germinação de *L. sativa* (bioindicadora) e *D. miscolobium* (nativa do cerrado).

Materiais e métodos

As coletas do material vegetal foram realizadas na reserva de cerrado (*stricto sensu*) do *campus* da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), situado na área rural do município de São Carlos, entre as coordenadas 21°58' e 22°00' de latitude sul e 45°51' e 47°52' de longitude oeste, sendo estas coletas divididas em dois períodos: chuvoso (12/01/2006) e seco (10/08/2006).

Para a obtenção dos extratos de *M. minutiflora* e de *B. decumbens*, foram triturados um grama de folhas frescas para cada cinco mL de água destilada. Em seguida, esse material foi filtrado em papel de filtro e em funil de Büchner. Esta concentração foi considerada como 100% e, após a obtenção dos extratos aquosos foram feitas medidas de pH com auxílio de pHmetro (ANALION, modelo PM 608) e de potencial osmótico com um osmômetro (μ Osmotte, modelo 5004 automatic osmometer), onde foram utilizados 50 μ L do extrato bruto de cada espécie. A partir da concentração 100% foram feitas diluições para 25, 50 e 75% para o uso em bioensaios. Para a obtenção das frações orgânicas foram realizadas partições líquido-líquido a partir de 150 mL do extrato aquoso bruto de *B. decumbens* e *M. minutiflora* em balão de separação com 150 mL de hexano, 150 mL de acetato de etila em um gradiente crescente de polaridade, obtendo-se assim uma fração hexânica, uma fração acetato de etila e uma fração aquosa para cada extrato.

Para os bioensaios de germinação em placas de Petri, foram utilizados dois discos de papel de filtro esterilizados em forno de micro-ondas em potência máxima durante 3 minutos. Trinta

sementes de *L. sativa* e de *D. miscolobium* foram colocadas em cada placa e estas foram umedecidas com os extratos hexânico, de acetato de etila, aquoso e com água destilada (controle). Os extratos orgânicos foram evaporados durante 12 horas em capela com exaustão e, para o bioensaio foi adicionado 5mL de água destilada para as sementes de *L. sativa* ou 15mL para as sementes de *D. miscolobium*. Também foram realizados bioensaios com os extratos aquosos brutos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* e com as diluições 25, 50, 75. Para cada tratamento foram feitas quatro réplicas de 30 sementes.

As sementes de *D. miscolobium* foram lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 2% para tentar eliminar os fungos que vieram do campo e reduzir o ataque destes nas sementes durante os bioensaios. Todas as placas de Petri foram vedadas com filme de PVC a fim de evitar que os extratos secassem. Os testes de germinação usando *L. sativa* foram feitos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, umedecidas com 5 mL de cada um dos extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora*. Para as sementes de *D. miscolobium* foram utilizadas placas de 15 cm de diâmetro umedecidas com 15 mL de cada extrato de *B. decumbens* e *M. minutiflora*.

Para determinar a influência do potencial osmótico, dos extratos, foi realizado um bioensaio de germinação com as sementes de *L. sativa* e *D. miscolobium* em soluções de polietilenoglicol (PEG 6000) com os seguintes valores de potenciais osmóticos: 0, -0,1, -0,2, -0,3, -0,4 MPa preparadas a 28°C de acordo com especificações de Villela *et al.* (1991). Neste ensaio empregou-se a mesma metodologia descrita para os bioensaios de germinação.

O critério usado para verificar a germinação das sementes, foi o aparecimento da curvatura geotrópica da radícula com 2 mm de comprimento (Ferreira & Borghetti 2004). A germinação das sementes foi analisada sob os seguintes aspectos: porcentagem de germinação, velocidade média de germinação e entropia informacional (Maraschin-Silva & Aquila 2005), os quais foram monitorados por um período mínimo de 15 dias (ou até que as sementes iniciassem o processo de decomposição). As avaliações eram feitas de 12 em 12 horas, o experimento foi realizado em câmara BOD, na ausência de luz, com temperatura constante de 28°C.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 30 sementes. Para verificar se os dados apresentavam distribuição normal utilizou-se o teste Kolmogorov Smirnov. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância, sendo que os valores obtidos para os percentuais de germinação de sementes foram transformados para arco seno. Todas as análises foram processadas no software BioEstat, versão 4.0. A diferença mínima significativa entre os tratamentos foi determinada pelo teste de Kruskal Wallis a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Tanto a germinação, como o desenvolvimento da radícula, são afetados negativamente, em condições de extrema acidez ou extrema alcalinidade. Dados da literatura mostram que em condições onde o pH seja igual ou inferior a 3,0, igual ou superior a 9,0, os efeitos depressivos sobre a germinação e o crescimento da raiz são manifestados. Neste trabalho, os efeitos negativos do pH foram descartados, pois a faixa de pH encontrada nos extratos na concentração 100% variaram de 5,89 para o extrato de *B. decumbens* obtido de material vegetal coletado na estação chuvosa a 6,10 para o extrato de *B. decumbens* obtido de material vegetal coletado na estação seca. Para os extratos de *M. minutiflora* os valores de pH variam de 4,88 para o extrato obtido de material coletado na estação chuvosa a 4,80 para o extrato obtido de material coletado na estação seca.

O potencial osmótico dos extratos aquosos testados na concentração 100%, variaram de -0,060 MPa para o extrato de *B. decumbens* obtido de material vegetal coletado na estação chuvosa a -0,057 MPa para o extrato de *B. decumbens* obtido de material vegetal coletado na estação seca. Para os extratos de *M. minutiflora* os valores de potencial osmótico variaram de -0,050 MPa para o extrato de material vegetal coletado na estação chuvosa a -0,070 para o extrato de material coletado na estação seca.

Ao testar as soluções osmóticas de PEG, a porcentagem de germinação das sementes de *L. sativa* e *D. miscolobium* foram reduzidas somente a partir da concentração -0,3 MPa, o que descarta a influência do potencial osmótico para a porcentagem de germinação. Gatti *et al.* (2004)

encontraram valores de potencial osmótico que variaram de -0,13 a -0,23 MPa e consideraram que soluções com potenciais osmóticos de até -0,2 MPa ou próximos deste valor não interferem na germinação das sementes de *L. sativa* e *Raphanus sativus*.

Ao analisarmos a tabela 1, observamos que todos os tratamentos realizados com todas as concentrações testadas dos extratos aquosos brutos de *M. minutiflora* e *B. decumbens* (estação chuvosa) reduziram a porcentagem de germinação das sementes de *L. sativa*. O extrato da estação seca de *B. decumbens* na concentração 100% foi o tratamento que mais reduziu a porcentagem de germinação das sementes de *L. sativa*, porém, nenhuma diferença significativa foi encontrada ($P > 0,05$). A porcentagem de germinação das sementes de *L. sativa* (tabela 2) também não foi afetada pelos tratamentos com os extratos aquosos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* obtidos de material vegetal coletado na estação seca.

Contudo, tanto os extratos de *B. decumbens* obtidos de material coletados na estação chuvosa (tabela 1), quanto os extratos de *B. decumbens* de material da estação seca na concentração 100% (tabela 2), provocaram atraso significativo na velocidade média da germinação das sementes de *L. sativa* ($P < 0,05$).

O cálculo da entropia informacional nos permite evidenciar possíveis alterações na sincronia das reações metabólicas do processo germinativo como a perda da heterogeneidade fisiológica do lote das sementes. A tabela 1 mostra que apenas para as sementes de *L. sativa* tratadas com o extrato de *M. minutiflora* (estação chuvosa) na concentração 50% devem ter ocorrido estas alterações. Nos demais tratamentos não houve alterações significativas ($P > 0,05$). Da mesma forma, na estação seca (tabela 2) não foram observadas diferenças significativas para os dados de entropia informacional quando comparados em relação ao controle ($P > 0,05$).

Nenhum dos índices de germinação (porcentagem, velocidade média, e entropia informacional), analisados para as sementes de *Dalbergia miscolobium*, foram estatisticamente afetados pelos tratamentos realizados com os extratos aquosos de *B. decumbens* e *M. minutiflora*

obtidos de material coletados na estação chuvosa (tabela 3) nem na estação seca (tabela 4) em nenhuma das concentrações testadas.

Fagiolli *et al.* (2000) avaliaram o potencial alelopático de extratos aquosos de *B. decumbens* Stapf e de *B. brizantha* Stapf sobre a germinação e o vigor de sementes de *Cajanus cajan* Druce (guandu) nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% , em laboratório, e constataram que os extratos das duas espécies apresentaram efeito inibitório no comprimento e produção de matéria seca da radícula e da parte aérea.

Para avaliar os efeitos de compostos químicos com ação alelopática, usa-se a porcentagem de germinação por ser um método rápido e amplo para muitas amostras, contudo, a sensibilidade desta variável é questionada por Einhellig (1986). Levando em consideração que aleloquímicos podem simplesmente retardar a germinação. Wardle *et al.* (1991) consideram que a velocidade de germinação pode ser um indicador mais sensível, que os demais biotestes normalmente utilizados, para avaliar efeitos alelopáticos.

Gorla e Perez (1997) verificaram que a velocidade de germinação de sementes de pepino foi retardada na presença de extratos aquosos das folhas de *Lantana camara* L. e os extratos de *Miconia albicans* (Sw.) Steud não interferiram na velocidade. Os extratos de *Drimys winteri* J.R. Forst. & G. Forst. e *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit adiantaram a germinação nas concentrações de 25, 50, 75%. Já velocidade de germinação das sementes de tomate, decresceu com o aumento da concentração de todos os extratos.

Wardle *et al.* (1991) estudaram o potencial alelopático da invasora de pastagem *Carduus nutans* Boiss. ex Nyman na velocidade de germinação e alongamento da radícula das seguintes espécies de plantas forrageiras: *Dactylis glomerata* L., *Lolium perenne*, *Trifolium repens* L. e *Trifolium subterraneum* L. e também de si própria. Eles concluíram que houve inibição na germinação e no alongamento da radícula de quase todas as espécies testadas e que a velocidade de germinação pode ser o indicador mais sensível dos efeitos alelopáticos.

Tabela 1. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd.) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*: Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (Ch), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas, indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>L. sativa</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle	87,37 ± 5,26 a	0,93 ± 0,07 a	0,72 ± 0,38 b
Bd. 100% Ch	71,31 ± 5,45 a	0,69 ± 0,08 b	1,14 ± 0,09 b
Bd. 75% Ch	79,02 ± 8,00 a	0,83 ± 0,04 ab	1,08 ± 0,22 b
Bd. 50% Ch	78,37 ± 2,22 a	0,89 ± 0,06 ab	0,79 ± 0,33 b
Bd. 25% Ch	79,89 ± 7,06 a	0,83 ± 0,11 ab	1,04 ± 0,42 b
Mm. 100% Ch	79,04 ± 13,87a	0,76 ± 0,10 ab	1,32 ± 0,37 b
Mm. 75% Ch	79,02 ± 8,00 a	0,82 ± 0,03 ab	1,12 ± 0,12 b
Mm. 50% Ch	74,11 ± 6,62 a	0,87 ± 0,06 ab	2,54 ± 0,30 a
Mm. 25% Ch	80,13 ± 7,56 a	0,94 ± 0,04 a	0,70 ± 0,24 b

Tabela 2. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*: Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas, indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>L. sativa</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle	79,89 ± 7,06 a	0,84 ± 0,16 b	0,95 ± 0,70 a
Bd. 100% Sc	72,25 ± 6,16 a	0,41 ± 0,08 a	2,23 ± 0,40 a
Bd. 75% Sc	81,00 ± 6,36 a	0,60 ± 0,06 ab	1,44 ± 0,11 a
Bd. 50% Sc	78,78 ± 7,48 a	0,68 ± 0,04 ab	1,44 ± 0,14 a
Bd. 25% Sc	74,98 ± 6,40 a	0,69 ± 0,04 ab	1,46 ± 0,20 a
Mm. 100% Sc	76,30 ± 9,51 a	0,52 ± 0,08 ab	1,89 ± 0,17 a
Mm. 75% Sc	72,15 ± 12,64 a	0,56 ± 0,03 ab	1,81 ± 0,16 a
Mm. 50% Sc	72,68 ± 10,31 a	0,63 ± 0,05 ab	1,62 ± 0,15 a
Mm. 25% Sc	78,27 ± 9,01 a	0,75 ± 0,08 b	1,32 ± 0,28 a

Tabela 3. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Dalbergia miscolobium*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (Ch), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>D. miscolobium</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle	87,37 ± 5,26 a	0,25 ± 0,07 a	1.82 ± 0,94 a
Bd. 100% Ch	84,74 ± 6,07 a	0,23 ± 0,03 a	1,54 ± 0,24 a
Bd. 75% Ch	82,76 ± 8,96 a	0,23 ± 0,04 a	1.92 ± 0,74 a
Bd. 50% Ch	86,26 ± 7,48 a	0,26 ± 0,01 a	1.06 ± 0,18 a
Bd. 25% Ch	81,00 ± 6,36 a	0,22 ± 0,02 a	1.94 ± 0,63 a
Mm. 100% Ch	81,00 ± 6,36 a	0,22 ± 0,04 a	1,97 ± 0,87 a
Mm. 75% Ch	85,39 ± 9,22 a	0,27 ± 0,13 a	1,87 ± 0,59 a
Mm. 50% Ch	83,63 ± 7,58 a	0,19 ± 0,08 a	1.61 ± 0,09 a
Mm. 25% Ch	83,63 ± 7,58 a	0,23 ± 0,02 a	1,97 ± 0,25 a

Tabela 4. Efeito dos extratos aquosos brutos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Dalbergia miscolobium*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc), nas concentrações 100%, 75%, 50%, 25%. Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>D. miscolobium</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle	75,43 ± 9,82 ab	0,18 ± 0,01 a	2,36 ± 0,43 a
Bd. 100% Sc	60,97 ± 10,79 b	0,17 ± 0,01 a	2,40 ± 0,28 a
Bd. 75% Sc	59,64 ± 4,95 b	0,16 ± 0,01 a	2,48 ± 0,28 a
Bd. 50% Sc	67,48 ± 8,23 ab	0,16 ± 0,04 a	2,67 ± 0,17 a
Bd. 25% Sc	60,32 ± 13,61 b	0,14 ± 0,02 a	2,31 ± 0,63 a
Mm. 100% Sc	80,78 ± 10,64 ab	0,15 ± 0,01 a	2,60 ± 0,35 a
Mm. 75% Sc	73,25 ± 6,87 ab	0,15 ± 0,01 a	2,93 ± 0,15 a
Mm. 50% Sc	65,57 ± 9,07 ab	0,15 ± 0,01 a	2,80 ± 0,12 a
Mm. 25% Sc	83,63 ± 7,58 a	0,15 ± 0,01 a	3,07 ± 0,35 a

Tabela 5. Efeito dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc) fracionados com os solventes orgânicos hexano (Hex) e acetato de Etila (Act). Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>L. sativa</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle H ₂ O	90,00 ± 0,00 a	0,83 ± 0,07 a	1,08 ± 0,26 b
Controle Act.	86,25 ± 7,50 a	0,78 ± 0,07 a	1,18 ± 0,33 ab
Controle Hex.	84,75 ± 6,02 a	0,77 ± 0,11 a	1,30 ± 0,41 ab
<i>Mm.</i> Aqs. Sc	84,75 ± 6,06 a	0,70 ± 0,08 abc	1,60 ± 0,32 ab
<i>Mm.</i> Act. Sc	80,15 ± 7,55 a	0,65 ± 0,04 bc	1,61 ± 0,14 ab
<i>Mm.</i> Hex. Sc	77,25 ± 2,60 a	0,73 ± 0,05 ab	1,43 ± 0,30 ab
<i>Bd.</i> Aqs. Sc	81,00 ± 6,36 a	0,74 ± 0,09 ab	1,35 ± 0,22 ab
<i>Bd.</i> Act. Sc	79,50 ± 0,00 a	0,56 ± 0,03 c	1,74 ± 0,27 a
<i>Bd.</i> Hex. Sc	79,02 ± 8,00 a	0,76 ± 0,06 a	1,30 ± 0,07 ab

Tabela 6. Efeito dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd.) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Lactuca sativa*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (Ch) fracionados com os solventes orgânicos hexano (Hex) e acetato de Etila (Act). Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>L. sativa</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle H ₂ O	90,00 ± 0,00 a	0,83 ± 0,07 ab	1,08 ± 0,26 a
Controle Act.	86,26 ± 7,48 a	0,78 ± 0,07 ab	1,18 ± 0,33 a
Controle Hex.	84,74 ± 6,07 a	0,77 ± 0,11 ab	1,30 ± 0,41 a
<i>Mm.</i> Aqs. Ch	76,30 ± 9,51 a	0,71 ± 0,06 ab	1,38 ± 0,15 a
<i>Mm.</i> Act. Ch	79,02 ± 8,00 a	0,73 ± 0,05 ab	1,44 ± 0,24 a
<i>Mm.</i> Hex. Ch	80,13 ± 7,56 a	1,42 ± 0,12 a	0,90 ± 0,61 a
<i>Bd.</i> Aqs. Ch	90,00 ± 0,00 a	0,68 ± 0,07 b	1,40 ± 0,18 a
<i>Bd.</i> Act. Ch	79,02 ± 8,00 a	0,76 ± 0,07 ab	1,30 ± 0,34 a
<i>Bd.</i> Hex. Ch	79,00 ± 8,00 a	0,80 ± 0,10 ab	1,11 ± 0,36 a

Tabela 7. Efeito dos extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* (Bd.) e *Melinis minutiflora* (Mm.) nos índices de germinação de *Dalbergia miscolobium*. Porcentagem de germinação (%G); Velocidade média de germinação (Vm); Entropia informacional (E); Desvio padrão (DP). Extratos aquosos obtidos de material vegetal coletado na estação seca (Sc) fracionados com os solventes orgânicos hexano (Hex) e acetato de Etila (Act). Bioensaio de germinação em placas de Petri (n =120 sementes por tratamento). Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

<i>D. miscolobium</i> Tratamento	%G ± DP (%)	Vm ± DP (sementes/h)	E ±DP (bits)
Controle H ₂ O	76,66 ± 6,08 a	0,15 ± 0,00 a	2,76 ± 0,33 a
Controle Act.	85,00 ± 9,62 a	0,16 ± 0,00 a	2,67 ± 0,37 a
Controle Hex.	91,66 ± 10,3 a	0,15 ± 0,07 a	2,95 ± 0,14 a
<i>Mm.</i> Aqs. Sc	70,83 ± 16,4 a	0,13 ± 0,05 a	2,12 ± 0,96 a
<i>Mm.</i> Act. Sc	86,66 ± 4,71 a	0,15 ± 0,00 a	2,82 ± 0,17 a
<i>Mm.</i> Hex. Sc	89,16 ± 3,19 a	0,17 ± 0,00 a	2,59 ± 0,10 a
<i>Bd.</i> Aqs. Sc	83,33 ± 9,42 a	0,16 ± 0,01 a	2,85 ± 0,38 a
<i>Bd.</i> Act. Sc	80,83 ± 4,19 a	0,16 ± 0,00 a	2,92 ± 0,14 a
<i>Bd.</i> Hex. Sc	85,00 ± 1,92 a	0,16 ± 0,00 a	2,70 ± 0,31 a

Algumas Fabaceae herbáceas são sensíveis à ação alelopática, como relatam Tang & Young (1982) para *Desmodium intortum* (Mill.) Urb., El-Habbasha & Behairy (1978) em feijão e Lehle *et al.* (1983) para soja. Os nossos dados para a germinação de sementes de *D. miscolobium* (tabela 4) mostram que os tratamentos realizados com extratos de *B. decumbens* nas concentrações 100% e 75%, obtidos através de material vegetal coletados na estação seca, causaram redução na porcentagem de germinação das sementes de *D. miscolobium*, porém, nenhum dos tratamentos teve diferença significativa quando comparado ao grupo controle (P> 0,05). Para os índices de germinação: tempo médio, velocidade média e entropia informacional também não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos realizados com extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* em nenhuma das concentrações, quando comparados com o grupo controle.

Wardle *et al.* (1991) e Souza Filho *et al.* (1996) testaram os extratos aquosos respectivamente de *Carduus nutans* Boiss. ex Nyman e *Vernonia polyanthes* Less., na velocidade de germinação de três espécies de *Brachiaria* (*B. humidicola* (Rendle) Schweick, *B. decumbens* Stapf e *B. brizantha* Stapf cv. *marandu*) e consideraram este parâmetro como sendo o indicador mais sensível aos efeitos alelopáticos.

Embora todos os tratamentos realizados com extratos obtidos por partição orgânica do extrato aquoso de *B. decumbens* e *M. minutiflora* (tabela 5), originados do material vegetal coletado na estação seca tenham causado redução na porcentagem de germinação das sementes de *L. sativa*, essas diferenças não foram significativas para nenhum dos tratamentos realizados ($P > 0,05$). Também não foram encontradas diferenças significativas para a porcentagem de germinação das sementes de *L. sativa* (tabela 6), tratadas com as frações orgânicas dos extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* obtidos através do fracionamento do material vegetal coletado na estação chuvosa.

Hruska *et al.* (1982) afirmam que os inibidores da germinação são bastante inespecíficos, isto é, um inibidor pode afetar a germinação de sementes de várias espécies, sendo a sensibilidade destas, variável com a concentração aplicada. Segundo os mesmos autores, os testes de germinação são interessantes, pois permitem que as sementes sejam embebidas em extratos vegetais brutos ou parcialmente purificados.

A velocidade de germinação das sementes de *L. sativa* foi reduzida em todos os tratamentos quando comparados ao grupo controle (tabela 5). Contudo, foi encontrada diferença significativa ($P < 0,05$) somente para os tratamentos realizados com extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* na fração acetato de etila, obtida através do fracionamento do material vegetal coletado na estação seca. Isto pode significar que as substâncias responsáveis pelos efeitos negativos destes extratos devem ter polaridade semelhante ao acetato de etila. Ao analisarmos os dados de entropia informacional das sementes de *L. sativa* (tabela 5), nota-se que houve aumento da entropia informacional em todos os tratamentos realizados quando comparados ao grupo controle (água destilada), porém, esta diferença foi estatisticamente significativa apenas para a fração acetato de etila do extrato de *B. decumbens* da estação seca ($P < 0,05$).

A velocidade de germinação das sementes de *L. sativa* (tabela 6), foi reduzida em todos os tratamentos, exceto no tratamento realizado com o extrato de *M. minutiflora* obtido através da partição orgânica com hexano, no entanto, quando comparado ao tratamento controle, não foi observado nenhum resultado significativo, ($P > 0,05$). Os dados de entropia informacional não

apresentaram diferenças significativas em nenhum dos tratamentos realizados quando comparados ao grupo controle.

As sementes de *D. miscolobium* que receberam os tratamentos com os extratos obtidos com a partição orgânica dos extratos aquosos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* obtidos de material coletado na estação seca (tabela 7) não apresentaram resultados significativos estatisticamente quando comparados ao controle para nenhum dos índices analisados ($P > 0,05$). *Dalbergia miscolobium* apresenta sementes grandes com aproximadamente dois centímetros, o que justificaria a maior sensibilidade das sementes de *L. sativa* aos extratos, que possuem em torno de três milímetros.

Corroboram esta idéia os trabalhos de Souza Filho (2003) que ao avaliarem os efeitos alelopáticos do *Calopogonium mucunoides* Desv. em função da densidade das sementes da planta receptora, observaram que com o aumento da densidade há menor disponibilidade das substâncias para as sementes, diminuindo, conseqüentemente, a quantidade total de substâncias absorvidas por semente, deixando de atingir o nível requerido para promover inibições. A densidade, segundo estes autores, foi mais relevante para sementes grandes do que para pequenas, que requerem menor volume de água para embebição. Para eles, quanto mais pesadas eram as sementes, menores os efeitos potencialmente alelopáticos dentro de uma mesma densidade.

Gonzalez (1993), Surlles *et al.* (1993) e Leishman & Westoby (1994) também relataram que sementes de maior tamanho têm sido correlacionadas com taxas maiores de crescimento inicial de plântulas. As sementes de maior tamanho geralmente possuem maior quantidade de nutrientes durante seu desenvolvimento, possuindo embriões bem formados com maior quantidade de substâncias de reserva, sendo, conseqüentemente, as mais vigorosas (Carvalho & Nakagawa 2000).

Almeida (1993) avaliou, em condições de laboratório, os efeitos alelopáticos de três concentrações de extratos aquosos obtidos de três espécies de *Brachiaria* (*B. decumbens* Stapf, *B. humidicola* (Rendle) Schweick e *B. brizantha* Stapf cv. *Marandu*) sobre as leguminosas forrageiras *Centrosema pubescens* Benth., *Calopogonium mucunoides* Desv., *Macrotyloma axillare* Verdec.

cv. Guatá e *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. As espécies de *Brachiaria* apresentaram potencial alelopático que variaram de acordo com as espécies receptoras estudadas. Os extratos aquosos das plantas doadoras diminuíram a germinação das sementes de leguminosas, exceto as sementes de *M. axillare*. Os resultados, obtidos no trabalho deste autor, mostram que a variação da intensidade do efeito alelopático da *B. decumbens*, depende da espécie receptora, fato observado também neste trabalho.

Chou (1989) constatou que os lixiviados de *Brachiaria mutica* Stapf, *Panicum repens* Ness e *Digitaria decumbens* Stent inibiram o crescimento da radícula de alface, usada como planta receptora, porém, não teve efeito em *Lolium multiflorum* Gaud. Chung & Miller (1995) também observaram diferentes graus de inibição na massa seca das radículas de *Medicago sativa* (alfafa), quando esta foi tratada com os extratos aquosos de nove gramíneas forrageiras.

Com relação à composição química das espécies consideradas como doadoras, neste trabalho, Pires *et al.* (2002) identificaram quatro saponinas esteroidais e três sapogeninas em partes aéreas de *B. decumbens*. As saponinas esteroidais são encontradas principalmente nas monocotiledôneas, enquanto que as saponinas triterpenoídicas em dicotiledôneas (Simões *et al.* 1999).

Saponinas esteroidais são comumente encontradas em várias famílias como Asparagaceae, Aliaceae, Liliaceae, Agavaceae (Marston & Hostettmann 1991). Akhov *et al.* (2000) relataram o potencial alelopático de diferentes extratos de órgãos subterrâneos de *Allium mutans* L. Eles mostraram que diversos glicosídeos esteroidais aí encontrados possuem um sinergismo que potencializa a ação alelopática dificultando o crescimento de plântulas de agrião.

Para *M. minutiflora* foram isoladas entre outras substâncias: β -cariofileno (24,2%), (Kimani *et al.* 2000) e pequenas quantidades de terpenos e cumarinas (Alvarez *et al.* 1986). A análise dos seus óleos essenciais revelou também a existência de hexanal; 1,8-cineol e 9-(E)-eicoseno (Prates *et al.* 1993).

Segundo Garder *et al.* (1990) o hexanal biossintetizado em plantas pela ação de lipogenase e hidroperoxidolase em ácido linoleico, inibe a germinação e subsequente crescimento de *Glycine*

max Merr. cv. *Century*. Das substâncias citadas, outras três possuem efeitos alelopáticos sobre outras espécies, a cumarina, o cineol e o β -cariofileno (Rice 1984).

Conclusões

-Os extratos de *Brachiaria decumbens* e *Melinis minutiflora* evidenciaram potencialidades alelopáticas que variam de acordo com a espécie receptora.

-A velocidade média de germinação das sementes de *Lactuca sativa* foi sensível aos efeitos alelopáticos dos extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora*.

-Os extratos obtidos a partir do material vegetal coletado na estação seca afetaram mais a germinação das sementes de *L. sativa* que os extratos obtidos a partir do material vegetal coletado na estação chuvosa.

-A germinação das sementes de *Dalbergia miscolobium* não foi afetada pelos extratos de *B. decumbens* nem pelos extratos de *M. minutiflora*.

REFERÊNCIAS

- AKHOV, L.S., GOLOVKO, E.A., MUSIENKO, N.N. 2000. Allelopathic active compounds from underground parts of *Allium nutans* L. **Fiziologiya i Biokhimiya Kul'turnykh Rastenii**, 32(3):195-199.
- ALMEIDA, F.S. 1991. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, 26(2): 221-236.
- ALMEIDA, A.R.P. 1993. Efeito alelopático de espécies de *Brachiaria* Griseb. sobre algumas leguminosas forrageiras tropicais. Piracicaba: USP/ Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 73f. Dissertação de Mestrado.
- ALMEIDA, A.R.P., LUCCHESI, A.A. ABBADO, M.R. 1997. Efeitos alelopáticos de *Brachiaria* Griseb. sobre algumas leguminosa forrageiras tropicais. II. Avaliações em casa de vegetação **Boletim de Indústria animal**. Nova Odessa, 54(2):55-64.
- ALVAREZ, J.C., HERNANDEZ, L.E., RIANO, I., GALINDO, G. 1986. Isolation and identification of some compounds in the oil of the pasture grass *Melinis minutiflora*. **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, 15:83-85.
- CARVALHO, N.M., NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal. FUNEP, 588p.
- CHOU, C.H. 1989. Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan. IV- Comparative phytotoxic nature of leachate from four subtropical grasses. **Journal of Chemical Ecology**. New York, V. 15 (7):2149-2159.
- CHUNG, III-M., MILLER, D.A. 1995. Allelopathic influence of nine forage grass extracts on germination and seedling growth of alfafa. **Agronomy Journal**, Madison, 87(767-772).
- COELHO, R.W. 1986. Substâncias fitotóxicas presentes no capimannoni-2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 21(3): 255-263.
- EINHELLIG, F.A. 1986. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In PUTNAM, A. R., TANG, C.S. **The science of allelopathy**. New York: John Wiley & Sons, p.171-188.

- EL-HABBASHA, K.M. & BEHAIRY, A.C. 1978. Influence of root exudates on seed germination and seedling development of some cultivated plants. **Zeits. Acker. Pflanz.** Hamburg, 145:66-74.
- FAGIOLI, M., RODRIGUES, T.J.D., ALMEIDA, A.R.P., ALVES, P.L.C.A. 2000. Efeito inibitório da *Brachiaria decubens* Stapf. Prain. e *B. brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf. cv. MARANDU sobre a germinação e vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Boletim de Indústria animal**, 57(2):129-137.
- FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.
- GARDER, H.W., DORNBOS, D.L. Jr., DESJARDINS, A.E. 1990. Hexanal trans-2-hexanal, and trans-2- nonenal inhibit soybean; Cleye max seed germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 38:1316-1320.
- GATTI, A.B., PEREZ, S.C.J.G.A., LIMA, M.I.S. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Ktze na germinação e no crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasileira** 18(3):459-472.
- GONZALEZ, E.J. 1993. Effect of seed size on germination and seedling vigor of *Virola koschnyi* Warb. **Forest Ecology and Management** 57(1-4): 275-281.
- GORLA, C.M., PEREZ, S.C.J.G.A. 1997. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana câmara* L., *Leucaena leucocephala* (L.) de Wit e *Drymis winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, 9(2):261-266.
- HRUSKA, A.F., DIRR, M.A. & POKORNY, F.A. 1982. Investigation of anthocyanic pigments and substances inhibitory to seed germination in the fruit pulp of *Liriope muscari*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 107:468-473.
- LEHLE, F.R., FRANS, R. & McCLEELAND, M. 1983. Allelopathic potencial of hope white lupine (*Lupinus albus*) herbage and herbage extracts. **Weed Science** 31:513-519.

- LEISHMAN, M.R., WESTOBY, M. 1994. The role of large seed size in shaded conditions: experimental evidence. **Functional Ecology**, 8(2):205-214.
- LORENZI, H. 2002. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, Vol. 1. 4.ed. Nova Odessa São Paulo, SP. Instituto Plantarum, 368p.
- KIMANI, S.M., CHHABRA, S.C., LWANDE, W., KHAN, Z.R., HASSANALI, A., PICKETT, J.A. 2000. Airborne volatiles from *Melinis minutiflora* P. Beauv., a non-host plant spotted stem borer. **Journal of Essential Oil**, 12(2):221-224.
- MARASCHIN-SILVA, F., AQUÛILA, M.E.A. 2005. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **IHERINGIA, Ser. Bot.** Porto Alegre, 60(1):91-98.
- MARSTON, A. & HOSTETTAMANN, K. 1991. Plant Saponins: Chemistry and molluscicidal action. *Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids*. HARBORNE, J.B., TOMAS-BARBERAN, F.A. (ed.).
- PIRES, V.S., TAKETA, A.T.C., GOSMANN, G., SCHENKEL, E.P. 2002. Saponins and Sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 13 (2):135-139.
- PIVELLO, V.R., CARVALHO, V.M.C., LOPES, P.F.O., PECCININI, A.A., ROSSO, S. 1999. Abundance and Distribution of Native and Alien Grasses in a "Cerrado" (Brazilian Savanna) Biological Reserve. **Biotropica**, 31(1):72-82.
- PRATES, H.T., OLIVEIRA, A.B., LEITE, R.C., CRAVEIRO A.A. 1993. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 28(5): 621-625.
- RICE, E.L. 1984. Allelopathy. New York: Academic Press, 423p.
- RODRIGUES, L.R.A., RODRIGUES, T.J.D., REIS, R.A. 1992. Alelopatia em plantas forrageiras. Jaboticabal: UNESP/ FUNEP 18p. (Boletim).
- SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P. DE, MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. 1999. Farmacognosia – da planta ao medicamento. UFRGS. 5ª Ed. 1102p.

- SOUZA FILHO, A.P.S. 1995. Potencialidades alelopáticas envolvendo gramíneas e leguminosas forrageiras e plantas invasoras de pastagens. Tese de Doutorado. UNESP/ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 137p.
- SOUZA FILHO, A.P.S., RODRIGUES, L.R.A., RODRIGUES, T.J.D. 1996. Efeitos dos extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de Braquiária. **Planta Daninha**, 14(2): 93-101.
- SOUZA FILHO, A.P.S. 2003. Efeitos alelopáticos do calopogônio em função de sua idade e da densidade de sementes da planta receptora. **Planta Daninha**, 21(2):211-218.
- SOUZA FILHO, A.P.S., PEREIRA, A.A.G., BAYMA, J.C. 2005. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. **Planta Daninha**, 23 (1):25-32.
- SOUZA, L.S., VELINI, E.D., MAIOMI-RODELLA, R.C.S. 2003. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, 21(3):343-354.
- SURLES, S.E., WHITE T.L., HODGE, G.R., DURYEYEA, M.L., 1993. Relationships among seed weight components, seedling growth traits, and predicted field breedings values in slash pine. **Canadian Journal Forest Research** 23(8):1550-1556.
- TANG, C.S. & YOUNG, C.C. 1982. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of bigalta limpo grass (*Hermarthria altissima*). **Plant Physiology**. Bethesda. 69:155-160.
- VILLELA, F.A., DONI FILHO, L., SERQUEIRA, E.L. 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 26 (11/12): 1957-1968.
- WARDLE, D.A., AHMED, M., NICHOLSON, K.S. 1991. Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth of pasture plants. **New Zealand Journal of Agricultural Reserch**, 34(2) 185-191.

CAPÍTULO 2

Crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e
Dalbergia miscolobium Benth. sob a influência de extratos aquosos de folhas de *Brachiaria*
decumbens Stapf e *Melinis minutiflora* Beauv.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi analisar o crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e de *Dalbergia miscolobium* Benth. sob os efeitos dos extratos aquosos de *Brachiaria decumbens* Stapf e *Melinis minutiflora* Beauv. obtidos de material vegetal coletados na estação chuvosa e na estação seca . Para a preparação dos extratos seguiu-se a proporção 1:5. (1 grama de material vegetal fresco triturado para cada 5mL de água destilada. Para os testes de crescimento inicial foram utilizados 4 réplicas com 10 sementes pré-germinadas de *L. sativa* e *D. miscolobium* para cada tratamento. As sementes foram colocadas em placas de Petri forradas com papel de filtro, umedecidos com água destilada e, após a emissão de 2 mm da radícula, as mesmas foram transferidas para caixas plásticas contendo 2 folhas de papel de filtro, umedecidos com os respectivos extratos e mais o tratamento controle. Para determinar a existência de interferência no crescimento, mediu-se o comprimento da parte aérea e das raízes das plântulas crescidas sob temperatura constante de 28° C e fotoperíodo de 12 horas. O comprimento das plântulas de *L. sativa* foi reduzido em praticamente todos os tratamentos quando comparados ao controle, entretanto diferenças estatisticamente significativas foram observadas na parte aérea das plântulas de *L. sativa* tratada com extrato de *B. decumbens* obtido de folhas colhidas na estação seca e, no comprimento da raiz tratada com o extrato de folhas de *M. minutiflora* colhidas na estação seca que estimulou o crescimento. Para as plântulas de *D. miscolobium* o extrato de folhas de *B. decumbens* colhidas na estação seca reduziu o comprimento da parte aérea e da raiz, e o mesmo fato foi observado com o uso do extrato de *M. minutiflora* obtido do material vegetal colhido na estação chuvosa. Estudos microscópicos da anatomia das células meristemáticas realizados nas raízes de *D. miscolobium* e *L. sativa* mostraram que os extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora* testados causaram alterações com intensidades diferentes nas células das raízes destas plântulas, sendo que as alterações mais acentuadas foram observadas nas plântulas de *D. miscolobium* tratadas com os extratos aquosos de *B. decumbens* obtidos de folhas colhidas na estação seca e com os extratos aquosos de *M. minutiflora* obtidos de folhas colhidas na estação chuvosa.

Palavras chave: alterações celulares, alelopatia, gramíneas invasoras.

Abstract – The aim of this study was to analyze the initial growth of *Lactuca sativa* L. and of *Dalbergia miscolobium* Benth. on the aqueous extracts effects of *Brachiaria decumbens* Stapf and *Melinis minutiflora* Beauv. obtained from vegetal material collected both in the dry (08/10/2006) and raining season (01/12/2006). For the preparations of the extracts was follow the rate of 1:5. Was ground 1 gram of fresh vegetal material for each 5 mL of distilled water. For the initial growth test were used 4 replicates with 10 pre-germinated seeds of *L. sativa* and *D. miscolobium* for each treatment. To obtain the pre-germinated seeds of *L. sativa* and *D. miscolobium*, these are put in Petri dishes with filter paper, moistened in distilled water and after the radicular emission with 2mm, they are transferred to plastic boxes containing 2 sheets of filter paper, wet with the respective extracts and distilled water for the control group. In order to determinate the existence or not of allelopathic potential, was measured the length of above-ground part and the root of the seedlings in constant temperature of 28 C and photoperiod of 12 hours. The length of the seedlings of *L. sativa* was decreased in practically all treatments when compared with the control group, however was observed significative statistical differences just in the above-ground part of the seedlings of *L. sativa* treated with leaves extracts of *B. decumbens* collected in the dry season, and in the root length treated with leaves extract of *Melinis minutiflora* collected in the dry season, which had its growth stimulated. To the seedlings of *D. miscolobium* the leave extract of *B. decumbens* collected in the dry season decreased the length of the above-ground part and the root, and the same was observed for the leaves extract of *M. minutiflora* collected in the raining season. Anatomy studies of root-tip cells carried out in root of *D. miscolobium* and *L. sativa* showed that the extracts of *B. decumbens* and *M. minutiflora* cause alterations on the root cells of these seedlings with different intensities, being the most emphasized alterations observed in seedlings of *D. miscolobium* treated with the aqueous extracts of *B. decumbens* obtained of leaves collected in the dry season and leaves extracts of *M. minutiflora* obtained of leaves collected in the raining season.

Key-words: cells alterations, allelopathy, alien weeds.

Introdução

A alelopatia é reconhecida como um mecanismo ecológico que influencia a todos os estádios sucessionais (Reigosa *et al.* 1999) interferindo na formação de comunidades vegetais, na dinâmica entre diferentes formações (Rizvi *et al.* 1992), na dominância de certas espécies vegetais e, portanto, afetando a biodiversidade local (Reigosa *et al.* 1999), em plantações e nas práticas de manejo (Chou 1986). Esta interação alelopática é feita através de um mecanismo de defesa e ataque das plantas e microrganismos que vem sendo adquirido ao longo de um processo de evolução (Nishimura & Mizutani 1995).

Os aleloquímicos podem variar quanto à composição, concentração e localização no tecido vegetal e, essas substâncias ao serem liberadas, promovem diversas e complexas interações químicas as quais, fornecem muitas vantagens adaptativas à planta que as liberam (Reigosa *et al.* 1999). Entretanto no ambiente, a ação dos aleloquímicos dependerá de fatores que interfiram na sua ação sobre a planta alvo. Entre estes fatores, pode-se citar a retenção do aleloquímico por adsorção nas partículas do solo, as alterações moleculares (oxidações, reduções, conjugações, entre outras), que aumentam ou reduzem sua toxicidade e sua complexidade química e, os diferentes modos pelos quais são transportados no solo, na forma de vapores ou em solução (Cheng 1992).

Alguns autores listaram inúmeros mecanismos de ação dos aleloquímicos, que afetam vários processos fisiológicos das plantas, como por exemplo, os processos de respiração, fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, abertura dos estômatos, níveis de fitormônios, disponibilidade de sais minerais, e ainda, na divisão e alongamento celular, na estrutura e na permeabilidade de membranas de paredes das células (Inderjit & Dakshini 1995; Chou 1999; Reigosa *et al.* 1999; Hoagland & Williams, 2004).

De acordo com Prates *et al.* (2001) a maioria dos estudos em alelopatia referem-se apenas ao efeito do aleloquímico sobre a germinação e o crescimento da planta-teste, sem considerar os eventos celulares relacionados às mudanças fisiológicas e genéticas. A ação visível dos aleloquímicos sobre as

plantas é apenas uma sinalização secundária de mudanças ocorridas anteriormente. Sendo assim, Ferreira e Borghetti (2004) sugerem que os estudos referentes aos efeitos alelopáticos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de processos metabólicos ocorridos inicialmente a nível molecular e celular.

A citotoxicidade e a genotoxicidade de substâncias alelopáticas podem ser avaliadas, respectivamente, através de alterações nos processos de divisão celular sobre o organismo alvo e pela incidência de mutações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos (Souza *et al.* 2005).

Com este trabalho objetivou-se, avaliar se haveria efeitos alelopáticos dos extratos aquosos de *Brachiaria decumbens* e *Melinis minutiflora* obtidos de material vegetal coletado na estação chuvosa (12/01/2006) e de material coletado na estação seca (10/08/2006) sob o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Dalbergia miscolobium*. Além disso, foram avaliadas alterações na anatomia celular das raízes das plântulas das espécies testadas.

Materiais e métodos

Bioensaio de crescimento

Os extratos empregados neste experimento foram obtidos através do material vegetal coletado na reserva de cerrado (*stricto sensu*) do *campus* da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, que está situado na área rural do município de São Carlos, entre as coordenadas 21°58' e 22°00' de latitude sul e 45°51' e 47°52' de longitude oeste. As coletas de material foram realizadas na estação chuvosa (12/01/2006) e na estação seca (10/08/2006).

Para a obtenção dos extratos aquosos de *M. minutiflora* e *B. decumbens*, foi triturado um grama de folhas frescas para cada cinco mL de água destilada. Em seguida, esse material foi filtrado em papel de filtro e em funil-de-büchner. Após a obtenção dos extratos aquosos foram feitas medidas de pH com

auxílio de pHmetro (ANALION, modelo PM 608) e medidas do potencial osmótico com um osmômetro (μ OSMOTTE, modelo 5004 AUTOMATIC OSMOMETER), onde foram utilizados 50 μ L de extrato de cada espécie.

Sementes de *D. miscolobium* e *L. sativa* foram pré-germinadas em placas de Petri com 2 folhas de papel filtro umedecidos em água destilada sob 28° C e após a emissão de aproximadamente 2 mm da radícula, foram transferidas para caixas plásticas (6 cm de altura x 18 cm de comprimento x 11 cm de largura), forradas com duas folhas de papel de filtro, umedecidos com 10 mL de extrato aquoso de *B. decumbens*, *M. minutiflora* ou água destilada (controle). Foram feitas quatro repetições com 10 sementes pré-germinadas para cada espécie. As caixas plásticas contendo as sementes foram devidamente vedadas com filme de PVC e incubadas em estufa B.O.D. a 28°C e fotoperíodo de 12 horas.

As sementes de *D. miscolobium*, antes de serem colocadas para germinarem, foram higienizadas com solução de hipoclorito de sódio 2%, a fim de tentar eliminar os fungos que vieram do campo. Para obter os dados do comprimento médio, mediu-se a parte aérea e as raízes das plântulas das quatro repetições de *D. miscolobium* (após 15 dias de incubação) e das plântulas de *L. sativa* (após sete dias de incubação), com auxílio de uma régua milimetrada. O comprimento médio das plântulas foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas, com resultados expressos em cm.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado. Para verificar se os dados apresentavam distribuição normal utilizou-se o teste Shapiro Wilk. Os valores obtidos para o comprimento da parte aérea e das raízes foram submetidos às análises de variância. Todas as análises foram processadas no software BioEstat, versão 4.0. A diferença mínima significativa entre os tratamentos foi determinada pelo teste de Kruskal Wallis a 5% de probabilidade.

Estudos anatômicos

Para os experimentos de anatomia, as pontas das raízes das plântulas utilizadas anteriormente no bioensaio de crescimento, após terem sido medidas, foram fixadas em reativo de Farmer durante 24 horas em temperatura ambiente e guardadas em álcool 70% sob refrigeração até o momento da preparação da historresina. Antes da inclusão das raízes na historresina, as raízes foram submetidas à uma série etílica iniciada com etanol 60°GL, passando por etanol, 50°, 40°, 30°, 20°, 10°GL e finalmente por água destilada, permanecendo 30 minutos em cada uma das soluções.

Ao término da série etílica, as raízes foram colocadas em resina de infiltração/água na concentração 1:1 durante 36 horas. E em seguida em resina (FNT) de infiltração pura durante 36 horas. A resina-glicol Meta-acrilato-Reichert Jung, utilizada no experimento, foi preparada de acordo com as instruções do fabricante. Após a secagem e lapidação dos blocos, o material foi cortado em micrótomo. Foram feitos cortes longitudinais com 5µm de espessura e as lâminas foram confeccionadas e coradas com corante de Fucsina 5% conforme metodologia descrita por Kraus & Arduin (1997). As células foram analisadas a partir de 20µm da ponta das raízes, em microscópio ótico com aumento de 400X.

Resultados e discussão

A germinação e o desenvolvimento da radícula são afetados negativamente, em condições de extrema acidez ou extrema alcalinidade, porém a faixa de pH encontrada nos extratos utilizados neste trabalho, variou de 5,89 para o extrato de *B. decumbens* obtido com o material vegetal coletado na estação chuvosa a 6,10 para o extrato de *B. decumbens* obtido com o material vegetal coletado na estação seca. Para os extratos de *M. minutiflora* os valores de pH variam de 4,88 para o extrato obtido na estação chuvosa a 4,80 para o extrato obtido na estação seca.

O potencial osmótico dos extratos aquosos variaram de -0,060 MPa para o extrato de *B. decumbens* obtido de material vegetal da estação chuvosa a -0,057 MPa para o extrato de *B. decumbens* obtido de material vegetal da estação seca. Para os extratos de *M. minutiflora* os valores de potencial osmótico variaram de -0,050 MPa para o extrato obtido através do material vegetal coletado na estação chuvosa a -0,070 para o extrato obtido através do material vegetal coletado na estação seca.

Gatti *et al.* (2004) encontraram valores de potencial osmótico que variaram de -0,13 a -0,23 MPa e consideraram que soluções com potenciais osmóticos próximos de -0,2 MPa não interferem na germinação das sementes de *L. sativa* e *Raphanus sativus*. Maraschin-Silva & Aqüila (2006) encontraram valores de potencial osmótico que variaram de -0,025 a -0,074 e valores de pH que variaram de 5 a 6 nos extratos foliares aquosos de *Cecropia pachystachya* Trec, *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub, *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltdl, *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax e *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. & Bôer. A caracterização físico-química dos extratos demonstrou que o pH e o potencial osmótico estão dentro de uma faixa, que em geral não afeta o crescimento de *L. sativa* (Baskin & Baskin 1998; Aqüila 2000). Assim, pode-se afirmar que o pH e o potencial osmótico dos extratos testados neste trabalho, não atuaram negativamente no desenvolvimento das plântulas de *D. miscolobium* e *L. sativa*, indicando portando a presença de substâncias com, atividade alelopática nos extratos de *B. decumbens* e *M. minutiflora*.

Analisando a figura 1, é possível observar que, o comprimento médio da parte aérea das plântulas de *L. sativa* foi reduzido significativamente ($P < 0,05$), apenas pelo extrato aquoso de *B. decumbens* obtido na estação seca. Embora o extrato *B. decumbens* obtido com material colhido na estação seca também tenha reduzido o comprimento médio das raízes, esta redução não foi significativa ($P > 0,05$) quando comparada ao grupo controle. Ainda na figura 1, observa-se que, o extrato de *M. minutiflora* da estação seca estimulou significativamente o crescimento das raízes das plântulas de *L. sativa* ($P < 0,05$). Gatti *et al.* (2004) também observaram que os extratos de caule, folha e raiz de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na concentração 50%, estimularam o crescimento

radicular de *L. sativa*. De acordo com Reigosa *et al.* (1999) este fato ocorre porque os aleloquímicos podem atuar em vários processos simultaneamente e ter uma resposta diferenciada para o mesmo ou para diferentes processos dependendo da concentração deste composto.

Os aleloquímicos podem atuar de diferentes formas dependendo do ambiente e estágio do ciclo vital em que a planta se encontra, visto que ambos refletem diferentes estados fisiológicos. Além disso, os efeitos também podem ser variados quando se considera em que órgão da planta eles estão atuando (Aqüila *et al.* 1999), este fato pode ser observado na figura 1, pois o extrato de *B. decumbens* da estação seca inibiu o crescimento da parte aérea da plântula de *L. sativa* reduzindo o seu comprimento médio, no entanto, para as raízes não se observou diferença significativa. Este fato também pôde ser observado para o extrato de *M. minutiflora* da estação seca que estimulou o comprimento médio das raízes, não alterando porém, o comprimento médio da parte aérea.

Reduções significativas no desenvolvimento de plântulas de *L. sativa* e *Raphanus sativus* L. tratadas com extratos aquosos de *Andira humilis* Mart. Ex Benth foram observadas por Periotto *et al.* (2004). O efeito alelopático foi mais evidente sobre a velocidade de germinação e sobre o comprimento de plântulas do que na percentagem final de sementes germinadas.

De acordo com Miró *et al.* (1998) e Aqüila (2000) isso ocorre porque o efeito alelopático é mais pronunciado sobre o desenvolvimento inicial da plântula alvo quando comparado à germinação, uma vez que a germinação utiliza reservas da própria semente.

Dalbergia miscolobium (figura 2) teve o comprimento médio de suas partes aéreas e das raízes reduzidos significativamente pelos extratos de *B. decumbens* da estação seca e pelos extratos de *M. minutiflora* da estação chuvosa ($P < 0,05$), embora os extratos de *M. minutiflora* da estação seca e *B. decumbens* da estação chuvosa também tenham reduzido o comprimento médio das raízes, esta redução não foi significativa ($P > 0,05$) quando comparada ao grupo controle.

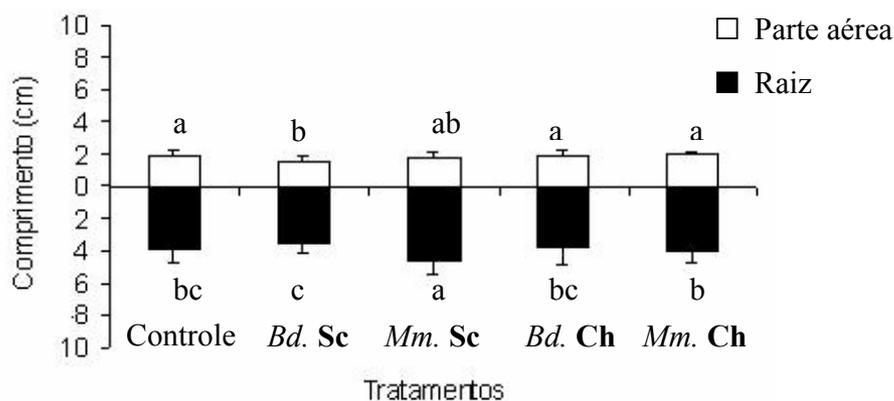


Figura 1. Valores médios do comprimento da parte aérea e comprimento radicular de plântulas de *Lactuca sativa* sob o efeito dos tratamentos com extratos aquosos de *Brachiaria decumbens* (Bd. Sc) e *Melinis minutiflora* (Mm. Sc), obtidos de material vegetal coletados na estação seca, *Brachiaria decumbens* (Bd. Ch) e *Melinis minutiflora* (Mm. Ch), obtidos de material vegetal coletados na estação chuvosa e Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

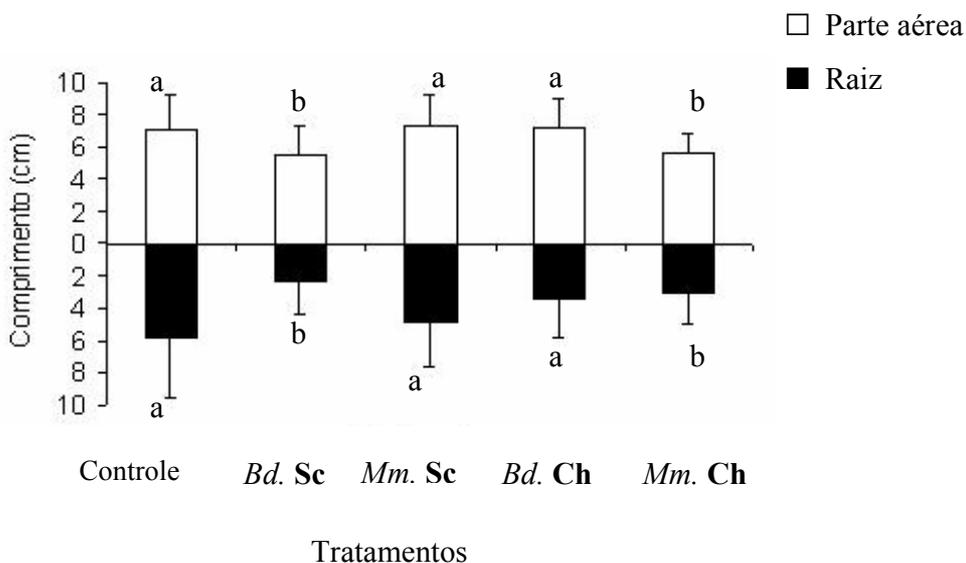


Figura 2. Valores médios do comprimento da parte aérea e comprimento radicular de plântulas de *Dalbergia miscolobium* sob o efeito dos tratamentos com extratos aquosos de *Brachiaria decumbens* (Bd. Sc) e *Melinis minutiflora* (Mm. Sc), obtidos de material vegetal coletados na estação seca, *Brachiaria decumbens* (Bd. Ch) e *Melinis minutiflora* (Mm. Ch), obtidos de material vegetal coletados na estação chuvosa e Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Maraschin-Silva & Aqüila (2005) demonstraram que o desenvolvimento inicial de plântulas de *L. sativa* é afetado pelos extratos de *Dodoneae viscosa*. No comprimento das raízes das plântulas constataram uma redução de 27,91% no tratamento com o extrato a 2% preparado a quente e redução de 64,22% no tratamento a 4%. Maraschin-Silva & Aqüila (2006) ao testarem os extratos foliares aquosos de *Cecropia pachystachya* Trec, *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub, *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltl, *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax e *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. & Bôer no crescimento inicial de *L. sativa*, observaram que os extratos de todas as espécies testadas provocaram inibições nas plântulas quando comparados ao tratamento controle, mas, que os efeitos mais acentuados foram causados nas raízes.

De acordo com Pires & Oliveira (2001) a anormalidade em raízes é um bom parâmetro para detectar efeitos alelopáticos, pois este órgão é o mais sensível á ação dos aleloquímicos. Na figura 3, observa-se alterações nos sistemas radiculares das plântulas de *D. miscolobium*. Resultados semelhantes foram encontrados por Gatti *et al.* (2004) onde, a influência dos extratos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze no crescimento de plântulas de alface e rabanete foi registrada pela presença de anormalidade nas raízes primárias, que se apresentaram atrofiadas e defeituosas, algumas plântulas apresentavam raízes curtas e desproporcionais em relação às outras estruturas da planta. Aqüila (2000) também observou anormalidade em plântulas de alface tratadas com extratos de *Ilex paraguariensis* e segundo Ferreira & Aqüila (2000) a necrose da radícula é o sintoma mais comum de anormalidade.

De acordo com Rizvi *et al.* (1992) os efeitos visíveis causados por aleloquímicos são reflexos secundários de alterações que ocorrem a nível molecular. Cruz-Ortega *et al.* (1998) relatam que o endurecimento e escurecimento dos ápices radiculares são evidências de alterações morfológicas e ultraestruturais causadas por fitotoxinas. Analisando a figura 3b, 3c, 3d e 3e, é possível observar a redução e a necrose nas raízes das plântulas de *D. miscolobium* e a redução do crescimento da parte aérea. Neste trabalho, alterações como o endurecimento dos ápices radiculares foi observado em

plântulas que receberam os tratamentos com os extratos de *B. decumbens* da estação seca (figura 3b e 3e) e *M. minutiflora* da estação chuvosa (figura 3c e 3d).

Através dos cortes histológicos foi possível uma melhor visualização dos efeitos alelopáticos dos extratos aquosos a nível celular. As raízes de *D. miscolobium* tratadas com extrato aquoso de *B. decumbens* da estação chuvosa apresentaram células de difícil visualização com os núcleos indefinidos. As células das raízes de *D. miscolobium* tratadas com extrato aquoso de *B. decumbens* da estação seca (figura 4), também apresentaram alterações bastante distintas quando comparados ao grupo controle, além disso, houve diminuição do tamanho das células, que apresentaram paredes deformadas e pouco definidas.

As células das raízes de *D. miscolobium* tratadas com o extrato de *M. minutiflora* obtido com o material coletado da estação chuvosa encontram-se bem definidas, no entanto, são menores quando comparadas ao controle (figura 4) e os núcleos não estão bem definidos. As células de *D. miscolobium* tratadas com o extrato de *M. minutiflora* da estação seca (figura 4), apresentaram-se deformadas, com tamanhos irregulares e sem condições de observar os núcleos, contudo o tamanho médio da raiz não foi afetado (figura 2).

Não foram observadas alterações nem as células das raízes de *L. sativa* tratadas com os extratos aquosos de *B. decumbens* obtidos na estação chuvosa, nem as células das raízes tratadas com os extratos aquosos de *B. decumbens* da estação seca. Ao analisar as raízes tratadas com o extrato aquoso de *M. minutiflora* da estação chuvosa, não foram observadas alterações no tamanho das células, porém os núcleos se apresentaram menores quando comparados com o controle (figura 5), todavia, não foram observadas alterações no comprimento médio das raízes conforme demonstrado na figura 2. As raízes que receberam tratamento com extrato de *M. minutiflora* da estação seca, apresentaram alterações sutis no tamanho da célula, sendo que estas foram mais visíveis no núcleo que se apresenta ligeiramente menor, contudo, não diferiram do grupo controle em relação ao seu comprimento (figura 1).



Figura 3. Plântulas de *Dalbergia miscolobium* crescidas em papel de filtro umedecido com extratos aquosos de: a. controle, b. *Brachiaria decumbens* (estação seca), c. *Melinis minutiflora* (estação chuvosa), d. raízes de *Dalbergia miscolobium* com extrato de *Melinis minutiflora* (estação chuvosa), e. raízes de *Dalbergia miscolobium* com extrato de *Brachiaria decumbens* (estação seca).

De acordo com Souza Filho & Alves (2002) o principal critério usado na determinação da presença ou atividade relativa de um agente alelopático são as mudanças no tamanho e peso do organismo teste. Segundo estes autores, a divisão e o alongamento celular são duas formas de crescimento e desenvolvimento, e os mecanismos que comandam os efeitos de toxinas conhecidas sobre esses processos pode ser um ponto de partida para o entendimento dos mecanismos de ação dos aleloquímicos.

Segundo Einhellig (1986) o envolvimento de substâncias com balanço de hormônios, envolvidos com a regulagem do crescimento das plantas é sem dúvida, outro provável mecanismo de interferência alelopática no crescimento das plantas. As evidências disponíveis mostram que o mecanismo de ação alelopática para várias substâncias fenólicas é a interação com o ácido indolacético (AIA). Muitas investigações têm corroborado que os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: aqueles que são repressores da destruição do AIA (por exemplo, clorogênio, cafeico, ferúlico e outros) e aqueles que estimulam o AIA-oxidase (*p*-cumarico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, seringica, etc) (Lee *et al.* 1982).

Lee (1980) também relata que o ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico e 4-metilumbeliferona inibiram a formação de ligações AIA e, conseqüentemente, causou um acúmulo de AIA livre, independentemente da enzima oxidativa. O Crescimento das plantas também pode ser comprometido através da ação dos aleloquímicos na atividade das giberelinas. Agentes alelopáticos como a cumarina, ácido cinâmico e vários compostos fenólicos inibem a síntese da giberelina, que é um indutor do crescimento, porém em menor intensidade do que os taninos, em concentrações similares (Rice 1984).

De acordo com Corcoran *et al.* (1972) uma variedade de taninos inibiu a giberelina e reduziu a síntese da amilase e da fosfatase em endosperma de cevada. Ray *et al.* (1980) mostram que muitos fenólicos ativam o ácido abscísico (ABA). Cumarinas, ácidos ferúlico, gálico, taninos e ácido cinâmico inativam o ácido abscísico (ABA) do hipocótilo, em concentração de 10 µM.

Para *D. miscolobium* as alterações causadas a nível celular foram mais acentuadas que as ocorridas em *L. sativa*. Isto poderia ser justificado pelo fato das raízes de *L. sativa* apresentarem um rápido crescimento estando menos tempo expostas aos extratos.

Ao realizarem bioensaios com os extratos de *Plectranthus babartus*, *Plectranthus amboinicus* e *Vernonia condensata*, Iganci *et al.* (2006) observaram que os extratos interferiram sobre a germinação e sobre a divisão celular em células meristemáticas radiculares de *Allium cepa* L. e que os extratos testados produziram efeito sobre o processo de divisão celular da cebola, mas não foram detectados efeitos citotóxicos ou genotóxicos e sim um aumento no índice de divisão celular significativo quando comparado ao controle. Os efeitos alelopáticos observados por Iganci *et al.* (2006) parecem indicar que não só a inibição, mas também a aceleração da germinação e do crescimento podem interferir no processo de divisão celular, pois o aumento no índice de divisão celular parece corroborar os dados de germinabilidade das sementes de cebola.

Algumas células tratadas com extrato de *P. barbatus* apresentaram anomalias nucleares do tipo aneugênese durante a divisão mitótica, porém, os dados não foram avaliados estatisticamente (Pires *et al.* 2001). Segundo estes autores, a interferência na divisão celular causada pela ação do extrato sobre o desenvolvimento do sistema radicular provavelmente representa um dos mecanismos de ação do extrato sobre o desenvolvimento da planta teste.

Em bioensaios com cebola Souza *et al.* (2005) verificaram que o extrato de espinheira-santa não teve efeito significativo sobre as variáveis: primeira contagem, germinação e índice de velocidade de germinação. Contudo, as células de meristema radicular de cebola, quando expostas ao extrato aquoso de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex. Reiss na concentração 40mg/mL, apresentaram alterações cromossômicas sugerindo um potencial genotóxico e também efeito citotóxico, os valores do índice mitótico decresceram até concentração próxima de 30mg/mL.

O extrato de espinheira-santa teve efeito citotóxico sobre as células de meristemas radiculares da alface, exibindo a redução do índice mitótico com o aumento da concentração do extrato. Segundo

estes autores o efeito alelopático poderia ser explicado pela presença de saponinas, taninos e flavonas (Souza *et al.* 2005).

Peres *et al.*, (2004) ao testarem o potencial alelopático dos extratos etanólicos das Pteridaceae: *Adiantopsis radiata* (L.) Fee, *Adiantum serratodentatum* Willd e *Pteris denticulata* Sw. var. *denticulata*, *Adiantum tetraphyllum* Willd. e *Pityrogramma calomelanos* (L.) link var. *calomelanos* sobre a germinação e crescimento das sementes de *L. sativa* e *A. cepa* concluíram que os extratos não interferiram significativamente na germinação de alface e cebola, no entanto, os extratos de *A. radiata*, *A. serratodentatum*, *A. tetraphyllum*. e *P. calomelanos* inibem o crescimento da radícula das plântulas de alface, que *Adiantum serratodentatum*, *A. tetraphyllum* e *Pteris denticulata* inibem o crescimento do hipocótilo de alface e que *A. radiata*, *A. serratodentatum* e *Pteris denticulata* inibem tanto o crescimento da radícula quanto do hipocótilo das plantas de cebola.

A possível explicação de Peres *et al.* (2004) para os resultados encontrados para *A. cepa* e *L. sativa*, é o fato da emergência da radícula ser feita as custas da reservas das sementes, sendo por isso menos sensível à presença de aleloquímicos do que o crescimento das plântulas e que este é um aspecto ecológico importante, uma vez que, com a inibição do desenvolvimento do sistema radicular, há redução na pressão competitiva da planta o que favorece as espécies vizinhas, que podem assim estabelecer rapidamente aspectos de dominância devido a habilidade competitiva.

Conclusões

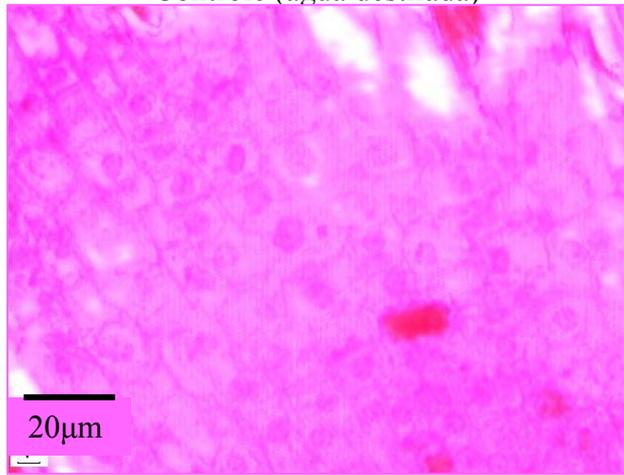
- Os extratos de *Brachiaria decumbens* e de *Melinis minutiflora* obtidos de material coletados na estação seca e de material coletado na estação chuvosa, atuaram com intensidades diferentes dependendo da espécie alvo.

- Os extratos brutos de *B. decumbens* e de *M. minutiflora* provocaram alterações celulares nas raízes de plântulas de *D. miscolobium*.

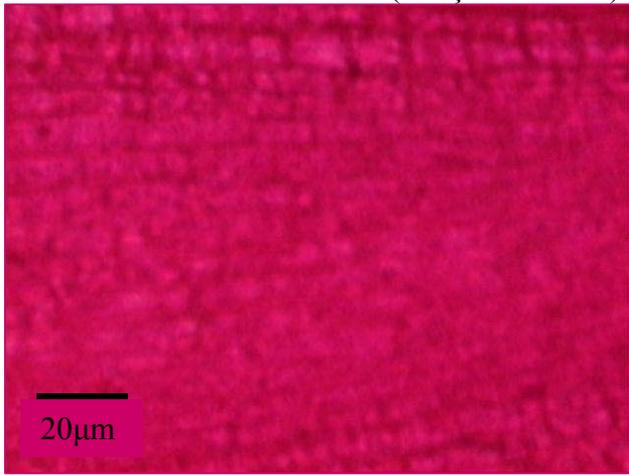
- As alterações ocorridas no desenvolvimento de *L. sativa* e *D. miscolobium* foram ocasionadas pelo potencial alelopático dos extratos aquosos de *B. decumbens* e de *M. minutiflora*.

- Os resultados obtidos através de análises da anatomia celular das espécies testadas podem ajudar a visualizar, a interferência dos aleloquímicos no crescimento inicial de *L. sativa* e *D. miscolobium*.

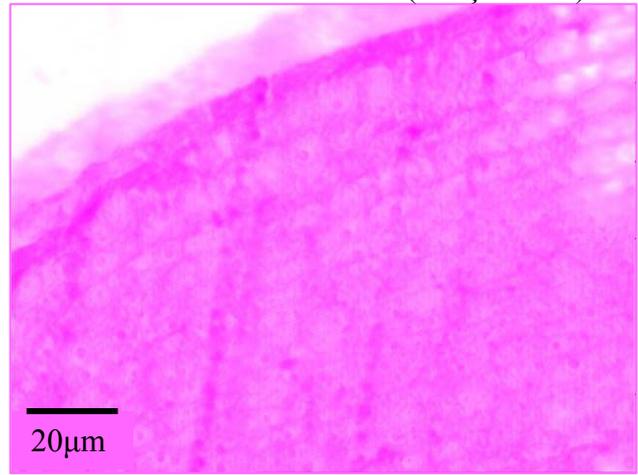
Controle (água destilada)



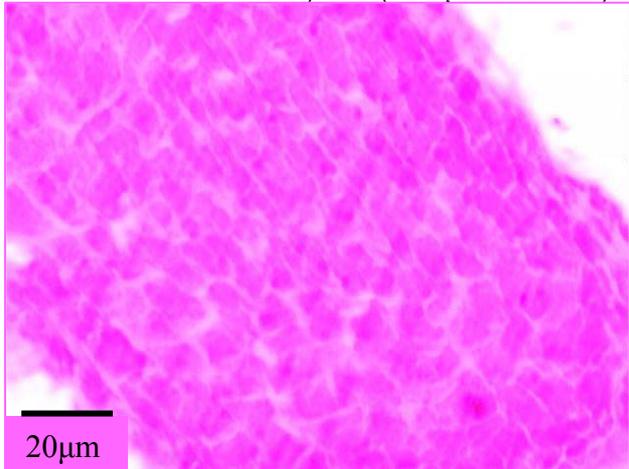
Extrato de *B. decumbens* (estação chuvosa)



Extrato de *B. decumbens* (estação seca)



Extrato de *M. minutiflora* (estação chuvosa)



Extrato de *M. minutiflora* (estação seca)

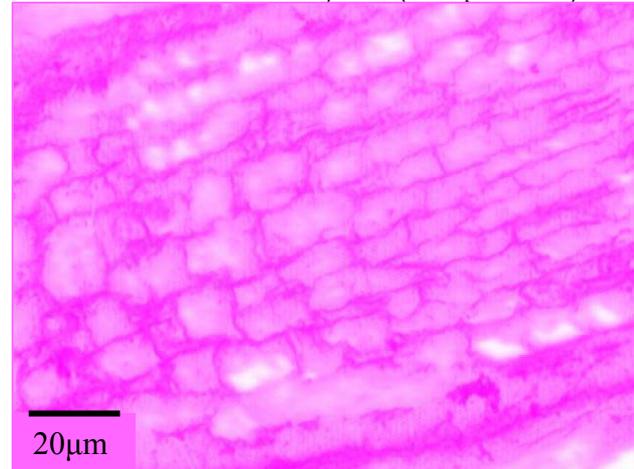
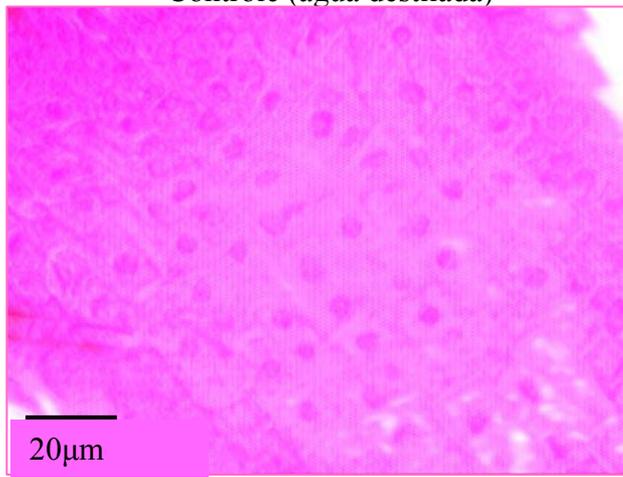
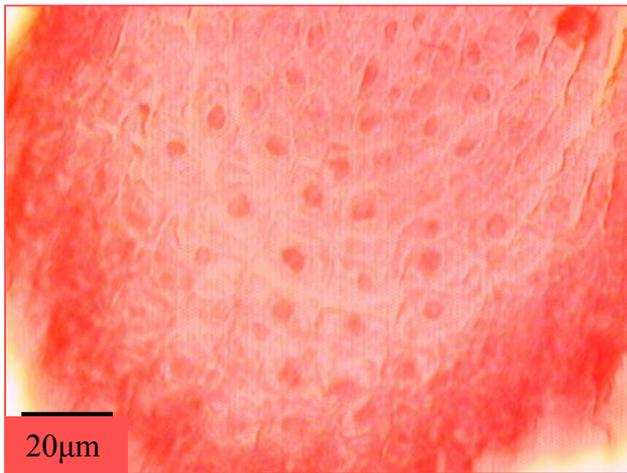


Figura 4. Alterações celulares observadas em cortes longitudinais de raízes de *Dalbergia miscolobium* provocadas pelos extratos aquosos de folhas de *Brachiaria decumbens* e *Melinis minutiflora* coletadas na estação seca e na estação chuvosa (aumento 40 x). As diferenças apresentadas na coloração devem-se ao uso de filtros para melhor visualização.

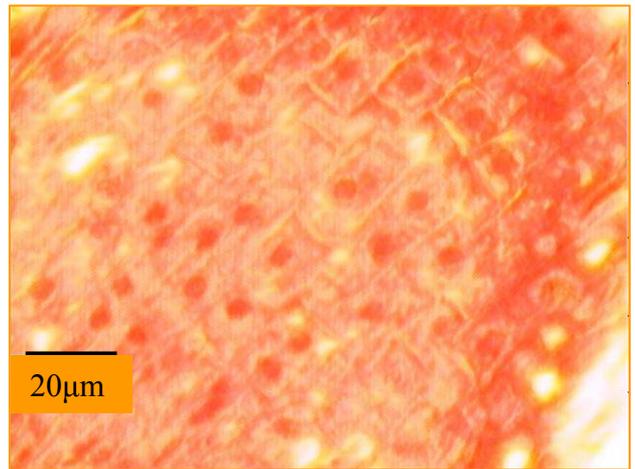
Controle (água destilada)



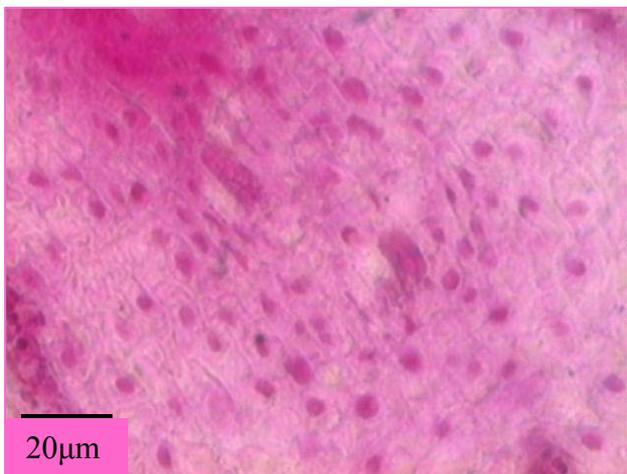
Extrato de *B. decumbens* (estação chuvosa)



Extrato de *B. decumbens* (estação seca)



Extrato de *M. minutiflora* (estação chuvosa)



Extrato de *M. minutiflora* (estação seca)

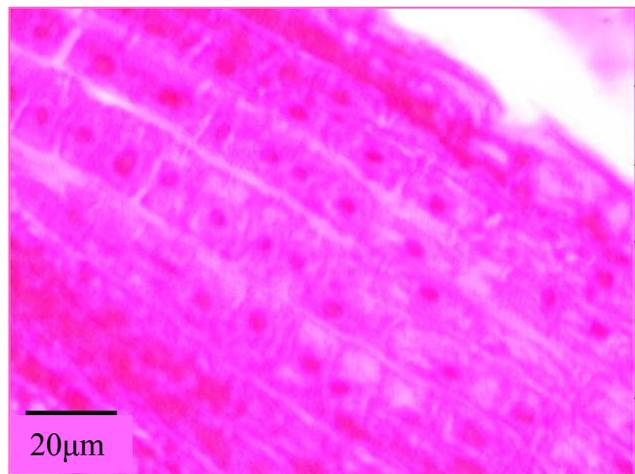


Figura 5. Alterações celulares observadas em cortes longitudinais de raízes de *Lactuca sativa* provocadas pelos extratos aquosos de folhas de *Brachiaria decumbens* e *Melinis minutiflora* coletadas na estação seca e na estação chuvosa (aumento 40 x). As diferenças apresentadas na coloração devem-se ao uso de filtros para melhor visualização.

REFERÊNCIAS

- AQÜILA, M.E.A., UNGARETTI, J.A.C. MICHELIN, A. 1999. Preliminary observation on allelopathy activity in *Achhyocline saturoides* (Lam.) DC. **Acta Horticultura**, Leuven, 50:383-388.
- AQÜILA, M.E.A. 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hill. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.- **Iheringia**, Série Botânica, Porto Alegre, 53:51-66.
- BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. 1998. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press. 666p.
- CHENG, H.H. 1992. A conceptual ramework for assessing Allelochemicals in the soil environment. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Ed.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. 480p.
- CHOU, C.H. 1986. The Role of Allelophaty in Subtropical Agroecosystems in Taiwan. In PUTNAM, A.; TANG, C.S. (Ed.). **The science of allelopathy**. New York: Willey interscience. 317p.
- CHOU, C.H. 1999. Roles allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Science**, 18(5):609-639.
- CORCORAN, M.R.; GEISSMAN, T.A.; PHINNEY, B.O. 1972. Tannis as gibberellin antagonists. **Plant physiology**, 49:323-330.
- CRUZ-ORTEGA, R. *et al.* 1998. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastruture of *Phaseolus vulgaris* e *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, New york, 24(2):2039-2057.
- EINHELLIG, F.A. 1986. Mechanism and mode of action of Allelochemicals. In: PUTNAM. A.R., TANG, C.S. (Ed.). **The science of allelopathy**. New York: Jonh Wiley & Sons. P. 171-188.
- FERREIRA, A.G., AQÜILA, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de fisiologia Vegetal**, Campinas, 12:175-204. Edição especial.
- FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. 2004. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 323p.

- GATTI, A.B., PEREZ, S.C.J.G.A., LIMA, M.I.S. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia espernzae* O. Ktze na germinação e no crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasílica** 18(3):459-472.
- HOAGLAND, R.E. & WILLIAMS, R.D. 2004. Bioassays Vuseful tools for the study of allelopathy, pp. 315Y351, in F.A. Macias, J.C.G. Galindo, J.M.G. Molinillo, and H.G. Cutler (eds.). Allelopathy. Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals. CRC Press, Boca Raton.
- IGANCI, J.R.V., BOBROWSKI, V.L., HEIDEN, G., STEIN, V.C., ROCHA, B.H.G. 2006. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico e *Allim cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, 73(1):79-82.
- INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. 1995. On laboratory bioassays in alellopathy. **The Botanical Rewiew**, 61(1):28-44.
- KRAUS, J.E., ARDUIN, M. 1997. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**, Editora Universidade Rural, Rio de Janeiro. 198p.
- LEE, T.T. 1980. Effects of phenolic substances on metabolism of exogenous indole-3-acetic acid in maize stems. **Physiology Plantarum**, 50(2):107-112.
- LEE, T.T., STARRATT, A.N., JEVNIKAR, J.J. 1982. Regulation of enzymic oxidation of indol-3-acetic acid by phenols: structure-activity relationships. **Phytochemistry**, 21(3):517-523.
- MARASCHIN-SILVA, F., AQÜILA, M.E.A., 2005. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Acta Botânica Brasílica**, 20(1):61-69.
- MARASCHIN-SILVA, F., AQÜILA, M.E.A., 2006. Potencial alelopático de *Dodoneae viscosa* (L.) Jacq. **IHERINGIA**, Série Botânica, 60(1):91-98.
- MIRÓ, C.P., FERREIRA, A.G. & AQÜILA, M.E.A. 1998. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 33(8):1261-1270.

- NISHIMURA, H., MIZUTANI, J. 1995. Identification of allelochemicals in *Eucalyptus citriodora* and *Polygonum sachalinense*. In INDERJIT & DAKSIHINI, K.M.M., EINHELLIG, F.A. (Ed.) **Allelopathy– organisms, processes and applications**. Washington: American Chemical Society, p.74-85.
- PERES, M.T.L.P., SILVA, L.B., FACCENDA, O., HESS, S.C. 2004. Potencial alelopático de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta Botânica Brasileira**,18(4):723-730.
- 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 Botânica Brasileira** 18(3):425-430.
- PIRES, N.M. & OLIVEIRA, V.R. 2001. Alelopatia. p.145-185. In: R.S. OLIVEIRA JR. & J. CONSTANTIN. **Plantas daninhas e seu manejo** (cords.). Agropecuária. Guaíba.
- PIRES, N.M., SOUZA, I.R.P., PRATES, H.T., FARIA, T.C.L., FILHO, I.A.P., MAGALHÃES, P.C. 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 13(1):55-65.
- PRATES, H.T., PAES, J.M.V., PIRES, N.M., PEREIRA, I.A., MAGALHÃES, P.C. 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35(1):909-914.
- RAY, S.D., GURUPRASAD, K.N., LALORAYA, M.M. 1980. Antagonistic action of phenolic compounds on abscisic acid- induced inhibition of hypocotyls growth. **Journal of Experimental Botany**, 31(125):1651-1656.
- REIGOSA, M. J., SÁNCHEZ-MOREIRAS, A., GONZÁLES, L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Science**, 18(5):577-608.
- RICE, E.L. 1984. **Allelopathy**. 2.ed. New York: Academic Press. 422 p.
- RIZVI, S.J.H. *et al.* 1992. A discipline called allelopathy. In RIZVI, S.J.H., RIZVI, V. (Ed.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. 480p.

SOUZA FILHO, A.P.S. & ALVES, S.M. 2002. Mecanismos de Ação de Agentes alelopáticos. In: Alelopatia, Princípios básicos e aspectos gerais. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. 260p.

SOUZA, S.A.M., STEIN, V.C., CATTELAN, L.V., BOBROWSKI, V.L., ROCHA, B.H.G. 2005. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para a avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 5(1):3-9.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o fenômeno da alelopatia seja conhecido desde 370 d.C. (Willis 1997) e o avanço desse conhecimento tenha mostrado aplicações na agricultura, silvicultura e manejo de ecossistemas aquáticos e terrestres, o seu uso na agricultura e manejo ambiental é ainda muito restrito.

A idéia da alelopatia como um fenômeno ecológico estruturador das comunidades vegetais é mais recente. O tipo, frequência e intensidade do distúrbio pela interação com as plantas, estratégias de regeneração e propriedades alelopáticas podem direcionar a sucessão que se segue ao distúrbio. Por exemplo, a remoção das copas das árvores pelo raleamento e pelo fogo podem estimular certas espécies de Ericaceae com propriedades alelopáticas impedindo a regeneração por espécies arbóreas, transformando as florestas em um campo de ericáceas (Mallik, 2003). Zackrisson *et al.* (1996) publicaram alguns dados que mostram que os fogos naturais desempenham uma função ecológica importante na manutenção das florestas de coníferas no norte da Suíça pela diminuição da competição e alelopatia de *Empetrum hermaphroditum* (Ericaceae), pela absorção dos aleloquímicos (Batatasin III) no carvão, removendo o húmus rico em fenóis pela combustão e criando um substrato favorável para as sementes de coníferas germinarem. A supressão do fogo natural e o raleamento da vegetação, por outro lado, restauram o crescimento das ericáceas que inibem a germinação das sementes de árvores.

Na presença de compostos fenólicos, íons metálicos como Fe, Al, Ca, Zn, Mn, etc. precipitam no horizonte inferior e formam camadas muito rígidas, alterando a relação solo-planta-água (Inderjit & Mallik 1996).

Wardle *et al.* (1998) mostraram nos pastos da Nova Zelândia dominados por *Lolium perene* e *Trifolium repens* (fixadora de nitrogênio) a ação alelopática de *Cardus nutans*. As folhas suculentas desta espécie se decompõem rapidamente promovendo efeitos alelopáticos sobre *T. repens* deslocando-o da área. A nodulação e a fixação de nitrogênio é fortemente inibida pela decomposição das folhas de *C. nutans* deixando o local relativamente pobre em nutrientes, quando comparado com uma área adjacente. Os mesmos autores sugeriram que a inibição da fixação de

nitrogênio na presença da decomposição das folhas de *Cardus nutans* pode levar a um declínio de nitrogênio por um bom tempo, nessa pastagem.

No caso dos cerrados brasileiros, a presença de gramíneas africanas é praticamente certa, em qualquer área, especialmente nas unidades de conservação. Alguns estudos realizados em unidades de conservação, no estado de São Paulo, antevêm prováveis efeitos competitivos entre *Melinis minutiflora* e *Brachiaria decumbens* com as herbáceas nativas, oferecendo perigo de exclusão das espécies nativas pelas espécies exóticas (Pivello *et al.* 1999 a, 1999 b).

No entanto, o estudo dessas invasoras do cerrado é extremamente complexo, porque envolve não só a sua influência sobre a germinação das sementes e o recrutamento de plântulas das espécies nativas, mas a sobrevivência destas, que está relacionada com outros fatores além daqueles derivados da ação alelopática, como a predação; a competição; a ação de microrganismos do solo, modificando a composição dos exsudados das espécies invasoras etc. Por este motivo, a maioria dos estudos são inicialmente conduzidos no laboratório, onde é possível isolar os fatores mais estritamente ligados às propriedades alelopáticas, controlando-se a temperatura, a luminosidade, quebrando-se a dormência das sementes. É indispensável também conhecer a composição química da planta doadora de aleloquímicos.

De posse de um conjunto de dados de várias fontes é possível se desenhar uma metodologia que reflita as condições ambientais de forma a chegar o mais próximo possível da realidade (Inderjit & Callaway 2003). Os estudos de alelopatia necessitam da colaboração de várias áreas da ciência (Vivanco *et al.* 2004). Para determinarmos em que medida a invasão do cerrado por gramíneas exóticas interfere no seu processo de regeneração natural é necessário conhecer melhor a interferência de fatores como: competição, fogo natural (que ocorre predominantemente na estação chuvosa), as diversas ações antrópicas; além dos processos alelopáticos (modo de liberação dos aleloquímicos) (lixiviação, evaporação, exudação), absorção pelas membranas das espécies receptoras, transformação das substâncias no solo (por microrganismos, adsorção, reação com elementos do solo, etc), que desenham a distribuição das espécies neste ambiente.

Os dados de laboratório apresentados neste trabalho nos indicam que:

Dalbergia miscolobium (árvore típica do cerrado) não tem a sua germinação influenciada pelos extratos aquosos brutos foliares de *B. decumbens* e *M. minutiflora*. No entanto, o seu desenvolvimento inicial foi sensível aos efeitos alelopáticos dos extratos de *B. decumbens* (coletada na estação seca) e de *M. minutiflora* (coletada na estação chuvosa).

Os exsudados das sementes de *D. miscolobium* possuem forte potencial alelopático em relação à *Lactuca sativa* (espécie bioindicadora) inibindo a sua germinação e o seu desenvolvimento inicial, fato que sugere uma vantagem adaptativa dessa árvore do cerrado que facilitaria o seu crescimento inicial e estabelecimento, e que justificaria sua presença freqüente no cerrado.

REFERÊNCIAS

- INDERJIT & CALLAWAY, R.M. 2003. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and Soil**, 256: 1-11.
- INDERJIT & MALLIK, A.U. 1996. The nature of interference potential of *Kalmia angustifolia*. **Canadian Journal of Forest Research** 26: 1899-1904.
- MALLIK, A.U. 2003. Conifer regeneration problems in boreal and temperate forests with ericaceous understorey: Role of disturbance, seedbed limitation and keystone species change. **Critical Reviews in Plant Sciences** 22: 341-366.
- PIVELLO, V.R., CARVALHO, V.M.C., LOPES, P.F., PECCININI, A.A., ROSSO, S. 1999 a. Abundance and distribution of native and invasive alien grasses in a cerrado (Brazilian savanna) biological reserve. **Biotropica**, 31:71-82.
- PIVELLO, V.R., SHIDA, C.N., MEIRELLES, S.T. 1999 b. Alien grasses in Brazilian savannas: a threat to biodiversity. **Biodiversity & Conservation**, 8:1281-1294.
- VIVANCO, J.M. BAIS H.P, STERMITZ, T.R, THELEN G.C & CALLAWAY R.M. 2004. Biochemical variation in community response to root allelochemistry: novel weapons and exotic invasion. **Ecology Letters**, 7: 285-292.
- WARDLE, D.A., NILSSON, M.C., GALLET, C. & ZACKRISSON, O. 1998. An ecosystem-level perspective of Allelopathy. **Biological Review**, 73: 305-319.
- WILLIS, R.J. 1997. The history of Allelopathy 2. The second phase (1900-1920). The era of S.U. Pickering and the USDA Bureau of Soils. **Allelopathy Journal**, 4: 7-56.
- ZACKRISSON, O., NILSSON, M-C & WARDLE D.A. 1996. Key ecological function of charcoal from wildfire in the boreal forest. **Oikos** 7, 10-19.