

ASPECTOS METODOLÓGICOS NA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE CAPIM-ANNONI (*Eragrostis plana* Nees)

FIORENTIN, F. J. R. (FAMV – UPF, Passo Fundo/RS – francis.fiorentin@bol.com.br), FAVARETTO, A. (PPGAgro – UPF, Passo Fundo/RS – adriana_f37@hotmail.com), SCHEFFER-BASSO, S. M. (PPGAgro – UPF, Passo Fundo/RS – sbasso@upf.br), CHINI, S. O. (PPGAgro – UPF, Passo Fundo/RS – sissichini@hotmail.com), RIZZARDI, M. A. (PPGAgro – UPF, Passo Fundo /RS – rizzardi@upf.br)

RESUMO: A metodologia para a preparação de extratos utilizados em bioensaios para a verificação da atividade alelopática das plantas ainda carece de padronização. Este trabalho testou a influência do estágio fenológico (vegetativo ou florescimento) e o método de preparo de extratos aquosos de capim-annoni (com ou sem secagem do material vegetal) sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas de trevo-branco. Para isso desenvolveu-se um bioensaio que testou quatro tipos de extratos aquosos, resultantes da combinação do estágio fenológico (vegetativo, V; florescimento pleno, FL) em que as plantas foram colhidas e do preparo do material colhido (fresco, FR; seco, S), em inteiramente casualizado, com quatro repetições. O estágio fenológico das plantas e o método de preparo dos extratos de capim-annoni influenciaram o índice de velocidade de germinação (IVG), o comprimento da raiz e parte aérea de plântulas e a germinabilidade de trevo-branco, sendo este último o parâmetro de maior contribuição para a divergência entre os tratamentos demonstrando sua importância em estudos alelopáticos. Além disso, a maior atividade alelopática foi observada em extratos de plantas colhidas em estágio vegetativo e com secagem do material vegetal, o que mostra a importância de se considerar o período de colheita e o método de processamento para o preparo de extratos na formulação de protocolos para estudos alelopáticos.

Palavras-chave: Alelopatia, bioensaios.

INTRODUÇÃO

A alelopatia, como ciência, ainda está nos primórdios da sua existência, com longo caminho a ser percorrido para a sua consolidação definitiva (SOUZA FILHO et al., 2010). Avaliações da atividade alelopática de plantas são comumente realizadas por meio de bioensaios. No entanto, são escassas as publicações que buscam padronizar os procedimentos experimentais nesse tipo de trabalho (MACÍAS et al., 2000). Inderjit & Dakshin (1995) destacam inúmeros cuidados para que os bioensaios dessa natureza reduzam as diferenças entre os resultados laboratoriais e o que ocorre na natureza. A

obtenção de extratos mediante distintos métodos de preparação podem resultar em diferentes respostas, o que remete à necessidade da elaboração de protocolos eficientes e reproduzíveis, que possam ser empregados rotineiramente em laboratórios que trabalhem com efeitos de substâncias alelopáticas, a fim de aperfeiçoar as condições em que os testes são realizados (SIMÕES et al., 2013).

A toxicidade dos aleloquímicos pode variar em função da concentração, idade e estágio fenológico da planta, clima, estação do ano e componentes químicos, físicos e microbiológicos do solo (GNIAZDOWSKA & BOGATEK, 2005). Normalmente, a influência dos fatores bióticos e abióticos sobre a concentração de aleloquímicos nas plantas não é levada em consideração durante o processo de elaboração dos extratos. Os extratos podem ser feitos com material vegetal fresco ou seco, colhidos em distintos estádios fenológicos (vegetativo ou florescimento) e ainda utilizando-se de distintos meios extrativos como água e solventes. Isso ressalta a necessidade de uniformizar os procedimentos experimentais de ensaios em alelopatia, visando melhorar a compreensão dos resultados obtidos em estudos desta natureza.

A alelopatia é apontada como uma das razões da elevada infestação do capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) em ecossistemas. Esta espécie é a principal invasora das pastagens naturais do sul do Brasil, causando prejuízos à pecuária do Estado e danos irrecuperáveis à biodiversidade. Este trabalho teve como objetivo testar a influência do estágio fenológico (vegetativo/florescimento) e o método de preparo de extratos aquosos de capim-annoni (com ou sem secagem do material vegetal) sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas de trevo-branco (*Trifolium repens*).

MATERIAL E MÉTODOS

O bioensaio testou quatro tipos de extratos aquosos, resultantes da combinação do estágio fenológico (vegetativo, V; florescimento pleno, FL) em que as plantas foram colhidas e do preparo do material colhido (fresco, FR; seco, S), utilizando-se água destilada como tratamento-controle. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Em ambos os estádios fenológicos em que foi feita a colheita da parte aérea das plantas de capim-annoni foi realizada a determinação da composição botânica, em que o material oriundo de plantas em estágio vegetativo era composto apenas por folhas, ao passo que aquele obtido em plantas florescidas possuía proporções distintas de folhas (95%), colmos (3%) e inflorescências (2%). Em ambos os estádios fenológicos, imediatamente após a colheita, metade do material era colocado em estufa de ar forçado a 40°C durante 72 horas e a outra metade era imediatamente utilizada para a elaboração do extrato. Tanto o material fresco, como o material seco permaneceram imersos em água destilada durante 24 horas, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A concentração

utilizada foi de 0,15 g de material vegetal.mL⁻¹, utilizando-se o método de maceração estática. As unidades experimentais foram caixas gerbox contendo papel Germitest umedecido inicialmente com 5 mL do extrato ou do tratamento controle. Em cada caixa foram dispostas de forma equidistante, cinquenta (50) sementes de trevo-branco. As caixas permaneceram em câmara de germinação à 20°C e fotoperíodo de 12 horas durante quinze dias. A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente durante dez dias. A partir da quantificação da germinação foram estimadas a germinabilidade (G), tempo médio de germinação (TMG) e o índice de velocidade de germinação (IVG) (RANAL & SANTANA, 2006). Após quinze dias, cinco plântulas de cada tratamento foram avaliadas quanto ao comprimento da raiz e da parte aérea.

Os resultados foram submetidos à análise de variância para delineamento inteiramente casualizado seguida da comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de significância. Posteriormente foi realizada a análise multivariada mediante o cálculo da distância euclidiana média, contribuição relativa dos parâmetros para divergência entre os tratamentos. Finalmente foi gerado um dendrograma pelo método de Ward para ilustrar a dissimilaridade entre os tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas pelo Programa Genes (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Anova mostrou efeito significativo dos tratamentos sobre os parâmetros de germinabilidade, IVG, TMG e comprimento da raiz e parte aérea de plântulas de trevo-branco (Tabela 1). O TMG não foi influenciado significativamente pelos tratamentos.

Tabela 1. Germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), comprimento da raiz e parte aérea de plântulas de trevo-branco submetidas a extratos aquosos de capim-annoni colhido nos estádios vegetativo (V) e florescimento (FL), preparados com material fresco (FR) ou seco (S)

Parâmetros	V-FR	V-S	FL-FR	FL-S	Controle
Germinabilidade (%)	33,5 B	3,5 D	87,0 A	17,5 C	94,2 A
IVG	11,1 C	0,5 D	18,9 B	2,0 D	28,9 A
Raiz (mm)	2,9 B	0,0 B	7,6 A	2,7 B	10,2 A
Parte aérea (mm)	5,1 B	0,0 C	9,9 A	6,8 AB	11,0 A
TMG	2,5 A	3,2 A	3,2 A	4,8 A	2,2 A

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de Duncan (P>0,01).

Para germinabilidade, comprimento da raiz e parte aérea, o extrato preparado com material colhido no florescimento e sem secagem prévia à maceração (FL-FR) não diferiu do controle, indicando ausência de heterotoxicidade. Efeito contrário foi observado para o extrato preparado com material colhido no estágio vegetativo e seco em estufa (V-S).

Destaca-se que, tanto para o material colhido no estágio vegetativo como aquele colhido no florescimento, a secagem do material afetou drasticamente a germinação e o IVG. Esse mesmo efeito foi observado por Peron et al. (2011) com extratos de tabaco (*Nicotiana tabaccum*) em soja (*Glycine max*). Portanto, o processamento do material vegetal para a formulação de extratos é um aspecto importante a ser considerado na formulação de protocolos para estudos alelopáticos.

Já, a maior atividade alelopática do material colhido no estágio vegetativo pode estar relacionada ao fato de este ser composto apenas por folhas, que, sendo o órgão da planta mais ativo metabolicamente, apresenta maior diversidade de aleloquímicos e, conseqüentemente, maior efeito alelopático (RIBEIRO et al., 2009). Em estudo de Favaretto (2014) foi verificado que as folhas de capim-annoni possuem maior quantidade dos aleloquímicos catequina, epicatequina, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido vanílico em relação às raízes.

Embora o material proveniente do florescimento foi constituído em sua maioria por folhas (95%), deve-se considerar que a toxicidade dos aleloquímicos pode variar, dentre outros fatores, com o estágio fenológico da planta (GNIASZDOWSKA & BOGATEK, 2005). Há que se considerar a possibilidade de que em estádios mais avançados do desenvolvimento da planta ocorra a redução dos aleloquímicos nas folhas. A fim de comprovar esta hipótese, é necessária a análise fitoquímica dos componentes do vegetal ao longo do seu desenvolvimento.

Pela análise multivariada, verificou-se que a germinabilidade foi o parâmetro que mais contribuiu para elucidar a divergência entre os tratamentos (Tabela 2), demonstrando sua importância em estudos alelopáticos. Os tratamentos mais divergentes, pela distância euclidiana média (d), foram o extrato de folhas colhidas no estágio vegetativo e submetidas à secagem (V-S) e o controle (d= 2,19), e os tratamentos com maior similaridade foram o extrato com material fresco colhido no estágio de florescimento (FL-FR) e o controle (d= 0,63).

Tabela 2. Contribuição relativa (CR) dos parâmetros de germinabilidade e crescimento inicial de plântulas de trevo-branco para divergência entre os tratamentos

Parâmetro	CR (%)
IVG	7,56
TMG	0,05
Germinabilidade	90,46
Comprimento de raiz	0,90
Comprimento da parte aérea	1,02

CONCLUSÕES

O potencial alelopático dos extratos de capim-annoni é influenciado pelas diferentes metodologias de preparo. Extrato preparado com material seco em estufa e composto somente por folhas, colhidas de plantas em estágio vegetativo, mostra maior atividade alelopática em relação ao extrato elaborado com material fresco e composto por mistura de folhas, colmos e inflorescências, obtido em plantas em estágio de florescimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ C. D. Programa Genes: análise multivariada e simulação, Editora UFV: Viçosa, 2006. 175 p.
- FAVARETTO, A. Aspectos alelopáticos, fitoquímicos e anatômicos do capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees). 2014. 126 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.
- GNIAZDOWSKA, A.; BOGATEK, R. Allelopathic interactions between plants: Multisite action of allelochemicals. *Acta Physiology*, v.27, n.3, p.395-407, 2005.
- INDERJIT, A. U.; DAKSHINI, K. M. M. On laboratory bioassays in allelopathy. *The Botanical Review*, Lancaster, v. 61, n. 6, 1995.
- MACÍAS, F.A. et al. Search for a standart phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.48, n.6, p.2512-2521, 2000.
- PERON, F.; RODRIGUES, M. S. R.; BIDO, G. S.; LÚCIO, L. C. Inibição da germinação e crescimento de raízes de soja tratadas com extrato aquoso de tabaco. VIII EPCC – CESUMAR – Centro Universitário de Maringá. 2011. Disponível em: <http://www.cesumar.br/prppge>. Acesso em: 10 jul. 2014.
- RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. How and why to measure de germination process? *Revista Brasileira de Botânica*, v.29, n.1, p.1-11, 2006.
- RIBEIRO, J. P.; MATSUMOTO, R. S.; TADAO, L. K.; VOLTARELLI, V. M.; LIMA, M. I. S. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 32, n. 1, p.183-188, 2009.
- SIMÕES, M.S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. 2013.
- SOUZA FILHO, A.P.S. et al. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – Revisão crítica. *Planta Daninha*, v.28, n.3, p.689-697, 2010.