



UNIVERSIDADE ANHANGUERA – UNIDERP

DANIELE COELHO MARQUES

**EFEITOS ALELOPÁTICOS DO EXTRATO BRUTO DE *Brachiaria decumbens*
BRA001996 EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE *Corymbia citriodora***

CAMPO GRANDE – MS

2012

DANIELE COELHO MARQUES

**EFEITOS ALELOPÁTICOS DO EXTRATO BRUTO DE *Brachiaria decumbens*
BRA001996 EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE *Corymbia citriodora***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em nível de Mestrado Acadêmico em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade Anhanguera-Uniderp, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional.

Orientação:
Prof. Dr. Silvio Favero
Prof^a. Dr^a. Adriana Paula D'Agostini
Contreiras Rodrigues
Prof. Dr. Marcos Barbosa Ferreira

CAMPO GRANDE – MS

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Anhanguera – Uniderp

M316e Marques, Daniele Coelho.
Efeitos alelopáticos do extrato bruto de *Brachiaria decumbens*
BRA001996 em sementes e plântulas de *Corymbia citriodora*. /
Daniele Coelho Marques. -- Campo Grande, 2012.
29f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Anhanguera - Uniderp,
2012.
“Orientação: Prof. Dr. Silvio Favero; Profa. Dra. Adriana Paula
D’Agostini Contreiras Rodrigues; Prof. Dr. Marcos Barbosa Ferreira”.

1. Aleloquímicos 2. Metabólitos secundários 3. interferência entre
plantas I. Título.

CDD 21.ed. 633.2


FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidata: **Daniele Coelho Marques**

Dissertação defendida e aprovada em 29 de fevereiro de 2012 pela Banca Examinadora:



Prof. Doutor Silvio Favero (Orientador)
Doutor em Entomologia Agrícola



Prof. Doutora Valquíria Barbosa Nantes Ferreira (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul)
Doutora em Química



Prof. Doutor Valdemir Antônio Laura (Embrapa Gado de Corte)
Doutor em Fisiologia de Plantas Cultivadas



Prof. Dra. Adriana Paula D'Agostini Contreiras Rodrigues (Co-orientadora)
Prof. Dra. em Produção e Beneficiamento de Sementes

CHICO BENTO
em
Uma Pequena História do Sítio

"Eu inda alembro como si fosse hoje... eu tava caminhando pelo sítio! Como faço todos os dia! I pensando... Pruque a gente acha qui sabe di tudo! Mas eu quiria sabê... pru que que as pranta cresce mior, dispois do orvaio da noite? ...Pru que é qui as goiaba mais gostosa são as qui a gente cata do pé? É querê tê ixpricação pra tudo! Qué vê, intonce, quando eu oio pra dentro de casa? Oia a minha mãe, contente qui ela só! Ta sempre cum essa cara di filicidade... mermo cum todo esse serviço que ela tem qui dá conta! É por isso que tem coisa que eu num intendo! Pra mim, trabaio é trabaio! Quar é a graça im trabaiaí tanto i ficá contente? Pra mim, sê filiz é corrê pela mata, aqui atraiz di casa, subi no pé di gioaba, nadá no ribeirão, convidá os amigo pra pescá i acendê uma fogueira pra fica contando causo! Pra mim, sê filiz é isso mermo! Num tê trabaio ninhum!

Era ansim que eu tava naquele dia! Intê que eu vi uma coisa isquisita...dois moleques correndo! Eu num sabia o que tinha acontecido...mais disconfiei qui argo num tava certo! Daí eu arresorvi averiguá...precuri im todo canto...foi intonce que eu vi uma coisa...era azul! I tava ali, instirado no pé da jaboticababera!...Um passarinho! Foi aí qui eu intendi o qui aqueles moleque fizeram! Mas já era tarde! Pobrezinho do bichinho! Daí, mi bateu uma baita tristeza! Fiz um buraquinho na terra pra ponha o passarinho...i foi ali qui ele ficô! Eu já tava indo imhora, quando iscuitei outra coisa! Um baruió! Bem baixinho! Aí, eu oiei pra riba! Num podia sê vredade! O passarinho num era um passarinho...era uma passarinha...I mamãe! I agora? O qui ia sê desses fiotinhos? Sem a mãe, agora eles tavam abandonados! Si eles ficasse ali, iam morre de frio, o di fome, o iam direto pro bucho di arguma cobra! ...I daí, decidi! Eu é qui ia toma conta deles! Arrumei uma caixa di papelão lá no garpão... Enchi di paia di galinheiro... I acendi a luiz pra deixá o lugar bem quentinho! Só qui daí eu percebi qui eles num paravam di pia! Só pode sê fome! I foi assim! Naquele premero dia, eu truxe uma lata cheia di minhoca! I comero tudo como si fosse tão bõo quanto... bolo di fubá! Daí, vortei cum aquele veio cachecor di lâ qui a minha mãe tricoto quando eu era picutucho! Deu uma alegria danada só oiá eles drumi! Intonce, eu truxe os coitadinho pra dentro di casa! ... Só num sabia qui passarinho tinha tanta fome! I lá fui eu catá mais minhoca! Quanto mais eu cuidava dos fiotonho, mais eles cresciam! I mais eu mi aprochegava neles! Dava uma trabaiera dana... mais eu num mi importava! O que eu mais gostava era di vê eles crescendo! I insiná as coisa! I eu comecei a insiná bem divagarinho! Inguar a uma criança! Qui aprende a andá, falá... Não qui eu subesse avoá... mais eu sabia como insiná! I foi assim qui si assucedeu! Os passarinho avoaró! ... Pra, dispois, i pra longe! Bem longe! Naquele instante mi bateu uma tristeza! Vê os passarinho lá no horizonte... Mais, no fundo, meu coração tava feliz! Pruque eu fiz o que tinha qui fazê! I é aí qui ta a coisa isquisita... Quando eu mi alembro deles... mi alembro di todo o trabaião qui tive! Mais cum sodade! Di catá minhoca,,, protegê... insiná... querê o mior... Pruque isso é qui é o bõo na vida! I só assim eu intendi uma coisa... Qui trabaio num carece di sê só obrigação! Às veiz, pode inté dá cansera... Mais quando a gente gosta... i vem lá do fundo... Lá do coração... Num é trabaio! É dedicação!"

AGRADECIMENTOS

Convicta do motivo da minha existência, não poderia deixar de agradecer, em primeiro lugar, a Deus, que me permitiu a vida com sua graça, o percurso desse caminho brilhante, e a crença, sem dúvidas, que gozarei de muitas outras vitórias.

Defino o dia de hoje como o início de uma jornada que projeta uma trajetória de conquistas, o meio de uma longa estrada, o fim de um árduo caminho, e um marco de uma bela história. Assim não poderia deixar de expressar os meus mais sinceros agradecimentos a todos aqueles, que estiveram comigo nestes dois anos, que me ajudaram a crescer como pessoa e como profissional, me apoiaram e contribuíram para a realização deste trabalho, seja na amizade ou na labuta do dia a dia. Então...

Agradeço aos meus queridos orientadores, Prof^ª. Dr^ª. Adriana Paula D'Agostini Contreiras Rodrigues, Prof. Dr. Marcos Barbosa Ferreira e Prof. Dr. Silvio Fávero, pela excelente orientação, competência, ensinamentos, por provocarem em mim a segurança necessária para hoje estar aqui, e não podendo me esquecer da grande amizade solidificada.

À Universidade Anhanguera-Uniderp, pelo Programa de Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, pelo corpo de docentes empenhados no aperfeiçoamento dos alunos e que muito contribuíram com seus ensinamentos para minha vida. E à querida Alininha, pela presteza, simpatia e amizade.

Ao CNPq e a Capes pela concessão da Bolsa de Estudos do Mestrado, que permitiu a condução do presente estudo.

A banca de qualificação e defesa, Prof^ª. Dr^ª. Valquíria Barbosa Nantes Ferreira e Prof. Dr. Valdemir Antônio Laura, pelo apoio logístico e por suas valiosas argumentações e sugestões no trabalho.

À equipe dos laboratórios de Sementes da Anhanguera-Uniderp, de Fisiologia Vegetal da Embrapa Gado de Corte e de Química da UFMS, pela colaboração nos procedimentos dos trabalhos.

Ao Darlan e ao Leonardo pela ajuda na coleta a campo, cumplicidade na condução dos trabalhos e por me fazerem rir muito.

Aos meus grandes amigos e verdadeiros professores Fernando Cezar Bauer e Francisco de Assis Rolim Pereira que acreditaram em mim desde a graduação, me ingressando na pesquisa científica e dando início a essa caminhada.

Agradeço aos meus pais por me amarem incondicionalmente, por me darem educação, subsídio para formação de meu caráter e força de vontade para vencer os desafios, as dificuldades e seguir em frente. À minha irmã pelo apoio, por tudo que faz por mim e por toda sua abdicção só para me ver feliz. Aos meus avós, que eu não tenho nem palavras para agradecer a dedicação deles e para expressar como a vida não teria graça sem eles. A toda minha família, que por muitas vezes se transformaram para me ajudarem em alguma etapa do mestrado e por serem meu porto seguro... Obrigada é pouco!

Ao meu querido Leandro por toda sua paciência e compreensão comigo, pelas noites passadas em claro para me fazer companhia, por todo seu carinho e amor.

Aos meus amados amigos, que já conheciam e os que eu tive a oportunidade de conhecer durante o mestrado, obrigada pelo incentivo, por não me deixarem desistir em momentos de exaustão, por dividirem os momentos de alegrias, angustias, dificuldades.

A todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente na conclusão desse trabalho, pois sem vocês seria muito mais difícil... então de todo o meu coração, Muito Obrigada mesmooooo!!!!

“...Se Deus quiser um dia eu viro
semente.

E quando a chuva molhar o jardim,
ah, eu fico contente

E na primavera vou brotar na terra.

E tomar banho de sol...”

Baila comigo - Rita Lee.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	06
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
4 CONCLUSÕES.....	20
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

RESUMO

EFEITOS ALELOPÁTICOS DO EXTRATO BRUTO DE *Brachiaria decumbens* BRA001996 EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE *Corymbia citriodora*

O sistema silvipastoril é uma alternativa sustentável para o uso da terra, onde há a integração de pastagem, floresta e animais herbívoros, porém, é necessário o conhecimento da interação entre estes três elementos do sistema, para condução adequada e eficiente do mesmo. Sendo assim, no presente trabalho buscou-se identificar os possíveis efeitos alelopáticos produzidos pelo extrato bruto de um acesso da coleção de *Brachiaria* spp. da Embrapa Gado de Corte, denominado *Brachiaria decumbens* BRA001996 (D70) na germinação, no vigor de sementes e no vigor de plântulas de *Corymbia citriodora*. As sementes foram semeadas em papel tipo mata-borrão, colocadas em gerbox e incubadas em câmara climática com fotoperíodo controlado. Utilizaram-se quatro repetições de 100 sementes para os testes de germinação e vigor, e 25 sementes para o teste de vigor de plântulas. O extrato bruto foi obtido das folhas da gramínea, por meio de técnica laboratorial utilizada para detecção e quantificação da avaliação de protodiocinas (saponinas esteroidais). Os tratamentos foram realizados com aplicação de concentrações crescentes do referido extrato (12,5, 25, 50 e 100mg/100 mL), tendo duas testemunhas (água e água acrescida de 1% DMSO). Observou-se efeito “concentração-resposta” inibitório significativo em todas as variáveis avaliadas. Sabendo que os metabólitos secundários de uma planta interferem nos diferentes processos fisiológicos de uma outra planta, estimulando ou inibindo o seu metabolismo celular, sugere-se que os efeitos alelopáticos observados no presente trabalho possam estar relacionados ao efeito direto das saponinas esteroidais nas células das sementes e das plântulas de *Corymbia citriodora*, uma vez que o extrato bruto de *Brachiaria decumbens* BR001996 reduziu o vigor e a germinação das sementes, bem como o vigor das plântulas de *Corymbia citriodora*.

Palavras chave: Aleloquímicos, metabólitos secundários, interferência entre plantas.

ABSTRACT

ALLELOPATHIC EFFECTS OF *Brachiaria decumbens* BRA001996 CRUDE EXTRACT IN SEEDS AND SEEDLINGS OF *Corymbia Citriodora*

The Silvopastoral system is a sustainable alternative to the use of land, with integration among grassland, forest and herbivorous, there are necessity to better understand the interactions among these three parts to have an appropriate and effective maneuver of them. In the present work it was studied the possible allelopathic effects produced by the crude extract of an access of *Brachiaria* spp. collection from Embrapa Beef Cattle, called *Brachiaria decumbens* BRA001996 (D70) in the seed germination and vigor and also seedling vigor of *Corymbia citriodora*. Seeds were sown on blotting paper, placed in gerbox and incubated in a climatic chamber with controlled photoperiod. Were used four replications of 100 seeds for the tests of germination and vigor, and 25 seeds testing the seedling vigor. The leaves' crude extract of *B. decumbens* BRA001996 was obtained by laboratory techniques used for detection and quantification of protodioscin, a steroidal saponin. Experiments were conducted with the application of increasing concentrations of the extract (12.5%, 25%, 50% and 100%), having two control tests (water, or water plus 1% DMSO). It was observed the significant inhibitory ($P < 0.05$) concentration-response effect in all parameters evaluated. The secondary metabolites of a plant affect in different physiological processes of another plant stimulating or inhibiting cell metabolism. Allelopathic effects observed in this study could be related to the effect of steroidal saponins in the cells of seeds and seedlings of *Corymbia citriodora*.

Keywords: Allelochemicals, secondary metabolites, interference among plants.

1 INTRODUÇÃO

Os sistemas silvipastoris, como alternativa de uso da terra, devem seguir três princípios básicos de sustentabilidade, ou seja, devem ser economicamente viáveis, ambientalmente equilibrados e socialmente justos. Assim, os principais motivos para o produtor introduzir árvores em sua propriedade são: ser rentável, permitir a diversificação de renda e geração de empregos, ter finalidades protetoras e valor estético, caracterizado por associações de espécies florestais e animais herbívoros em pastagens cultivadas (CARVALHO *et al.*, 1995; MACEDO *et al.*, 2000; EMBRAPA, 2004).

Todavia, tanto as atividades pecuárias quanto florestais em áreas extensas, geram concentração de terra e necessitam de grande capital para investimento. Formas de uso da terra que agreguem retorno econômico a serviços ambientais estão sendo procuradas cada vez mais. A implantação de sistemas silvipastoris e agrossilvipastoris atendem a estes requisitos ao integrar a atividade florestal e pecuária (MACEDO *et al.*, 2000).

Considerando as características ambientais do Cerrado em Mato Grosso do Sul, as braquiárias são as gramíneas mais cultivadas e, atualmente nesta região, a integração mais utilizada nos sistemas silvipastoris é o consórcio de *Brachiaria decumbens* com espécies de eucalipto (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

O gênero *Eucalyptus* foi descrito em 1788 por L'Heeretier de Brutelle, contava com mais de 500 espécies, porém depois de um profundo estudo realizado pelos botânicos australianos, Ken Hill e Lawrie Johnson, notou-se a necessidade de reclassificar o gênero, onde baseados em características morfológicas e moleculares, uniram as espécies chamadas de "bloodwood" e "ghost gums", formando com estas em 1995 um novo gênero denominado *Corymbia*. Ainda, considerando as semelhanças existentes entre os gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, Hill e Johnson, propõem que os gêneros sejam referidos comumente como "eucaliptos". Dentre as espécies do gênero *Corymbia* uma das mais difundidas no

Brasil é *Corymbia citriodora*, porém popularmente chamada de Eucalipto citriodora ou de cheiro (COLTURATO, 2009).

No Brasil ainda prevalecem plantios de *Corymbia citriodora* com mudas formadas por sementes para a obtenção de madeira para diversos fins como a indústria moveleira, construção civil (escoras) e energia, que é o caso do carvão (STAPE *et al.* 2001). Além das pastagens, grandes áreas no cerrado também são dispensadas para a cultura do eucalipto, espécie florestal que possivelmente deverá suprir a demanda de madeira cada vez maior (SILVA, 2002; SBS, 2005).

O eucalipto foi introduzido no Brasil em 1904, e para o plantio de florestas são usadas mudas de eucalipto obtidas por sementes e/ou por clonagem (REZENDE, 1981; AGUIAR, 1986). Porém, como qualquer população natural, estão sujeitas a uma série de fatores ecológicos, abióticos e bióticos, que direta ou indiretamente, podem influenciar no seu crescimento (PITELLI e MARCHI, 1991).

As braquiárias são gramíneas pertencentes ao gênero *Brachiaria* spp, à família Poaceae e à sub-família Panicoideae (RUGGIERI e REIS, 2006). Nativas da África são compostas por aproximadamente 200 espécies, que podem ser encontradas na Europa, África, Ásia, América do Norte e América do Sul (RUGGIERI e REIS, 2006).

Essas gramíneas foram introduzidas no Brasil como forrageiras, adaptando-se muito bem no bioma Cerrado, suportando facilmente as situações de estresse, solos ácidos e de baixa fertilidade, revelando possuírem maior capacidade para explorar os fatores ambientais essenciais ao seu estabelecimento (SOUZA FILHO *et al.*, 1997). Principalmente por esses motivos, a *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, por exemplo, se tornou o capim mais importante na região do Cerrado, durante a década de 1970 (SOUSA SOBRINHO, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Neste sentido, o sucesso das braquiárias, pode estar associado, também, à capacidade produzir, estocar e liberar para o ambiente, substâncias químicas que são absorvidas pelas plantas cultivadas, refletindo de forma determinante no padrão e na densidade da comunidade (SOUZA FILHO *et al.*, 1997). Esta interferência é conhecida como alelopatia (SOARES, 2000).

Assim, com o crescente interesse no estabelecimento de sistemas silvipastoris, a avaliação do desenvolvimento de espécies lenhosas na presença da *Brachiaria* spp. passa a ser importante uma vez que estudos sobre competição e

alelopátia podem orientar manejos para a introdução das árvores em pastagens (BOCCHESE *et al.*, 2007).

Desde a década de 1970 existem suspeitas de que a *Brachiaria decumbens* fosse uma gramínea forrageira com atividade alelopática. Assim, Chou e Young (1975) analisando a presença de fitotoxinas observaram que extratos aquosos das folhas da gramínea promoveram inibição da germinação de sementes e crescimento da raiz da alfaca.

A análise dos efeitos potencialmente alelopáticos da gramínea *Brachiaria decumbens* no crescimento inicial do eucalipto (*E. grandis*), indicou efeitos inibitórios no teor de clorofila, no crescimento e na área foliar (SOUZA *et al.*, 2003).

Na interação entre os indivíduos vegetais no espaço físico, há grande interferência entre os mesmos pela sobrevivência e estabelecimento, isso evidencia o motivo pelo qual algumas populações específicas desenvolveram mecanismos de defesa para suplantarem tais dificuldades (RAVEN *et al.*, 2001; RICKFLES, 2003; ALVES *et al.*, 2004).

No ambiente natural o tamanho das populações de indivíduos vegetais é regulado por fatores abióticos, tais como água, nutrientes, temperatura, luz etc. e fatores bióticos, podendo se citar a competição e alelopátia como forma de regulação do tamanho populacional (PINTO-COELHO, 2002; RICKLEFS, 2003; TOWNSEND *et al.*, 2006; BEGON *et al.*, 2007).

O termo alelopátia, foi proposto pelo fisiologista vegetal Hans Molish em 1937, com a união das palavras gregas *allelon* e *pathos* que significam mútuo e dano ou prejuízo, respectivamente (INDERJIT e DUKE, 2003).

Já Rice (1984) definiu a alelopátia como a capacidade dos vegetais superiores ou inferiores de produzirem substâncias químicas que, quando liberadas no ambiente, influenciam, de forma favorável ou desfavorável, o desenvolvimento de outros organismos. A definição dada por Rice é tão ampla que cobre quase todos os aspectos da ecologia química de plantas (INDERJIT e DUKE, 2003).

A Sociedade Internacional de Alelopátia, em 1996, definiu alelopátia como “qualquer processo envolvendo a produção de metabólitos secundários por plantas, algas, fungos e bactérias que influenciam o crescimento ou desenvolvimento de sistemas biológicos com efeitos positivos ou negativos” (TORRES *et al.*, 1996).

Weir *et al.* (2004) redefiniram o termo como a inibição química de uma espécie sobre a outra. Embora o termo alelopatia seja comumente usado para descrever a interação química entre duas plantas, atualmente tem sido usado também para descrever a comunicação química de microrganismo/microrganismo, planta/microrganismo e planta/inseto ou planta/herbívoro (WEIR *et al.*, 2004; DEMMUNER *et al.*, 2005).

Segundo Miller (1996), existe dois tipos de alelopatia: a autotoxicidade que ocorre quando há produção de substâncias tóxicas que inibem o próprio desenvolvimento e/ou de organismos da mesma espécie (HALL e HENDERLONG, 1989 *apud* Goldfarb, M. *et al.*, 2009) e a heterotoxicidade que ocorre quando substâncias fitotóxicas são liberadas pela lixiviação, exsudação e decomposição de resíduos de uma espécie sobre o desenvolvimento de outra espécie (WHITTAKER e FEENY, 1971 *apud* Goldfarb, M. *et al.*, 2009).

Os mecanismos citados acima se dividem nas células vegetais, em metabolismo primário, que é fundamental no desempenho das funções essenciais como fotossíntese, respiração e transporte de solutos (PERES, 2004), por isso possuem distribuição universal nas plantas, como por exemplo, aminoácidos, nucleotídeos, lipídios, carboidratos e a clorofila (LIMA, 2009). Já o metabolismo secundário é responsável pela adaptação e proteção da planta ao meio, onde produzem substâncias que, quando liberadas no ambiente, irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra espécie (RAVEN *et al.* 2001; RICKFLES, 2003; ALVES *et al.* 2004).

Quanto à natureza química, as substâncias alelopáticas são, em geral, compostos do metabolismo secundário (FERREIRA e ÁQUILA, 2000; TAIZ e ZEIGER, 2002). Em bioensaios, esses compostos já foram encontrados nas folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes de diversas espécies, mas as folhas e as raízes são as fontes mais importantes de aleloquímicos (FRIEDMAN, 1995; WESTON, 1996).

Nas plantas, as substâncias alelopáticas desempenham as mais diversas funções, como prevenção da decomposição das sementes, interferindo na sua dormência e também na das gemas e, além disso, influenciam nas relações com outras plantas (DURIGAN e ALMEIDA, 1993 *apud* Felix, R.A.Z., 2012).

Os efeitos de compostos potencialmente alelopáticos são pesquisados por meio de extratos aquosos e/ou alcoólicos derivados de plantas aplicados sobre outros vegetais (VERONKA *et al.*, 2011ab). Trabalhos nesse sentido revelaram que extratos aquosos das raízes, caules e folhas de arroz demonstram efeito alelopático em alface (*Lactuca sativa* L.) e *Heteranthera limosa* Vahl (EBANA *et al.*, 2001).

O efeito dos aleloquímicos é menos agressivo na germinação que no crescimento da plântula, porém sua quantificação experimental é muito mais simples, ocorrendo interferência destas substâncias principalmente na velocidade de germinação e na indução do aparecimento de plantas anormais, sendo a necrose da raiz um dos sintomas mais comuns, o que torna a avaliação da normalidade da plântula um instrumento valioso (FERREIRA e AQUILA, 2000).

O protocolo para Análise de Sementes, descrito em Brasil (2009), foi utilizado para avaliar os possíveis efeitos alelopáticos do extrato bruto de *Brachiaria decumbens* BR0001996 (CAVADA *et al.*, 2011a; VERONKA *et al.*, 2011a) e se mostrou como ferramenta adequada para o estudo de alelopatia em sementes e plântulas.

A utilização de sementes em bioensaios é excelente pelo motivo de haver rápidas mudanças fisiológicas no processo de germinação, acarretando na observação precoce de resultados da alta sensibilidade ao estresse (SALES *et al.*, 2009).

A germinação engloba eventos bioquímicos diversos e envolve a emergência de uma das partes do embrião para fora do envoltório da semente, demonstrando desta forma a atividade metabólica da semente (FERREIRA e BORGUETTI, 2004).

A partir destas evidências, neste trabalho buscou-se identificar os possíveis efeitos alelopáticos do extrato bruto de folhas de *Brachiaria decumbens* BRA001996 na germinação e no vigor de sementes, e no vigor de plântulas de *Corymbia citriodora*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Gado de Corte e no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Universidade Anhanguera-Uniderp, ambos localizados no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul (MS).

O experimento foi realizado com sementes de *Corymbia citriodora* e com o extrato bruto de plantas de *Brachiaria decumbens* BRA001996, que foi obtido conforme protocolo adaptado de extração, identificação e quantificação de protodiocinas (saponinas esteroidais) e seus isômeros em HPLC-ELSD, (HARAGUCHI *et al.*, 2003; BRUM *et al.*, 2004), adotado pelo laboratório de química de produtos naturais da Faculdade de Química da UFMS (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul), onde se desenvolvem trabalhos, inseridos em projetos de pesquisa, de quantificação de saponinas esteroidais nas folhas de *Brachiaria* spp.

No preparo dos extratos, utilizaram-se folhas de plantas adultas de *B. decumbens* BRA001996, coletadas manualmente no campo experimental da Embrapa Gado de Corte no verão, em março de 2011.

O material vegetal coletado foi previamente acondicionado em sacos de papel e seco em estufa por 72 horas a 60°C. Em seguida foi triturado em moinho de facas tipo Willey, utilizando-se peneiras mesh 20. O pó resultante foi armazenado em sacos plásticos, transportado e utilizado em menos de 12 horas.

Para a obtenção do extrato bruto da braquiária utilizou-se 100g do pó da planta seca em um béquer de 1000mL adicionando-se 400mL de uma solução composta por 50% de acetonitrila e 50% de água destilada e submetida a sonicação por 60 minutos, para certificação da extração das saponinas. Em seguida foi realizada a filtragem do material com o uso de filtro Millex® HV e transferida a parte líquida para um béquer de 1000mL. Em seguida, esta solução foi concentrada totalmente em rota-evaporador modelo 802 (Fisatom Equipamentos Científicos

Ltda.), a 40°C, sob pressão reduzida, para evaporação do solvente. Em seguida, o extrato foi transferido para placas de Petri e colocado em uma capela de exaustão com fluxo contínuo, até que toda a parte líquida restante evaporasse resultando somente o extrato seco. Após este procedimento, o extrato seco foi solubilizado em 99% de água destilada e 1% de dimetilsulfóxido (CH₃)₂SO, DMSO, que foi utilizado para auxiliar na solubilização do extrato seco, para obter-se a solução estoque 1mg/100mL (TRINDADE *et al.*, 2003). Em seguida foram realizadas as diluições para a obtenção de concentrações em progressão geométrica: 12,5; 25,0 50,0 e 100mg/100mL.

No experimento nº 1 utilizou-se quatro repetições de 100 sementes para avaliação da primeira contagem da germinação, teste padrão de germinação, plântulas anormais e sementes mortas. No experimento nº 2 utilizou-se quatro repetições de 100 sementes para avaliação de vigor de sementes (índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação), e no experimento nº 3 utilizou-se quatro repetições de 25 sementes para a análise de plântulas (comprimento da parte aérea e raiz seminal e biomassa fresca, seca e total). Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado para os três experimentos realizados simultaneamente.

Foram avaliadas duas testemunhas sendo uma somente com água destilada e outra com água destilada acrescida de 1% de DMSO e quatro concentrações: 12,5mg/100mL; 25,0mg/100mL; 50,0mg/100mL e 100,0mg/100mL, totalizando seis tratamentos. Para comparar o efeito da testemunha com água e da testemunha com água e 1% DMSO, estas foram submetidos, para análise estatística, ao teste multivariado de Hotelling (T²) para avaliar se havia diferença significativa entre as mesmas.

As sementes foram acondicionadas em gerbox sobre papel mata borrão e colocadas em um germinador em temperatura alternada de 15-35°C, sob fotoperíodo de 8 horas (BRASIL, 2009). Cada papel foi umedecido com as soluções experimentais na proporção de duas vezes e meia o seu peso totalizando 8mL.

As variáveis analisadas foram:

- **Porcentagem de germinação (%G):** As contagens para avaliar a germinação das sementes foram realizadas aos cinco e 14 dias, e foram

consideradas germinadas as sementes que originaram plântulas normais (BRASIL, 2009).

- **Primeira contagem do teste de germinação (%PCG):** A primeira contagem foi realizada aos cinco dias da instalação do experimento e consideradas germinadas as sementes que originaram plântulas normais (BRASIL, 2009).
- **Tempo médio de germinação (TMG):** As contagens foram realizadas diariamente, a partir do dia seguinte da instalação do experimento, sendo considerada germinada a semente com pelo menos 2,0mm de protrusão da raiz primária.

O tempo médio de germinação foi calculado de acordo com a fórmula apresentada por Labouriau (1983):

$$t = \frac{\sum n_i \cdot t_i}{\sum n} \text{ dias /semente}$$

Onde:

t = tempo médio de germinação (TMG);

ni = número de sementes germinadas num intervalo de tempo;

n = número total de sementes germinadas;

ti = dias de germinação.

- **Índice de velocidade de germinação (IVG):** As contagens foram realizadas diariamente, a partir do dia seguinte da instalação do experimento.

Para a determinação do índice de velocidade de germinação foi utilizada a fórmula de Maguire (1962), descrita a seguir:

$$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n \text{ onde:}$$

IVG = índice de velocidade de germinação

G1, G2, Gn = número de sementes germinadas computadas na primeira contagem, na segunda contagem e última contagem.

N1, N2, Nn = número de dias desde a semeadura até a primeira, segunda e última contagem.

- **Comprimento das raízes (CR) e Comprimento da parte aérea (CA):** Foram mensurados com o auxílio de uma régua o comprimento de raízes e da parte aérea aos 14 dias após a instalação do teste.

- **Biomassa fresca das raízes (BFR) e Biomassa fresca da parte aérea (BFA), Biomassa seca das raízes (BSR) e Biomassa seca da parte aérea (BSA) e Biomassa seca total (BST):** Foram feitas as pesagens em balança de precisão (0,001g) da BFR e BFA das plântulas que, em seguida foram identificadas e colocadas em estufa, com temperatura de 65°C (+/- 3 °C) por 72 horas, até atingir peso (em mg) constante, para a avaliação da BSR, BSA e BST (KRZYZANOWSKI *et al.*, 1999).

Os dados de sementes mortas foram submetidos à regressão logística (SPITZNAGEL, 2008) para determinação da estimativa da concentração que provocaria 50% de redução de germinação, da concentração inicial inibitória e concentração de inibição total (99%).

Após a determinação da concentração inibitória total submeteu-se os dados obtidos dos testes de plântulas mortas, sementes anormais, tempo médio de germinação e índice de velocidade de germinação, ao teste de t (5%) para comparação com a testemunha. Assim como os demais testes (teste padrão de germinação, primeira contagem do teste de germinação, comprimento de parte aérea e raiz e biomassa seca, fresca e total das plântulas).

Para a análise dos resultados foram utilizados os pacotes estatísticos MiniTab 16 e Bioestat 5.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as testemunhas, contendo água:DMSO (99:1) ou água 100% ($T^2=5,065$; $F=0,5627$; $p=0,72$), portanto, não interferindo na germinação das sementes ou no desenvolvimento das plântulas de *Corymbia citriodora* em nenhuma das avaliações realizadas (Fig.1). Assim, optou-se por utilizar água:DMSO (99:1) como controle dos testes, uma vez que a solução de *Brachiaria decumbens* BRA001996 contém, também, DMSO 1%. Estes resultados corroboram com Veronka *et al.*, (2011a, 2011b) quanto aos efeitos alelopáticos do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996 em sementes de três cultivares de *Brachiaria brizantha*.

O extrato utilizado revelou ter ação inibitória e/ou causar redução tanto na germinação das sementes como no crescimento das plântulas de forma concentração/resposta.

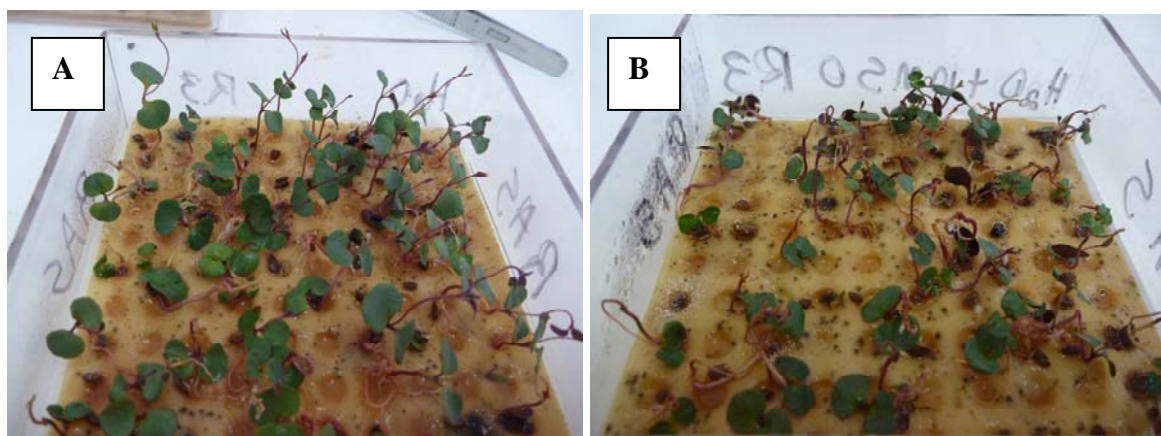


Figura 1 - Plântulas de *Corymbia citriodora*, onde a figura A corresponde a testemunha contendo apenas água 100% e a figura B corresponde a testemunha contendo água:DMSO (99:1).

Os testes de alelopatia descritos na literatura não levam em consideração os resultados em sementes como indicadores de efeitos inibitórios. Entretanto, os resultados aqui observados permitem sugerir que o protocolo da Regra de Análise

de Sementes - RAS (BRASIL, 2009) para germinação de sementes é uma ferramenta primária para este tipo de avaliação, em vista dos resultados provenientes da experimentação.

A mortalidade pode ser estimada pelo modelo $\text{logit} = -3.04 + 0.18 \text{ conc}$ sendo $\text{logit} = \left(\frac{\pi_i}{1 - \pi_i} \right)$, onde π_i é a proporção de sementes mortas (Fig.2), o modelo de regressão logística obtido, permitiu estimar qual a concentração mínima que causaria 99% de mortalidade de sementes. A concentração mínima estimada foi de 22,44mg/100mL. A concentração de 16,89mg/100mL leva a 50% de mortalidade de sementes. Sendo assim, qualquer concentração acima de 0,53mg/100mL já provoca morte de sementes, isso já levando em consideração a mortalidade natural, que é de 5,25%. Como a concentração mínima estimada foi 22,44mg/100ml os dados das concentrações acima destes valores não foram considerados para os demais testes.

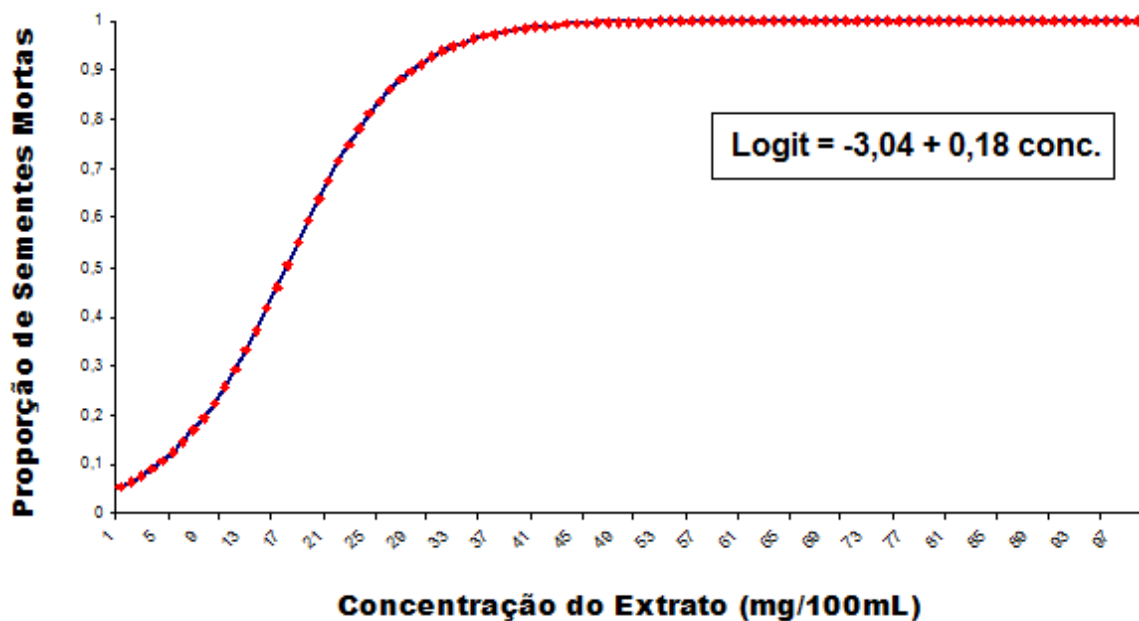


Figura 2 - Proporção de sementes mortas obtidas no teste de germinação, de *Corymbia citriodora* submetidas a diferentes concentrações do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996. Regressão Logística (Logit = -3,04 + 0,18 conc.).

Constata-se a ocorrência de sementes mortas ao apertar a semente e ela explodir e não estando firme. O grupo controle revelou não haver perdas, entretanto, à medida que se aumentou a concentração do extrato nos outros grupos

experimentais, o número de sementes mortas também aumentou e, a partir de 25mg/100mL, não houve mais germinação, havendo a morte da totalidade das sementes (Fig.3).

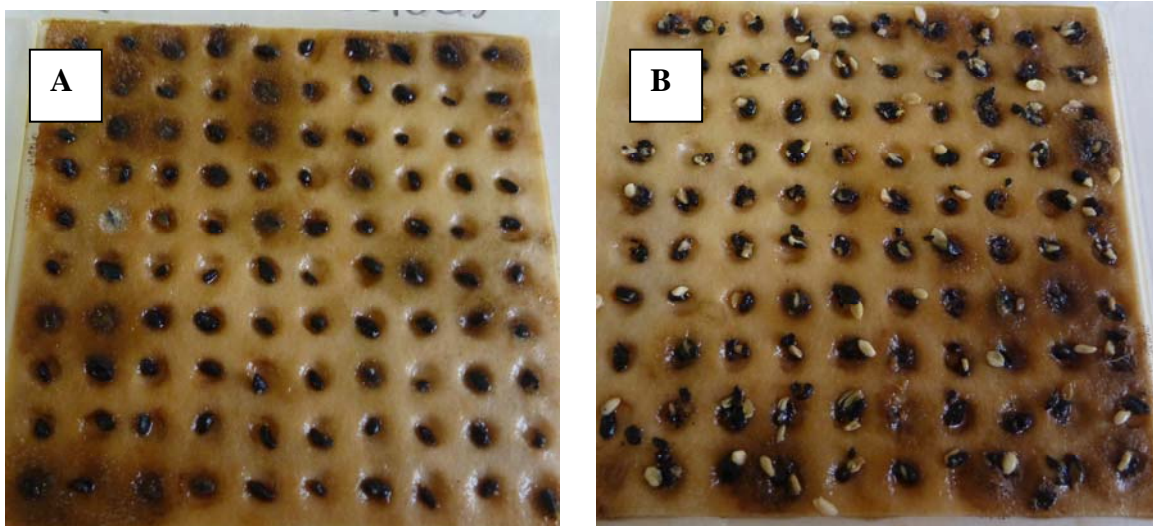


Figura 3 - Sementes mortas de *Corymbia citriodora*, onde a figura A corresponde ao estado das sementes submetidas a concentração 100% do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996 e a figura B corresponde as sementes mortas submetidas a concentração de 100% do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996.

Quando aleloquímicos são liberados no ambiente, podem causar alterações no metabolismo vegetal acarretando efeitos na germinação de sementes, no crescimento e/ou no desenvolvimento plântulas (SOUZA *et al.*, 2006). Assim, as soluções contendo 25, 50 e 100mg/100mL do extrato apresentaram maior atividade inibitória, ao passo que a solução de 12,5mg/100mL interferiu retardando significativamente ($p < 0,05$) no desenvolvimento das plântulas e na germinação das sementes.

Estes resultados corroboram os estudos anteriores de Veronka *et al.* (2011ab) que confirmaram as ações alelopáticas de extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* BRA001996 em sementes de *B. brizantha* cv. Xaraés, Piatã e Marandú. Além disso, outras plantas podem ter componentes alelopáticos em suas folhas conforme observado por Scherer *et al.* (2005) que desenvolveu estudo de efeito alelopático do extrato aquoso de folha de leucena (*Leucaena leucocephala* Wit.) na germinação e no crescimento de raízes da canafístula (*Peltophorum dubium*

Spreng.). Nesses dois casos também se observou efeito dose-dependente entre a concentração do extrato, e a porcentagem de germinação.

No teste padrão de germinação (Tab.1) observou-se efeito direto do extrato na inibição da germinação das sementes de *Corymbia citriodora*, havendo apenas protrusão da raiz seminal na testemunha (Fig.4) e na concentração de 12,5mg/100mL. De acordo com a afirmação de Veronka *et al.* (2011a), a definição de métodos pré estabelecidos para pesquisa com sementes permite o diagnóstico rápido, acessível e eficaz das ações de possíveis efeitos alelopáticos.

Quanto ao teste de primeira contagem da germinação (Tab.1) nota-se que quanto maior a concentração do extrato, a porcentagem de plântulas normais reduz significativamente, pois houve alta incidência de plantas anormais e sementes mortas.

Reduções na porcentagem de plântulas normais na primeira contagem da germinação também foram observadas em alface (*Lactuca sativa*) (CAVADA *et al.*, 2011a), quando estas foram tratadas com extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* BRA001996, variando a concentração de 0% a 50% do extrato. Portanto, os resultados do presente trabalho corroboram os estudos anteriores, demonstrando os efeitos retardatórios, da germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas, do extrato estudado.

Tabela 1. Resultados dos Testes de Primeira contagem de germinação (PCG), Padrão de germinação (G), Tempo médio de germinação (TMG) e Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Corymbia citriodora* submetidas a diferentes concentrações de extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996

Testes	n	Concentração ¹		t ²	p ³
		Testemunha	12,5mg/100mL		
PCG (%)	4	34±6,21	6,5±0,57	8,81	<0,0001
G (%)	4	94,75±0,95	69,75±1,21	31,62	<0,0001
TMG	4	3,93±0,15	5,14±0,10	-12,95	<0,0001
IVG	4	24,50±0,62	17,53±1,03	11,57	<0,0001

1/média e desvio padrão; 2/ estatística t bilateral e 3/ probabilidade.



Figura 4 - Sementes germinadas de *Corymbia citriodora*.

Em relação ao vigor das sementes de *Corymbia citriodora*, observou-se, no teste do tempo médio de germinação, o mesmo efeito concentração/resposta dos outros testes, assim, quanto menor a concentração do extrato, menos tempo as sementes levaram para germinar, porém quando submetidas à concentração 50 e 100mg/100mL houve inibição total da germinação (Tab.1).

Ainda ponderando sobre o vigor das sementes, ao analisar o teste índice de velocidade de germinação (Tab.1), nota-se que quanto menor o valor do índice da velocidade de germinação, menor a porcentagem de germinação média diária, mais significativos são os resultados do tratamento. Assim, obteve-se inibição total da germinação nas concentrações 50 e 100mg/100mL atrelado a esse resultado encontra-se nas mesmas concentrações o índice de velocidade de germinação zero.

No trabalho conduzido por Veronka *et al.* (2011a) foi observado que o extrato bruto de folhas de *Brachiaria decumbens* BRA001996 reduziu a velocidade e uniformidade da germinação das sementes de *Brachiaria brizantha*, quando se analisou o índice de velocidade de germinação. Portanto o presente trabalho corrobora os estudos daquele autor, demonstrando os efeitos alelopáticos do mesmo extrato, interferindo no vigor de sementes de *Corymbia citriodora*.

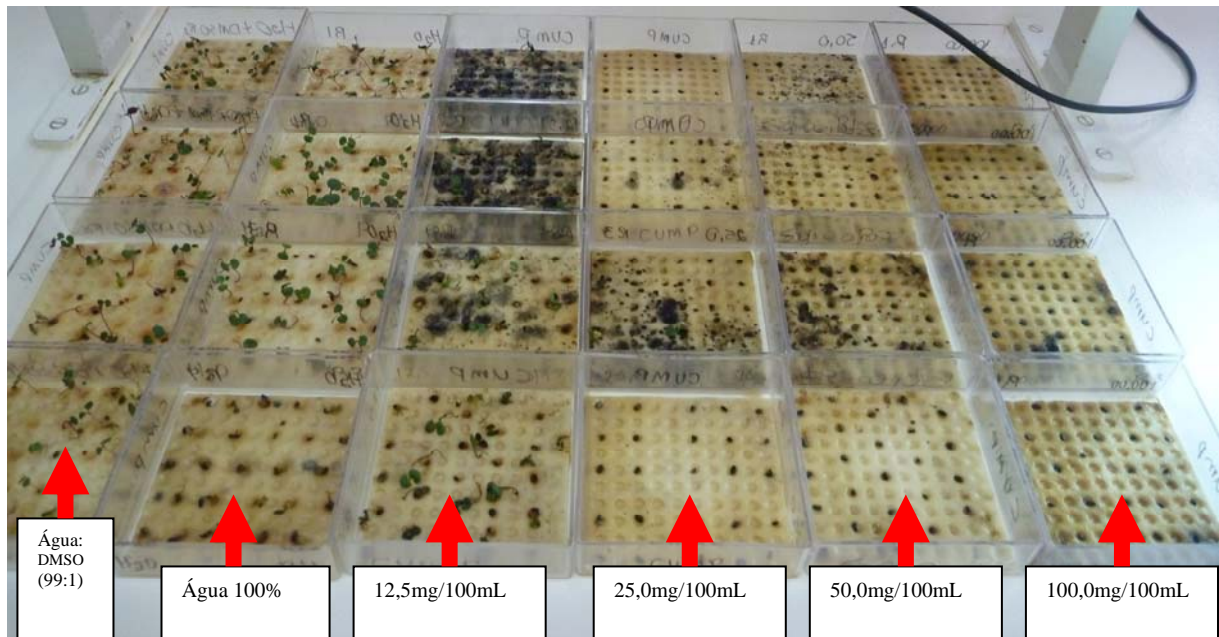


Figura 5. Experimento para o teste de vigor com sementes de *Corymbia citriodora* sob efeito de diferentes concentrações do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996, com todas as concentrações utilizadas e respectivas repetições.

O aumento da concentração e a subsequente inibição observada permitem sugerir que o extrato utilizado contém pelo menos uma substância que causa alteração fisiológica das sementes estudadas. Alterações no padrão de germinação podem resultar de efeitos sobre a permeabilidade de membranas, a transcrição e tradução do DNA; do funcionamento dos mensageiros secundário; da respiração, por sequestro de oxigênio (fenóis); da conformação de enzimas e de receptores ou, ainda, da combinação desses fatores (RIZVI *et al.*, 1992).

Em estudos que avaliam o efeito alelopático das plantas é importante que, além da identificação dos possíveis efeitos inibitórios em sementes, também sejam avaliadas ações nas plântulas, uma vez que podem existir efeitos em diferentes estágios de desenvolvimento dos vegetais (VERONKA *et al.*, 2011a). Dessa forma, além dos testes de vigor em sementes, foram utilizados testes de vigor em plântulas no presente trabalho.

As plântulas de *Corymbia citriodora* não conseguiram se desenvolver sob efeito das concentrações a partir de 25mg/100mL do extrato, diferentemente das sementes que suportaram concentrações maiores. Portanto, os resultados deste experimento corroboram as observações de Ferreira e Aquila (2000) que apontam os testes de germinação como sendo os menos sensíveis aos aleloquímicos do que

aqueles que avaliam o crescimento das plântulas, como por exemplo, comprimento da raiz ou parte aérea. Entretanto estes testes não podem ser negligenciados em estudos de alelopatia pelo fato de mostrarem, ainda que em concentrações maiores, que as sementes também respondem negativamente aos extratos avaliados.

As outras medidas de avaliação do vigor de plântulas (Tab.2), como o comprimento, a biomassa fresca, a biomassa seca e a biomassa total da raiz seminal e da parte aérea, foram significativamente ($p < 0,05$) afetadas pelo extrato, havendo redução destas medidas quando as plântulas foram submetidas à concentração de 12,5mg/100mL, não havendo germinação nas demais concentrações, acarretando na ausência de valores correspondentes ao desenvolvimento de raiz seminal e parte aérea.

Tabela 2. Resultados do comprimento da parte aérea (CA), do comprimento da raiz seminal (CR), da biomassa fresca da parte aérea (BFA), da biomassa fresca da raiz seminal (BFR), da biomassa seca da raiz seminal (BSR), da biomassa seca da parte aérea (BSA) e da biomassa seca total (BST), de plântulas de *Corymbia citriodora* submetidas a diferentes concentrações de extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996. São apresentadas as médias \pm desvios padrões

Testes	Testemunha (0 mg/ 100mL)	Concentração (12,5 mg/100 mL)
CA	2,16 \pm 0,35 ^A	1,68 \pm 0,13 ^B
CR	2,11 \pm 0,39 ^A	0,81 \pm 0,46 ^B
BFA	0,31 \pm 0,08 ^A	0,19 \pm 0,05 ^B
BFR	0,06 \pm 0,03 ^A	0,01 \pm 0,01 ^B
BSR	0,01 \pm 0,002 ^A	0,004 \pm 0,002 ^B
BSA	0,05 \pm 0,01 ^A	0,03 \pm 0,01 ^B
BST	0,07 \pm 0,01 ^A	0,04 \pm 0,01 ^B

Letras diferentes nas linhas diferem entre si significativamente, ANOVA ($p < 0,05$).

Com esta situação os valores de biomassa e comprimento ficaram restritos aos resultados do controle e da concentração 12,5mg/100mL (Fig.6).



Figura 6 - Parte aérea e raiz de plântulas normais de *Corymbia citriodora*.

Quanto ao registro de plântulas anormais (não desenvolveram raiz) observadas no teste de germinação, à medida que se aumentou a concentração, aumentou, também, o número de plântulas anormais, com o máximo de anormalidades identificadas na concentração de 25mg/100mL. Porém, a partir da concentração de 50mg/100mL não se observaram sementes germinadas, demonstrando a total inibição causada pelo extrato (Fig.7).

A incidência de plântulas anormais atingiu seu máximo entre as concentrações de 10 e 20%. Em estudo de alelopatia de saponinas na germinação e no vigor de sementes de alface, após tais concentrações houve uma queda no número de plântulas anormais devido à inibição da germinação ocasionada pelos extratos de 30 e 50%. O menor número de plântulas anormais foi encontrado na testemunha (CAVADA *et al.*, 2011a). A anormalidade em plântulas de alface também foi observada por Gatti *et al.* (2007) com o uso de extratos aquosos com concentração de 50 e 100mg/100mL quando realizada com raízes e na concentração de 100mg/100mL quando realizada somente com o caule de *Aristolochia esperanzae*.



Figura 7 - Parte aérea e raiz de plântulas anormais de *Corymbia citriodora* sob diferentes concentrações do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996.

Os autores Inderjit e Dakshini (1994), a partir da realização de bioensaio com uma espécie bioindicadora, afirmaram que a fase de germinação não é o processo mais importante para análise de intervenções alelopáticas. Porém, os resultados do presente trabalho confrontam tal afirmação, pois o protocolo seguido nos experimentos, usado anteriormente por Cavada *et al.* (2011ab) e Veronka *et al.* (2011ab), revelou-se ser uma ferramenta complementar, adicional, para a análise de alelopatia em diferentes etapas do desenvolvimento de sementes e plantas.

Os resultados do presente estudo sugerem que a interferência alelopática acontece desde o dia 4 da germinação. No entanto estes resultados são oriundos de experimentações *in vitro*, o que impede a extrapolação integral para experimentos realizados a campo.

O extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996 possui potencial alelopático em qualquer das concentrações testadas, sendo que quanto maior a concentração, maior o efeito negativo. Os efeitos das substâncias aleloquímicas nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são dependentes de sua concentração, inclusive podendo funcionar como estimuladores em baixas concentrações e como inibidores em altas concentrações (AN *et al.*, 1993; REIGOSA *et al.*, 1999). Em vista dos presentes resultados, há a necessidade de se investigar os efeitos de concentrações menores de 25mg/100mL do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996 com a intenção de se melhor conhecer os limites dos efeitos alelopáticos observados.

Em vista disso, cada processo fisiológico, como a germinação e/ou o crescimento, pode sofrer alterações específicas, como necrose e/ou atrofia da raiz e morte das sementes, dependentes da concentração de um ou mais aleloquímico em particular, como observado para as sementes e as plântulas no presente trabalho.

O extrato utilizado no presente trabalho possui a concentração média de 2,12% da saponina esteroideal protodioscina (BARBOSA-FERREIRA *et al.*, 2011). A alelopatia sobre sementes e plântulas de diferentes espécies, causada por extratos de *Brachiaria* spp. já foi relatada em estudos anteriores (SOUZA FILHO *et al.*, 2005; MELO *et al.*, 2008; VERONKA *et al.*, 2011ab). Os hormônios podem estimular ou inibir o metabolismo celular, sendo liberados em quantidades suficientes, podem causar efeitos na germinação de sementes, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas (CARVALHO, 1993), interferindo na

divisão celular, na permeabilidade das membranas, na ativação de enzimas e na produção de hormônios pela planta (GORLA e PEREZ, 1997).

Portanto, pode-se sugerir que os efeitos alelopáticos observados estejam relacionados ao efeito das saponinas esteroidais nas células das sementes e das plântulas das *Corymbia citriodora* utilizadas, conforme sugerido em trabalhos recentes (CAVADA *et al.*, 2011ab; VERONKA *et al.*, 2011ab).

Entretanto, há a necessidade de se estudar diretamente os compostos químicos encontrados no extrato utilizado, para que se possa afirmar se as saponinas são realmente as responsáveis pela alelopatia observada. Futuros experimentos envolvendo estudos diretamente ligados aos efeitos alelopáticos de saponinas em sementes e plântulas, poderão contribuir para o conhecimento acurado dos compostos secundários envolvidos na atividade alelopática do extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996 encontrada neste trabalho. Estudos em relação a esta questão estão sendo desenvolvidos pela equipe do presente trabalho atualmente.

4. CONCLUSÃO

O extrato bruto de *Brachiaria decumbens* BRA001996 tem efeito alelopático negativo na germinação e no vigor de sementes e no vigor de plântulas de *Corymbia citriodora*;

O protocolo da RAS, para germinação de sementes, mostrou-se ser uma ferramenta com valor significativo para avaliação de efeitos alelopáticos, não podendo ser ignorado para estudos desta natureza;

O extrato utilizado, nas concentrações testadas, contém uma ou mais substâncias que causam alteração fisiológica nas sementes de *Corymbia citriodora*;

A interferência alelopática do extrato bruto de *Brachiaria decumbens* BRA001996, *in vitro*, acontece desde o dia 4 da germinação em *Corymbia citriodora*;

O extrato de *Brachiaria decumbens* BRA001996 possui potencial alelopático em qualquer concentração, sendo que quanto maior a concentração, maior o efeito;

Sugere-se que os efeitos alelopáticos observados podem estar relacionados ao efeito das protodioxina (saponinas esteroidais) que tem uma concentração considerável na planta, em células das sementes e das plântulas de *Corymbia citriodora*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, O.J.R. **Métodos para controle das rachaduras de topo em toras de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, visando à produção de laminas por desenrolamento.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba: USP/ESALQ, 92 f. 1986.

ALVES, M.C.S.; FILHO, S.M.; INNECCO, R. & TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.39, n.11. 2004.

AN, M.; JOHNSON, I.R.; LOVETT, J.V. Mathematical Modeling Of Allelopathy: Biological Response To Allelochemicals And Its Interpretation. **Journal of Chemical Ecology**, v.19, n.10. 1993.

BARBOSA-FERREIRA, M.; BRUM, K. B. B.; OLIVEIRA, N. M. R.; VALLE, C. B.; FERREIRA, V. B. N.; GARCEZ, V. S. G.; RIET-CORREA, F.; LEMOS, R. A. A. de In: IX Congresso Brasileiro de Buiatria, 2011, Goiânia. **Anais** do IX Congresso Brasileiro de Buiatria -Veterinária e Zootecnia supl. 3. Botucatu, SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, v.18, p.98-103. 2011.

BEGON, M.; TOWNSEND, C.R.; HARPER, J. L. **Ecologia de Indivíduos e Ecossistemas.** Porto Alegre, Artimed. 2007.

BOCCHESI, R.A., MELOTTO, A.M., COSTA FILHO, C.C., FERNANDES, V., NICODEMO, M.L.F., LAURA, V.A. NOTA CIENTÍFICA: Avaliação da competição entre *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, espécies arbóreas nativas do Cerrado e

Eucalyptus citriodora. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 153-155, jul. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. – Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.

BRUM, K. B., HARAGUCHI, M., GARUTTI, M. B., NÓBREGA, F. N., ROSA, B. & FIORAVANTI, M. C. S. Análise semiquantitativa da saponina protodisocina do ciclo vegetativo de *Brachiaria*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v,24, Suplemento, p.13. 2004.

CARVALHO, M.M., FREITAS, V.P., ANDRADE, A. C. Crescimento inicial de cinco gramíneas tropicais em um subbosque de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* Benth.). **Pasturas Tropicais**, v.17, n.1. 1995.

CARVALHO, S. C. I. **Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marundu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. *vulgaris* ev. Bandeirantes**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 72f, 1993.

CAVADA, L. H; MARQUES, D.C.; MOREIRA, D.A.L.; LAURA, V.A; VERONKA, D.A.; BARBOSA-FERREIRA, M.; CONTREIRAS-RODRIGUES, A.P.D'A. - Alelopatia de saponinas na germinação e no vigor de sementes de alface. In: 6º SEMINÁRIO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 4º ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* UNIVERSIDADE ANHANGUERA UNIDERP. 2011. Campo Grande-MS: **Resumo**. 2011a.

CAVADA, L. H; MARQUES, D.C.; MOREIRA, D.A.L.; LAURA, V.A.; VERONKA, D.A.; BARBOSA-FERREIRA, M.; CONTREIRAS-RODRIGUES, A.P.D'A. - Alelopatia de saponinas no vigor de plântulas de alface In: 6º SEMINÁRIO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 4º ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* UNIVERSIDADE ANHANGUERA UNIDERP. Campo Grande-MS: **Resumo**. 2011b.

CHOU, C.H., YOUNG, C.C. Phytotoxic substances in twelve subtropical grasses. **Journal of Chemistry and Ecology**, New York, v.1, n.2. 1975.

COLTURATO, A.B. **Epidemiologia e manejo da seca de ponteiro de *Corymbia citriodora* (*Botryosphaeria ribis*/ *Dothyorella* sp.)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho" Faculdade De Ciencias Agronomicas-Campus De Botucatu. Botucatu-SP. 76p. 2009.

DAKSHINI, K.M.M.; FOY,C.L. & INDERJIT. Allelopathy: one component in a multifaceted approach to ecology. In INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, p.3-14. 1999.

DEMMUNER, A.J.; BARBOSA, L.C.A.; CHINELATTO JR, L.S.; REIS, C. Sorção e persistência da sorgoleona em um Latossolo Vermelho-Amarelo. **Química Nova**, v.28, n.3. 2005.

DURIGAN, J. C; ALMEIDA, F. S. **Noções sobre alelopatia**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 28 p.1993.

EBANA, K.; YAN, W.; DILDAY, R. H. Variation in The Allelopathic Effect to Rice With Water Soluble Extracts. **Agronomy Journal**, Madison, v.93, n.1, p.12-16, 2001.

EMBRAPA. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMPRAPA florestas. Sistemas Agroflorestais. Revista da Madeira - Edição N°110 - Janeiro de 2008.*

Disponível em:

<http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=1207&subject=E%20Mais&title=Sistemas%20agroflorestais> Acesso em: 20 set. 2011.

FELIX, R.A.Z., 2012 **EFEITO ALELOPATICO DE EXTRATOS DE *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith SOBRE A GERMINACAO E EMERGENCIA DE PLANTULAS – Tese – UNESP - BOTUCATU – SP, 2012.** Disponível em:

http://www2.ibb.unesp.br/posgrad/teses/botanica_do_2012_rozeli_felix_corrigeida.pdf

Acesso em: 28 fev. 2012.

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12 (Edição especial). 2000.

FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre. Ed.Artmed, p252-256. 2004.

FRIEDMAN, J. Allelopathy, autotoxicity, and germination. Pp. 629-644. In: J. Kegel & G. Galili (eds.). **Seed Development and Germination**. New York: Marcel Dekker Inc.1995.

GATTI, A.B.; PEREZ, S.C.J.G. DE A.; FERREIRA, A.G. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.2. 2007.

GORLA, C.M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.260-265, 1997.

GORLA, M.; Pimentel, L.W. ;Pimentel, N.W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, João Pessoa, v.3, n.1, p.23-28, fev. 2009. Disponível em: http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v3_n1_fev/tca05_alelopatia.pdf. Acesso em: 20 de outubro de 2011.

HALL, M.H.; HENDERLONG, P.R. Alfalfa autotoxic fraction characterization and initial separation. **Crop Science**, v.29, n.2. 1989.

HARAGUCHI, M.; CUNHA, H. A.; MIMAKI, Y.; BRUM, K. B.; LEMOS, R. A. A.; YOKOSUKA, A., SASHIDA, Y. Furostanol glicosídicos ns folhas de *Brachiaria*

decumbens. **Proceedings** of the 26th Annual meeting of the Chemical Brazilian Society PN-066, 2003.

INDERJIT; DUKE S.O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, p529-539. 2003.

INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. Alga allelopathy. **Botanical Review**, v.60, n.2, p.182-196, 1994.

INDERJIT & DEL MORAL, R. Is separating resource competition from allelopathy realistic. **The Botanical Review**, v.63, p221- 227. 1997.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 218p. 1999.

LIMA, J.F. **Estabelecimento da cultura de células de *Bauhinia forficata* Link como fonte de metabolitos bioativos**. (Dissertação Mestrado – Faculdade de Ciências Farmaceuticas de Riberão Preto, Universidade de São Paulo, Riberão Preto), 100p. 2009.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1. 1962.

MELO, P.G.; TERRONES, M.G.H.; SANTOS, D.Q. Avaliação alelopática e caracterização fitoquímica de *Brachiaria decumbens*. **Horizonte Científico**, v.1, n.9. 2008.

MILLER, D.A. Allelopathy in forage crop systems. **Agronomy Journal**, v.88, n.6. 1996.

OLIVEIRA, T.K.; MACEDO, R.L.G.; SANTOS, I.P.A.; HIGASHIKAWA, E.M.; VENTURIN, N. - Produtividade de *Brachiaria brizantha* (hochst. ex a. rich.) stapf cv. marandu sob diferentes arranjos estruturais de sistema agrossilvipastoril com eucalipto – **Ciênc. agrotec.**, v. 31, n. 3. 2007.

PERES, L. P. **Metabolismo secundário**. 2004. Disponível em: <http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisioVegGradBio/MetSec.pdf#search=%22SAPO NINA%20diosgenina%22>. Acesso em: 20 de outubro de 2011.

PINTO-COELHO, R.M. **Fundamentos em Ecologia**. Porto Alegre, Artmed. 2002.

PITELLI, R.A., MARCHI, S.R. Interferência das plantas invasoras nas áreas de reflorestamento. In: SEMINÁRIO TÉCNICO SOBRE PLANTAS DANINHAS E O USO DE HERBICIDAS EM REFLORESTAMENTO, n. 3, Belo Horizonte. **Anais**. 1991.

RAVEN, P.H; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 906. 2001.

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 5. 1999.

REZENDE, G. C. **Implantação e produtividade de florestas para fins energéticos**. Belo Horizonte: CETEC, (Série de Publicações Técnicas, 4), p. 9-24. 1981.

RICE, E.L. **Allelopathy**. New York. Academic Press, p. 422. 1984.

RICKLEFS R.E. **A Economia da Natureza**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 5ª Ed., p. 503. 2003.

RIZVI, S.J.H.; HAQUE, H.; SINGH, U.K.; RIZVI, V. A discipline called allelopathy. In: Rizvi, S.J.H. & Rizvi, H. **Allelopathy: Basic and applied aspects**. London, Chapman & Hall. 1992.

RODRIGUES, L.R.A.; ALMEIDA, A.R.P.; RODRIGUES, T.J.D. Alelopatia em forrageiras e pastagens. In: **Simpósio Sobre Ecossistema de Pastagens**, Jaboticabal: FUNEP, p.100-129. 1993.

RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. **Noções de taxonomia e morfologia de plantas forrageiras (gramíneas e leguminosas)**. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP. Câmpus de Jaboticabal Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Zootecnia. Jaboticabal - SP. 2006.

SALES, S. M.; SANTOS, G. C.; SOUZA, P. R. S. **Efeito alelopático de boldo, capim cidreira e hortelã sobre germinação e crescimento de plântulas de alface**. 2009. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Biologia Geral. Disponível em: <http://www.seb-ecologia.org.br/viiceb/resumos/195a.pdf>. Acesso em: 16 de Nov. de 2011.

SCHERER, L.M.; ZUCARELI, V.; ZUCARELI, C.A.; FORTES, A.M.T. Efeito alelopático do extrato aquoso de folha e de fruto de leucena (*Leucaena leucocephala* Wit) sobre a germinação e crescimento de raiz de canafistula (*Peltophorum debium* Spreng.). **Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.2. 2005.

SILVA, J. de C. Caracterização da madeira de *Eucalyptus grandis* Hill Ex. Maiden, de diferentes idades, visando a sua utilização na indústria moveleira. **Revista Floresta**, v. 32, n. 2. 2002.

SOARES, G.L.G. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de *Gleicheniaceae*. **Floresta e Ambiente**, v.7,n.1. 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA (SBS). **Estatísticas**. 2005. Disponível em: <<http://www.sbs.org.br/estatisticas.htm>>. Acesso em: 21 jan. 2012.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MAIOMONI-RODELLA, R.C.S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, v.21, n.3. 2003.

SOUZA FILHO, A.P.S.; PEREIRA, A.A.G.; BAYMA, J.C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. **Planta Daninha**, v.23, n.1. 2005.

SOUZA FILHO, A.P.S.; RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D. Potencial alelopático de forrageiras tropicais: efeitos sobre invasoras de pastagens. **Planta Daninha**, v.15, n.1. 1997.

SOUZA SOBRINHO, F. Melhoramento de forrageiras no Brasil. In: SIMPOSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 5., 2005, Lavras. **Anais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005.

SOUZA, L.S., VELINI, E.D., MARTINS, D.; ROSOLEM, C.A. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v.24, n.4. 2006.

SPITZANEL, E.L. Logistic regression. p187-209. In: RAO, C.R.; MILLER, J.P.; RAO, D.C. **Handbook of statistic 27: Epidemiology and medical statistic**. Netherlands:Elsevier. 2008.

STAPE, J.L. **Definição do período e localização de cobertura de *Eucalyptus grandis* em função da dinâmica do crescimento radicular**. Piracicaba: IPEF, (Circular técnica, 174). 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^o ed. São Paulo: ARTMED, 792 p. 2002.

TOLEDO, R.E.B., VICTÓRIA FILHO, R., ALVES, P. L.C.A., PITELLI, R.A., CADINI, M.T.D. Efeitos da faixa de controle do capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de plantas de eucalipto. **Planta Daninha**, v.18, n.3. 2000.

TORRES, A.; OLIVA, R.M.; CASTELLANO, D.; CROSS, P. Introduction, A Science for the Future, Proceedings, In.: **First World Congress on Allelopathy**. Spain, p 6-20. 1996.

TOWNSEND, C.R.; BEGON, M.; HARPER, J.L. **Fundamentos em Ecologia**. Porto Alegre, Artmed. 2006.

TRINDADE, R.C.P.; SILVA, P.P.; OLIVEIRA, D.S.; LIMA, I.S.; SANT'ANA, A.E.G. Efeito do óleo da copaíba, *i* Desf. (Leguminosae: Caesalpinoideae) no desenvolvimento da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*. Revista Brasileira de Horticultura. **Anais**. Departamento em Química e Biotecnologia QUI/UFAL, Maceió-AL. 2003.

VERONKA (a), D.A; CAVADA, L. H; MARQUES, D.C.; MOREIRA, D.A.L.; LAURA, V.A; BARBOSA-FERREIRA, M.; CONTREIRAS-RODRIGUES, A.P.D'A. - Alelopatia de saponinas na germinação e no vigor de sementes de braquiária. In: 6º SEMINÁRIO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 4º ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* UNIVERSIDADE ANHANGUERA UNIDERP. Campo Grande-MS: **Resumo**. 2011.

VERONKA (b), D.A; CAVADA, L. H; MARQUES, D.C.; MOREIRA, D.A.L.; LAURA, V.A; BARBOSA-FERREIRA, M.; CONTREIRAS-RODRIGUES, A.P.D'A. - Alelopatia de saponinas no vigor de plântulas de braquiária. In: 6º SEMINÁRIO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 4º ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* UNIVERSIDADE ANHANGUERA UNIDERP. Campo Grande-MS: **Resumo**. 2011.

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

WESTON, L.A. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. **Agronomy Journal**, v.88, n.6, p 860-866. 1996.

WHITTAKER, R.H.; FEENY, P.P. Allelochemicals: chemical interaction between species. **Science**, v.171, n. 3973. 1971.