



Universidade de Brasília - UnB  
Instituto de Ciências Biológicas - IB  
Departamento de Botânica  
Mestrado em Botânica

**Efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) na germinação, crescimento e morfo-anatomia de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete).**

**Giselle de Oliveira Pina**

**Brasília, DF  
Março/2008**



Universidade de Brasília - UnB  
Instituto de Ciências Biológicas - IB  
Departamento de Botânica  
Mestrado em Botânica

**Efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) na germinação, crescimento e morfo-anatomia de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete).**

**Giselle de Oliveira Pina**  
**Orientador: Prof. Dr. Luiz Alfredo Rodrigues Pereira**  
**Co-orientador: Prof. Dr. Fabian Borghetti**

Dissertação apresentada ao Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Botânica.

**Brasília, DF**  
**Março/2008**

**Aprovada por:**

---

**Prof. Dr. Luiz Alfredo Rodrigues Pereira**  
**Departamento de Botânica da UnB**  
**(Presidente da banca)**  
**(Orientador)**

---

**Prof. Dr. Fabian Borghetti**  
**Departamento de Botânica da UnB**  
**(Co-orientador)**

---

**Prof. Dr. Alfredo Gui Ferreira**  
**Departamento de Botânica - UFRGS/UnB**  
**(Membro externo)**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Conceição Eneida dos Santos Silveira**  
**Departamento de Botânica da UnB**  
**(Membro interno)**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Lourdes Isabel Velho do Amaral**  
**Departamento de Botânica da UnB**  
**(Suplente)**

**DEDICO ...**

*Dedico este trabalho aos meus pais que tanto me ensinaram, orientaram e ajudaram  
durante todos esses anos.*

*Ao Célio, por todo carinho, sempre presente, incentivando-me e apoiando-me em  
tudo!!!!!!*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me colocado neste caminho; por Sua presença constante em minha vida.

Ao meu amore! Célio. Tudo pra mim! Sem seu apoio eu não teria vencido mais essa etapa em minha vida!

À minha família, por toda ajuda e compreensão nos momentos de estresse!!! À minha mãe por todo carinho e atenção cuidando sempre de mim! Ao meu pai, pelos puxões de orelha que me fizeram ver a vida com outros olhos, dando mais valor as pequenas coisas. Aos meus parentes que acompanharam todo o processo dos meus estudos.

Aos meus amigos que sempre entendiam quando não comparecia a festas e churrascos porque precisava estudar!

Ao meu orientador Luiz, pela paciência, confiança e palavras amigas nas horas de angústia! Sempre animado e disposto a ajudar! Com suas piadas e com seus trocadilhos em inglês!!!! Ao meu co-orientador Fabian Borghetti, pelos conselhos, ensinamentos e por me fazer colocar os pés no chão. Também por sua paciência e imensa ajuda mesmo quando não estava no Brasil!!!!!!

Aos professores membros de minha banca: Alfredo Gui, que mesmo sem me conhecer se dispôs a ajudar-me; Eneida, solucionou muitas dúvidas além da dica preciosa de sempre pensar positivo; Lourdes, tão atenciosa, “lindinha”, sem palavras...

Aos demais professores do Departamento de Botânica, em especial, Carol, Lúcia Helena, Padu, Sueli e José Elias pela colaboração e ajuda!

Ao professor José Carlos Souza Silva pelas palavras que nunca esquecerei: “trabalho de vanguarda”!

Aos meus estagiários Rodrigo, Tiago e Paulinha. Ajuda imprescindível!!!!!! E companhia agradabilíssima durante o trabalho e fora dele!

Ao pessoal da Termobiologia!!!!!! Dona Aparecida (Cida), Rivail, Gisele, Leandro, Moara, Elisa, Dulce, Jana, Camila e Stefano! Obrigada por tudo!

Ao Fábio Nakamura, que além de sua ajuda como técnico, por meio de suas conversas, sempre me mostrava novas perspectivas e pontos de vista que eu nunca tinha, jamais, imaginado!

Ao pessoal do laboratório de Anatomia Vegetal!!!!!! Eli, Daiane, Guilherme e Marcos. Sempre me contagiando com sua alegria!

Ao Irióide! Amigo desde o início e pronto a ajudar a todos! Pena ter deixado a Botânica! À Flavinha, amiga de toda hora e Ademar, sempre paciente com os bagunceiros do mestrado!

À minha turma: Thaís, Angélica, Aucilene, Gustavo, Mônica e Juliene. E, também, Maria, Sabrina, Plauto, Kadja, Fábio, Nádia e Débora. Em especial, Zan e Davi! Trio “parada dura” do qual eu faço parte e espero fazer por muitos e muitos anos! Amigos do coração!

À minha amiga Zanderluce que tantas vezes me ajudou fazendo coisas para mim enquanto eu estava em casa! Por sempre me fazer companhia na hora do almoço! Por ter lembrado do meu aniversário! Por tudo isso e muito mais, obrigada amiga!!!!!!!!!!

Ao meu amigo de QI elevado Davi! Sempre modesto, divertido e pronto a ajudar! Um amigo pra toda hora! Também presente nas horas de almoço! Obrigada por sua amizade!

À Sarah! Professora que se tornou uma amiga para mim! Me ajudou mesmo de longe!

A todos que colaboraram direta ou indiretamente!

À Capes pela bolsa de mestrado, à UnB, ao IB e ao Departamento de Botânica!

Muito Obrigada!!!!!!!!!!

## ÍNDICE

	Páginas
Agradecimentos.....	v
Índice.....	vii
Índice de Tabelas.....	ix
Índice de Figuras.....	xi
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	xiii
<b>1. Introdução geral.....</b>	<b>1</b>
1.1 Alelopatia.....	1
1.2 Metabólitos secundários.....	2
1.3 Aleloquímicos.....	4
1.4 Bioensaios de germinação e crescimento.....	5
1.5 Valores de pH e osmolaridade.....	7
1.6 Importância econômica e ecológica da alelopatia.....	8
1.7 Estudos morfo-anatômicos.....	9
1.8 <i>Eugenia dysenterica</i> DC.....	11
<b>2. Objetivos gerais.....</b>	<b>14</b>
<b>3. Referências bibliográficas.....</b>	<b>15</b>

### Capítulo 1 – Efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) na germinação e no crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete).

<b>Resumo .....</b>	<b>19</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>20</b>
1. Introdução.....	21
2. Material e Métodos.....	24
2.1 Material biológico.....	24
2.1.1 Espécie alelopática.....	24
2.1.2 Espécies-alvo.....	24
2.2 Preparo do extrato aquoso de <u>folhas secas</u> de <i>E. dysenterica</i> .....	25
2.3 Preparo do extrato aquoso de <u>folhas frescas</u> de <i>E. dysenterica</i> .....	26
2.4 Testes de alelopatia.....	26
2.4.1 Experimento de germinação.....	27
2.4.2 Experimento de crescimento.....	28
2.5 Efeito do pH.....	28
2.6 Porcentagem de inibição.....	29
2.7 Análise estatística.....	29
3. Resultados e discussão.....	30
3.1 Germinação e crescimento do gergelim ( <i>S. indicum</i> ) e do rabanete ( <i>R. sativus</i> ) sob efeito do extrato aquoso foliar de cagaita ( <i>E. dysenterica</i> ).....	30

3.2 Efeito do pH – germinação e crescimento.....	35
3.3 Teste do extrato aquoso de <i>E. dysenterica</i> com folhas secas/frescas – germinação e crescimento.....	42
3.4 Caracterização morfológica.....	48
4. Conclusões.....	54
5. Referências bibliográficas.....	55

**Capítulo 2 – Estudos morfo-anatômicos das raízes de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete) submetidas ao extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita).**

<b>Resumo</b> .....	60
<b>Abstract</b> .....	61
1. Introdução.....	62
2. Material e Métodos.....	65
2.1 Obtenção das radículas para análise anatômica.....	65
2.2 Cortes anatômicos – preparação histológica.....	66
2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	67
2.4 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	68
2.5 Testes histoquímicos.....	68
3. Resultados e discussão.....	70
3.1 Análise morfo-anatômica dos efeitos dos extratos de cagaita ( <i>E. dysenterica</i> ) na estrutura radicular de gergelim ( <i>S. indicum</i> ) e de rabanete ( <i>R. sativus</i> ) .....	70
3.1.1 Morfologia das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato foliar de cagaita.....	70
3.1.2 Estrutura do meristema apical e coifa sob o efeito do extrato de cagaita .....	75
3.1.3 Estudo anatômico e histoquímico das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato foliar de cagaita.....	84
3.1.4 Estrutura dos estatólitos das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato foliar de cagaita.....	92
4. Conclusões.....	97
5. Referências bibliográficas.....	98
<b>Anexo</b> .....	102
Referências bibliográficas.....	106

## ÍNDICE DE TABELAS

### Capítulo 1

- Tabela 1.** Germinabilidade (%) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%..... 30
- Tabela 2.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%..... 31
- Tabela 3.** Germinabilidade (%) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0..... 36
- Tabela 4.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0..... 36
- Tabela 5.** Germinabilidade (%) de sementes rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0..... 37
- Tabela 6.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0..... 37
- Tabela 7.** Germinabilidade (%) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas..... 42
- Tabela 8.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas..... 42
- Tabela 9.** Germinabilidade (%) de sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas..... 43
- Tabela 10.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas..... 43
- Tabela 11.** Porcentagem de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) com pêlos radiculares, com raízes laterais e quantidade média de raízes laterais por tratamento. Plântulas tratadas com extrato de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) por cinco dias em diferentes concentrações (1% e 3%) e água como controle. .... 48

**Tabela 12.** Porcentagem de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) com pêlos radiculares, com raízes laterais e quantidade média de raízes laterais por tratamento. Plântulas tratadas com extrato de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) por cinco dias em diferentes concentrações (1% e 3%) e água como controle.  
..... 50

## Capítulo 2

**Tabela 1.** Distância ( $\mu\text{m}$ ) entre o ápice radicular e importantes eventos do desenvolvimento da raiz de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) após cinco dias de crescimento em água e em extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) nas concentrações de 1% e 3%.  
..... 87

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Introdução geral

- Figura 1.** Aspecto morfológico de órgãos vegetativos e reprodutivos de *Eugenia dysenterica* DC. **A)** Tronco com fissuras e cristas sinuosas e descontínuas. **B)** Folhas adultas simples, oposta-cruzadas, coriáceas, concolores e glabras. **C, D)** Flores brancas, tetrâmeras, dialipétalas e polistêmones. **E)** Fruto amarelo contendo de 1 a 4 sementes, baga. **F)** Indivíduo adulto. **G)** Ramo em floração com folhas jovens de coloração cúprea..... 13

### Capítulo 1

- Figura 1.** Comprimento (mm) da parte radicular (PR) e parta aérea (PA) de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%. Barras representam o desvio padrão..... 32
- Figura 2.** Comprimento (mm) da parte radicular (PR) e parta aérea (PA) de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0. Barras representam o desvio padrão..... 38
- Figura 3.** Comprimento (mm) da parte radicular (PR) e parta aérea (PA) de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0. Barras representam o desvio padrão..... 39
- Figura 4.** Comprimento (mm) da parta aérea (PA) e parte radicular (PR) de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% proveniente de folhas secas e frescas. Barras representam o desvio padrão..... 44
- Figura 5.** Comprimento (mm) da parta aérea (PA) e parte radicular (PR) de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% proveniente de folhas secas e frescas. Barras representam o desvio padrão..... 46
- Figura 6.** Plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) crescidas durante cinco dias em água (controle) e em diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). Concentrações em porcentagem: 0 (água), 1% e 3%..... 53

## Capítulo 2

- Figura 1.** Microscopia eletrônica de varredura do ápice das raízes de plântulas gergelim (*Sesamum indicum* L.) crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) diluído a 1% e 3%, mostrando o efeito do extrato na morfologia externa das raízes. **A-C)** Raízes de plântulas crescidas em água (controle). **D-F)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita 1%. **G-I)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita a 3%..... 73
- Figura 2.** Microscopia eletrônica de varredura do ápice das raízes de plântulas rabanete (*Raphanus sativus* L.) crescidas em água e extrato de folhas de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) diluído a 1% e 3%, mostrando o efeito do extrato na morfologia externa das raízes. **A-C)** Raízes de plântulas crescidas em água (controle). **D-F)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita 1%. **G-I)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita a 3%..... 74
- Figura 3.** Seções longitudinais das raízes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) mostrando o meristema apical de plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) diluído a 3%. **A-B)** Região apical de gergelim. **C-D)** Região apical de rabanete..... 76
- Figura 4.** Seções longitudinais das raízes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) mostrando a região da coifa de plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **A-B)** Região da coifa de plântulas de gergelim crescidas em água. **C-E)** Extremidade radicular de plântulas de gergelim crescidas em extrato aquoso de cagaita..... 78
- Figura 5.** Seções longitudinais das raízes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) mostrando a região da coifa de plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **A-B)** Região da coifa de plântulas de rabanete crescidas em água. **C-E)** Extremidade da raiz de plântulas de rabanete crescidas em extrato da folha de cagaita..... 79
- Figura 6.** Seções longitudinais e micrografias eletrônicas das raízes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.) mostrando a formação de raízes laterais nas plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3% e cinco dias de idade. **A-B)** Seções longitudinais das raízes de gergelim e rabanete, respectivamente. **C-D)** Micrografias eletrônicas das raízes de gergelim e rabanete, respectivamente..... 84
- Figura 7.** Seções transversais das raízes de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.). **A-B)** Seções transversais das raízes de gergelim crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%. **C-D)** Micrografias de raízes de rabanete crescidas em água e em extrato a 3%. ..... 85

**Figura 8.** Teste histoquímico com o reagente cloreto férrico para detecção de taninos nas raízes de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.). **A-B)** Seções transversais das raízes de gergelim crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%. **C-D)** Micrografias de raízes de rabanete crescidas em água e extrato a 3%..... 89

**Figura 9.** Micrografia eletrônica de transmissão mostrando a estrutura dos estatólitos das raízes de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.). **A-B)** Micrografias mostrando os estatólitos de plântula do controle e do extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%. **C-D)** Micrografias mostrando detalhes dos estatólitos (cabeça de seta) de raízes crescidas em água e em extrato a 3%.  
..... 94

**Figura 10.** Micrografia eletrônica de transmissão mostrando a estrutura dos estatólitos das raízes de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.). **A-D)** Micrografias mostrando os estatólitos de plântula do controle e do extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%..... 95

### Lista de Abreviaturas e Siglas

% – porcentagem

°C – graus Celsius

cm – centímetro

h - horas

mL – mililitro

mm – milímetro

µm – micrômetro

nm - nanômetro

M – molar

PEG – polietilenoglicol

p/v – peso volume

pH – potencial de hidrogênio

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Alelopatia

Em 1937, o pesquisador alemão Hans Molisch cunhou a palavra “alelopatia”, proveniente das palavras gregas *allelon* e *pathos*, que significam respectivamente “mútuo” e “prejuízo”, e descreveu o conceito de alelopatia como sendo a influência de um indivíduo sobre outro, prejudicando-o ou favorecendo-o, por meio de substâncias químicas liberadas no ambiente (Molisch, 1937).

Embora a criação do termo e seu conceito tenham ocorrido em tal data, a noção de que as plantas possuem a capacidade de interferir no desenvolvimento de outras, através de substâncias que as mesmas liberam no ambiente, remonta à antiguidade (Almeida, 1990).

O primeiro registro sobre a capacidade das plantas interferirem no desenvolvimento de outras plantas vizinhas foi descrito por Theophrastus (300 A.C.), um discípulo de Aristóteles, que propôs que a Leguminosae *Cicer arietinum* L., – grão-de-bico – exauria o solo e, ao mesmo tempo, destruía as plantas invasoras. O botânico suíço De Candolle em 1823 apud Rice (1984) verificou que os problemas de doenças nos solos, em áreas de agricultura, poderiam ser decorrentes de exsudados liberados pelas plantas da própria cultura.

Segundo Rice (1984), o termo alelopatia é definido como o efeito benéfico ou maléfico de uma planta sobre outra por intermédio de compostos químicos que são liberados no ambiente. Esses compostos químicos geralmente são produzidos pelo metabolismo secundário das plantas e são liberados por lixiviação, volatilização, decomposição e exsudados podendo ser absorvidos por outras plantas afetando seu padrão de crescimento e desenvolvimento (Ferreira, 2004).

Lovett & Rynuntyu (1992) consideram que muitas das substâncias químicas produzidas pelas plantas, que afetam associações de plantas, também influenciam outros organismos, ampliando, desta forma, a aplicação do termo alelopatia.

Atualmente, além de plantas superiores, o termo abrange as algas, fungos e vários microorganismos. Dessa forma, a Sociedade Internacional de Alelopatia (IAS) tem definido alelopatia como sendo o “processo que envolve metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos”.

## **1.2 Metabólitos secundários**

Muitos vegetais liberam metabólitos secundários no ambiente cuja natureza e o local de síntese variam de espécie para espécie (Ferreira & Aquila, 2000). Esses compostos podem ser produzidos nas folhas, raízes, frutos, cascas e sementes (Alves & Santos, 2002).

Em geral, são compostos de baixo peso molecular provenientes do metabolismo primário (anabolismo, como a formação de carboidratos simples, proteínas e lipídios; e do catabolismo, como exemplo a respiração) das plantas, bactérias e fungos (Hadacek, 2002).

O termo “secundário” não significa que tais compostos tenham importância menor para a planta, ao contrário, desempenham importantes funções como: defesa (envolvendo fitotoxinas, compostos antiherbivoria, antiparasitismo, antifúngicos, bactericidas e contra plantas competidoras); atração de polinizadores e estimulantes de germinação de sementes (Ferreira, 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

Além disso, também estão associados a respostas das plantas contra estresses abióticos como variações de temperatura, disponibilidade de água, intensidade de luz, radiação ultravioleta e deficiência de nutrientes no solo (Ferreira & Aquila, 2000; Taiz & Zeiger, 2004).

Segundo Larcher (2000) e Alves & Santos (2002), os compostos secundários podem ser divididos em três grandes grupos: os terpenóides/terpenos, alcalóides e os compostos fenólicos/fenóis.

Alguns terpenos são tóxicos e deterrentes (adstringentes) e afetam a palatabilidade das folhas conferindo proteção às plantas contra a ação de insetos e outros herbívoros. Outros terpenos têm função no crescimento e desenvolvimento vegetal, como, por exemplo, a giberelina – hormônio vegetal responsável pelo alongamento do caule, quebra de dormência, indução de floração, entre outras funções; os esteróis que são derivados de triterpenóides (C<sub>30</sub>) também constituintes de membranas; os carotenóides – tetraterpenos (C<sub>40</sub>) – agem como pigmentos acessórios na fotossíntese e protegem os tecidos fotossintéticos contra a fotoxidação (Taiz & Zeiger, 2004).

Os monoterpenóides (C<sub>10</sub>), um grupo dos terpenos, formam a maioria dos óleos essenciais das plantas (Almeida, 1988) muitos dos quais, com ação alelopática. Devido à relativa característica não-polar e ao seu baixo ponto de ebulição, o grupo tem sido classificado como volátil (Alves & Santos, 2002). Como exemplo, pode-se citar substâncias voláteis de folhas de *Salvia leucophylla* Greene (Lamiaceae - sálvia) que inibiram o desenvolvimento radicular e de hipocótilos de plântulas de pepino (Muller & Hauge, 1967).

Em geral, os alcalóides são formados a partir de rotas metabólicas de aminoácidos como lisina, tirosina e triptofano. São compostos cíclicos contendo nitrogênio na sua cadeia (Almeida, 1988). Devido à sua toxicidade e deterrência, os alcalóides são considerados como importantes defesas das plantas contra a herbivoria (Taiz & Zeiger, 2004) além de atuarem como potentes inibidores da germinação (Almeida, 1988).

As rotas metabólicas dos compostos fenólicos são derivadas do metabolismo de aminoácidos que resultam na formação de ácido chiquímico, em conjunto com a via do acetato policetídeo (Larcher, 2000). Essas substâncias agem como compostos de defesa contra

herbívoros e patógenos, suporte mecânico (lignina), atração de polinizadores (carotenos), dispersão de frutos, proteção contra radiação ultravioleta ou na redução do crescimento de plantas competidoras (Taiz & Zeiger, 2004).

Os metabólitos secundários podem ser translocados de célula para célula ou a longas distâncias via xilema ou floema. Pode ocorrer acúmulo desses compostos em vacúolos, idioblastos, ductos, laticíferos, glândulas ou tricomas, entre outros. Uma vez fora de seus compartimentos de origem, os metabólitos secundários podem ser modificados por enzimas provenientes da própria planta, do intestino de herbívoros ou de origem microbiana. Essas transformações enzimáticas podem implicar na ativação ou desativação destes compostos (Hadacek, 2002).

### 1.3 Aleloquímicos

Alguns produtos do metabolismo secundário, quando liberados no ambiente, atuam promovendo efeitos nocivos ou benéficos ao indivíduo que sofre sua ação (Rice, 1984). Esses produtos são conhecidos como aleloquímicos e seus efeitos como alelopátia (Ferreira & Aquila, 2000). Dentro do vasto grupo de aleloquímicos produzidos por plantas podem ser citados os fenóis, flavonóides, terpenóides, alcalóides, poliacetilenos, ácidos graxos, esteróis, entre outros (Raven *et al.*, 2001; Taiz & Zeiger, 2004).

Alguns exemplos dos mecanismos de ação dos aleloquímicos são: ácidos fenólicos e taninos que atuam na extensão celular; cumarinas e terpenos voláteis atuantes na divisão celular; ácidos fenólicos que interferem na permeabilidade de membranas, síntese de proteínas e atividade enzimática e, também, na fotossíntese (Leather & Einhellig, 1988).

A forma como os compostos alelopáticos chegam ao ambiente é variada. Os terpenos, por sua volatilidade, podem ser lançados diretamente na atmosfera. Outros podem chegar ao meio pelo lixiviado de folhas, por decomposição das plantas e através de resteva ou

serapilheira que cobre o solo em áreas de cultivo e em matas, respectivamente (Ferreira, 2004).

Existem aleloquímicos que modificam as propriedades físicas e químicas do solo onde a planta alvo se encontra (Inderjit, 2001) constituindo uma forma indireta de ação (Ferreira, 2004). Nesse caso, ao serem lançados no meio, podem promover alterações no solo, seja em suas propriedades, seja na sua dinâmica de nutrientes ou em sua biota associada (Hadacek, 2002) resultando, assim, em alterações no padrão de distribuição das plantas.

Em contrapartida, considera-se uma forma de ação direta quando o aleloquímico interfere diretamente com o metabolismo de outros organismos através de sua ligação com as membranas ou penetrando nas células (Ferreira & Aquila, 2000). Em interações do tipo inseto-planta; animal-planta ou patógeno-planta os efeitos por aleloquímicos são geralmente diretos (Souza Filho & Alves, 2002).

#### **1.4 Bioensaios de germinação e crescimento**

Vários tipos de bioensaios têm sido empregados para investigar e demonstrar atividades alelopáticas de certas plantas (Leather & Einhellig, 1988). Tais ensaios geralmente norteiam a bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas sendo de grande utilidade na identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (Noldin *et al.*, 2003). O potencial inibitório/tóxico destas substâncias é variável conforme a espécie alelopática utilizada bem como a parte do corpo vegetal escolhida (Javaid *et al.*, 2006).

Diferentes órgãos vegetais podem conter diferentes quantidades de aleloquímicos. Chon & Boo (2004), trabalhando com batata doce, observaram que os extratos de folhas tinham maior efeito inibitório do que os de caule e raiz em testes com alfafa.

A veracidade de um bioensaio em avaliar compostos alelopáticos depende da capacidade de respostas fisiológicas e bioquímicas do organismo utilizado como alvo no ensaio e dos mecanismos de ação dos aleloquímicos (Leather & Einhellig, 1988).

Frequentemente, os parâmetros utilizados para tal fim são a germinação de sementes e o crescimento de plântulas. Ferreira & Aquila (2000) e Ferreira (2004) argumentam que a germinação é menos sensível a ação de aleloquímicos do que o crescimento da plântula, pois, para cada semente o fenômeno é discreto: germina ou não germina. O padrão de germinação é avaliado segundo a germinabilidade, tempo médio de germinação, velocidade de germinação, entre outros parâmetros (Ferreira & Aquila, 2000; Ferreira, 2004). O padrão de crescimento é avaliado, geralmente, segundo a massa seca da parte aérea e raiz, comprimento da parte aérea e radicular de plântulas, a presença ou ausência de pêlos radiculares, formação e quantidade de raízes laterais, necroses, resposta gravitrópica entre outros (Oliveira *et al.*, 2004).

Uma espécie pode ser indicada como planta teste quando apresentar germinação rápida e uniforme e um grau de sensibilidade aos aleloquímicos que permita expressar os resultados em baixas concentrações de substâncias alelopáticas (Ferreira & Aquila, 2000).

Em geral, o uso de sementes de espécies nativas do cerrado em bioensaios de alelopátia não é tão difundido, uma vez que estas espécies frequentemente apresentam algum tipo de dormência e maior variabilidade genética resultando, assim, em maior plasticidade e diferença nos resultados. Portanto, é mais recomendável o uso de sementes de espécies cultivadas de boa qualidade e de germinação rápida e uniforme (Ferreira & Aquila, 2000).

Outros sugerem também a utilização de espécies que sejam resistentes a qualquer tipo de estresse (Inderjit & Callaway, 2003), com o propósito de avaliar se o extrato utilizado possui ou não compostos alelopáticos.

A fácil germinação de sementes de cultivares conhecidos permite a obtenção de resultados rápidos e a avaliação dos aleloquímicos em baixas concentrações. Em

contrapartida, através da utilização de espécies resistentes, permite-se avaliar se os aleloquímicos são realmente danosos ou benéficos podendo ser, futuramente, utilizados pelas indústrias como herbicidas (Inderjit & Callaway, 2003).

Em geral, alface (*Lactuca sativa* L.) Asteraceae, tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) Solanaceae, pepino (*Cucumis sativus* L.) Cucurbitaceae, rabanete (*Raphanus sativus* L.) Brassicaceae e gergelim (*Sesamum indicum* L.) Pedaliaceae, têm sido muito utilizados em bioensaios (Oliveira *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2004;; Aires *et al.*, 2005; Jerônimo, 2006).

Sementes de gergelim apresentam comportamento germinativo conhecido em diferentes faixas de temperatura bem como germinação rápida e uniforme, além de serem facilmente encontradas no comércio. No mais, o gergelim é uma semente afotoblástica e apresenta amplo espectro germinativo quanto à temperatura (Carvalho *et al.*, 2001). O rabanete também tem sido utilizado pelas mesmas facilidades de germinação rápida e uniforme (Periotto *et al.*, 2003; Gatti *et al.*, 2004).

### 1.5 Valores de pH e osmolaridade

Durante a montagem de bioensaios é importante verificar o potencial osmótico dos extratos a serem testados, um aspecto pouco considerado e que pode mascarar o fenômeno alelopático (Ferreira & Aquila, 2000).

Para verificar o efeito osmótico é necessário fazer a medida do potencial osmótico do extrato em questão e utilizar uma substância osmoticamente ativa, que não tenha efeito alelopático e de preferência não penetre no protoplasma, como controle do efeito osmótico (Oliveira, 2003). O Polietileno Glicol 6000 (PEG-6000) é muito utilizado para testes de potencial osmótico (Miró *et al.*, 1998; Oliveira *et al.*, 2004; Gatti *et al.*, 2004; Aires, 2007). Aires (2007) elaborou soluções de PEG nas mesmas concentrações osmóticas que os extratos brutos de folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae – pequi), *Qualea parviflora*

Mart. (Vochysiaceae – pau-terra) e *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita). Concluiu que o efeito sobre as plântulas testadas era, verdadeiramente, alelopático, ou seja, não houve efeito osmótico para nenhum dos extratos.

Maraschin-Silva & Aquila (2005) determinaram, entre outros, o potencial osmótico e o pH para excluir efeitos não alelopáticos em seu trabalho com *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. Verificaram que esses fatores não influenciaram os resultados, confirmando o efeito alelopático do extrato testado. Gatti *et al.* (2004) também determinaram o pH em seu estudo e obtiveram resposta semelhante.

### **1.6 Importância econômica e ecológica da alelopatia**

A atual forma de expansão agrícola do Brasil tem desprezado o potencial de uso das espécies nativas do Cerrado, mesmo apresentando um enorme grupo de espécies que podem ser aproveitadas de formas diversas na indústria alimentícia, farmacêutica (Ribeiro *et al.*, 1994) e, também, agroquímica – sendo pela utilização de seus frutos, de propriedades curativas como o chá de partes de plantas ou mesmo por substâncias químicas produzidas.

Muitos compostos químicos, produzidos por plantas do Cerrado e que hoje já são conhecidos, têm sido utilizados pelo homem nas mais variadas formas como: farmacológicos, aromatizantes, corantes, estimulantes, alucinógenos, venenos, pesticidas ou como estrutura precursora para a síntese de outras substâncias orgânicas (Alves & Santos, 2002).

Como exemplo, milhares de substâncias que as plantas produzem, juntamente com microorganismos, fornecem uma enorme variedade de estruturas químicas com potencial para a produção de novos pesticidas e estimulantes de crescimento que podem ser utilizados na agricultura. Assim, recentemente tem crescido o interesse na produção de herbicidas e agroquímicos a partir de compostos químicos conhecidos como aleloquímicos.

Em conjunto, as recentes preocupações com o meio ambiente, saúde pública e resistência dos patógenos aos fungicidas vem estimulando as tentativas de reduzir a quantidade de defensivos que são utilizados na agricultura e, também, a busca de novos métodos alternativos de controle das principais doenças de plantas (Rodrigues *et al.*, 2002). Devido a esses fatores, a identificação e o isolamento de tais substâncias têm se tornado um dos grandes objetivos de muitas companhias agroquímicas (Alves *et al.*, 2002).

Segundo Waller (1999 apud Periotto *et al.*, 2003) a potencialidade de aleloquímicos na fabricação de herbicidas, inseticidas e outros compostos de interesse agrônomo tem sido considerada como uma alternativa a químicos já existentes de efeitos devastadores sobre o meio-ambiente. A menor toxicidade dessas substâncias se baseia no fato de que durante o processo evolutivo das plantas, essas substâncias foram naturalmente selecionadas e desenvolvidas em diferentes espécies, sendo, portanto, uma defesa natural das mesmas (Ferreira, 2004).

A potencialidade alelopática de muitas plantas do Cerrado tem sido estudada. Várias espécies apresentam efeitos alelopáticos comprovados. Entre alguns exemplos destaca-se *Solanum lycocarpum* St.-Hill. (Oliveira *et al.*, 2004), *Eugenia dysenterica* DC. (Borghetti *et al.*, 2005), *Solanum palinacanthum* Dunal. (Campos, 2006), *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC. (Souza Filho *et al.*, 2006), *Caryocar brasiliense* Camb. e *Qualea parviflora* Mart. (Aires, 2007).

### **1.7 Estudos morfo-anatômicos**

Pesquisas sobre efeitos dos aleloquímicos na anatomia de plântulas são poucos na literatura. Contudo existem alguns estudos sobre alterações anatômicas em plântulas tratadas com aleloquímicos.

Oliveira (2003) relatou que o extrato de folhas de *Solanum lycocarpum* St.-Hill (lobeira) afetou a diferenciação anatômica e morfológica da raiz de plântulas de gergelim. As raízes de gergelim mostraram ausência de pêlos radiculares, formação precoce de raízes laterais, desorganização nas camadas de células que formavam a coifa, aumento de diâmetro das raízes e redução de seus comprimentos. Além disso, também foi observada a precocidade na diferenciação dos vasos do xilema e na formação do câmbio vascular.

Pires *et al.* (2001) relataram que o uso do extrato aquoso das folhas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., popularmente conhecida como leucena, em plântulas de milho resultou em inibição do crescimento das raízes tratadas e redução do índice mitótico. Além do milho, apresentou efeito alelopático sobre várias outras plantas como alface, arroz e plantas daninhas inibindo a germinação e afetando seu crescimento radicular. O potencial alelopático de leucena é atribuído à mimosina – um aminoácido não-protéico que ocorre em suas folhas e sementes.

Cruz-Ortega *et al.* (1998) verificaram que os efeitos causados por aleloquímicos presentes no extrato aquoso de *Sycios deppei* G. Don., em plântulas de feijão e de abóbora, foram a inibição do crescimento radicular além de mudanças estruturais em algumas organelas, na membrana plasmática e na parede celular de ambas as espécies.

Chon *et al.* (2000) verificaram a inversão do gravitropismo de plântulas sob efeito autotóxico da alfafa (*Medicago sativa* L.). Essa mesma espécie, tratada com compostos fenólicos, apresentou diâmetro aumentado e redução no comprimento radicular bem como redução na densidade de pêlos absorventes (Chon *et al.*, 2002). Oliveira e colaboradores (2004) também verificaram uma inferente perda do gravitropismo de plântulas de gergelim tratadas com extrato de lobeira além de outras características como ausência ou diminuição de pêlos radiculares, aparecimento de raízes laterais, desenvolvimento incompleto da coifa.

Plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.), tratadas com resíduos do processamento de azeitonas, apresentaram ápices radiculares de maior diâmetro e de menor comprimento quando comparados ao controle. Secções longitudinais das raízes mostraram que a expansão celular foi bastante reduzida nos espécimes tratados (Aliotta *et al.*, 2004). Semelhantemente, quando tratadas com cumarina, apresentaram zona de alongamento diminuída com células mais compactadas e vacúolos aumentados. A cumarina inibiu o alongamento celular (Aliotta *et al.*, 1993).

Ao que parece, existe um certo padrão morfo-anatômico na plantas submetidas ao efeito de aleloquímicos. Contudo, a escassez de informações e o excesso de especulações sobre o desenvolvimento vegetal nessas condições mostram a necessidade de estudos anatômicos que possam caracterizar melhor as modificações estruturais ocorridas em órgãos e tecidos de plantas tratados com aleloquímicos.

### **1.8 *Eugenia dysenterica* DC.**

*Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae), popularmente conhecida como cagaiteira, encontra-se amplamente distribuída no Cerrado ocorrendo em áreas de Cerradão, Cerrado sentido restrito e Ralo (Almeida *et al.*, 1998).

A cagaiteira é grande produtora de frutos e sua árvore apresenta, também, diversas utilidades. Economicamente, a utilização dos frutos na fabricação de polpas congeladas, doces, geléias e picolés (Brito *et al.*, 2003) é o que recebe maior destaque. Em menor escala, sua madeira é usada na construção civil em obras de pequeno porte, bem como sua casca pode ser usada na indústria de curtume. Também possui valor ornamental (Almeida *et al.*, 1998).

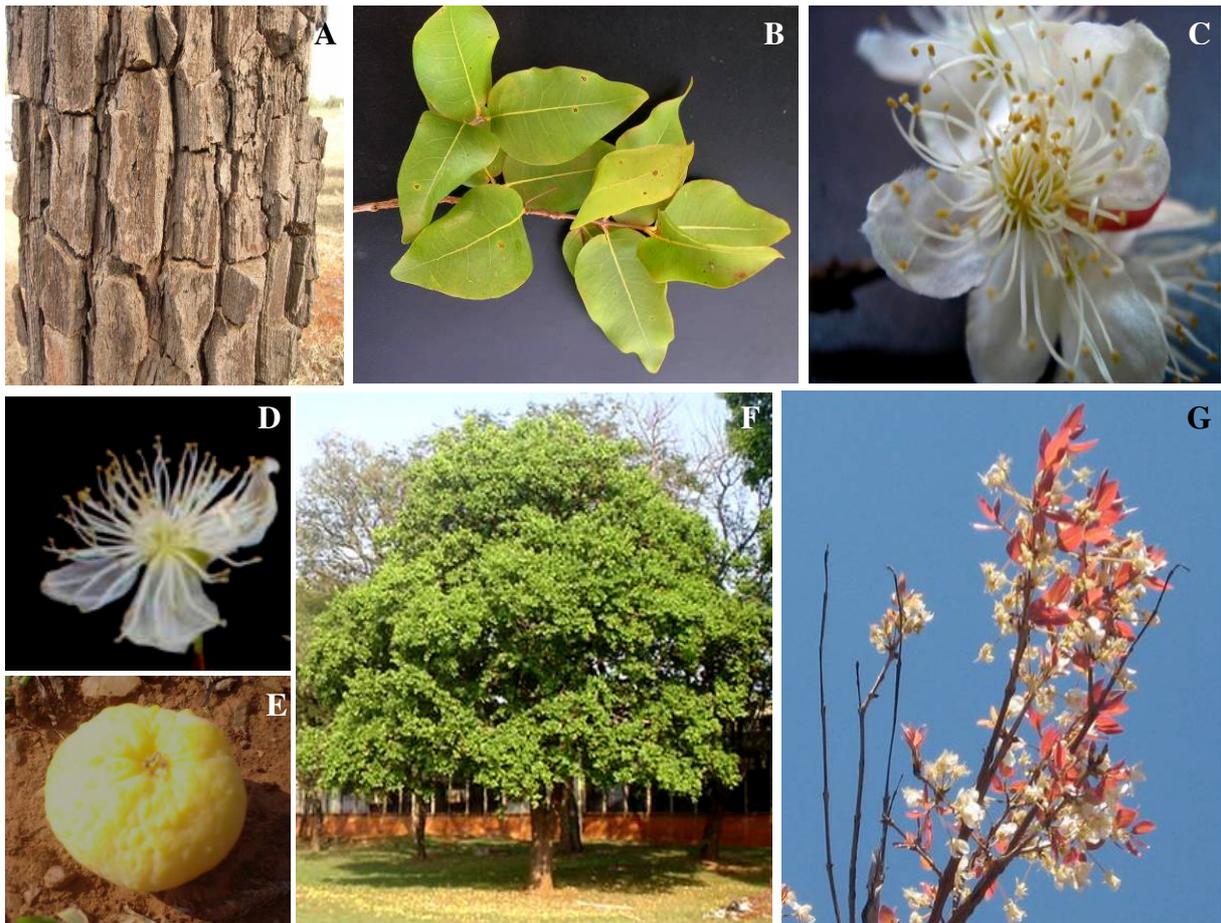
Para a medicina popular, os frutos apresentam propriedades laxativas e o chá das folhas, ao contrário, apresentam efeito antidiarréico (Silva Júnior, 2005). Além do consumo humano, o fruto também é consumido pelo gado (Almeida *et al.*, 1998).

*Eugenia dysenterica* DC. é uma árvore monóica, frutífera e comum no Cerrado. Geralmente alcança uma altura máxima em torno de 10 m (Brito *et al.*, 2003). O tronco (Figura 1-A) é composto por um ritidoma característico por ser profundamente sulcado com fissuras e cristas sinuosas descontínuas de coloração variável entre cinza e castanho (Silva Júnior, 2005).

As folhas (Figura 1-B) são simples, oposta-cruzadas; elípticas ou ovadas com 3 a 10 cm de comprimento e 1 a 5 cm de largura (Silva Júnior, 2005). Apresentam ápice ligeiramente acuminado e a base obtusa a subcordada (Brito *et al.*, 2003) com margens inteiras e onduladas. São coriáceas, concolores, glabras com ou sem glândulas laminares que exalam odor agradável ao serem amassadas. Ao se destacar as folhas, não há exsudação (Silva Júnior, 2005). Além disso, são caducifólias durante a floração.

As flores (Figura 1-C, D) são actinomorfas, diclamídeas, tretâmeras, dialipétalas e dialissépalas, polistêmone com anteras rimosas. Apresentam ovário ínfero, bilocular, Seu fruto (Figura 1-E) é classificado como baga com 2 a 3 cm de diâmetro e de cor amarela (Almeida *et al.*, 1998).

O florescimento ocorre em meados de julho a princípio de agosto, no meio da estação seca, sendo simultâneo ao surgimento de folhas novas com coloração cúprea (Figura 1-G). O ponto máximo da troca de folhas é simultâneo à emissão de botões florais (Brito *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Aspecto morfológico de órgãos vegetativos e reprodutivos de *Eugenia dysenterica* DC. **A)** Tronco com fissuras e cristas sinuosas e descontínuas. **B)** Folhas adultas simples, oposta-cruzadas, coriáceas, concolores e glabras. **C, D)** Flores brancas, tetrâmeras, dialipétalas e polistêmones. **E)** Fruto amarelo contendo de 1 a 4 sementes, baya. **F)** Indivíduo adulto. **G)** Ramo em floração com folhas jovens de coloração cúprea.

## 2. OBJETIVOS GERAIS

Verificar o efeito alelopático de extratos aquosos foliares de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) na germinação e no crescimento inicial de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete) bem como estudar, comparativamente, a morfo-anatomia radicular das plântulas dessas espécies.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aires, S.S. **Potencial alelopático de espécies nativas do Cerrado na germinação e desenvolvimento inicial de invasoras.** Dissertação de mestrado. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2007.
- Aires, S.S.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2: 339-344, 2005.
- Aliotta, G.; Cafiero, G.; Fiorentino, A.; Strumia, S. Inhibition of radish germination and root growth by coumarin and phenylpropanoids. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 2: 175-183, 1993.
- Aliotta, G.; Ligrone, R.; Ciniglia, C.; Pollio, A.; Stanzione, M.; Pinto, G. Application of microscopic techniques to the study of seeds and microalgae under olive oil wastewater stress. In: Francisco A. Macías; Juan C. G. Galindo; José M. G. Molinillo; Horace G. Cutler. **Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals.** CRC Press. 289-314, 2004.
- Almeida, F.S. **A alelopatia e as plantas.** Londrina. IAPAR. 60p, 1988.
- Almeida, S.P.; Proença, C.E.; Sano, S.M. & Ribeiro, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis.** EMBRAPA. Planaltina-DF: 183-186, 1998.
- Almeida, F.S. A defesa das plantas. **Ciência Hoje**, v.11, n. 62: 38-45, 1990.
- Alves, S.M. & Santos, L.S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: A.P.S. Souza Filho; S.M. Alves. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental: 25-47, 2002.
- Alves, S.M.; Muller, A.H.; Filho, A.P.S.S. Alelopatia e a produção de bio defensivos agrícolas. In: A.P.S. Souza Filho; S.M. Alves. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental: 205-260, 2002.
- 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: 1083-1086, 2004.
- Borghetti, F.; Silva, L.C.R.; Pinheiro, J.D.; Varella, B.B.; Ferreira, A.G. Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil. In: **Allelopathy: Establishing the scientific base.** Fourth World Congress. Charles Sturt University – NSW Austrália, 2005.
- Brito, M.A.; Pereira, E.B.C.; Pereira, A.V.; Ribeiro, J.F. **Cagaita: biologia e manejo.** Planaltina. DF: Embrapa Cerrados. 80p, 2003.

- Campos, M.L. **Alelopatia em *Solanum palinacanthum* Dunal (Solanaceae)**. Monografia de bacharelado em Ciências Biológicas. Centro de Ciências da Educação e Humanidades. Pró-reitoria de Graduação – UCB, 2006.
- Carvalho, P.G.B.; Borghetti, F.; Buckeridge, M. S.; Morthy, L.; Ferreira-Filho, E.X.F. Temperature-dependent germination and endo-b-mannase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2: 139-148, 2001.
- Chon, S. -U. & Boo, H.-O. Difference in Allelopathic Potencial as Influenced by root periderm colour of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 191: 75-80, 2004.
- Chon, S. -UK.; Coutts, J.H.; Nelson, C.J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfafa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v. 92: 715-720, 2000.
- Chon, S. -UK.; Choi, S. -Kyu.; Jung, S.; Jang, H. -Gi.; Pyo, B. –Sik; Kim, S. -Min. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. **Crop Protection**, v. 21: 1077-1082, 2002.
- Cruz-Ortega, R.; Anaya, A.N.; Hernández-Bautista.; Laguna-Hernández, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n.12: 2039-2057, 1998.
- Ferreira, A.G. Interferência, competição e alelopatia. In: A.G. Ferreira & F. Borghetti. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 251-262, 2004.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** (Edição especial): 175-204, 2000.
- Gatti, A.B.; Perez, S.C.J.G.A.; Lima, M.I.S. Atividade alelopática dos extratos de *Aristolochia esparanzae* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n. 3: 459-472, 2004.
- Hadacek, F. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 21. n. 4: 273-322. 2002.
- Inderjit. Soil: Environmental effects on allelochemical activity. **Agronomy Journal**, v. 93: 79-84, 2001.
- Inderjit. & Callaway. R.M. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and Soil**, v. 256: 1-11, 2003.
- Javaid, A.; Shafique, S.; Bajwa, R.; Shafique, S. Effect of aqueous extracts of allelopathic crops on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. **South African Journal of Botany**, v. 72: 609-612, 2006.

- Jerônimo, C.A. **Efeitos do extrato aquoso de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hil no desenvolvimento inicial e na síntese protéica de plântulas de *Sesamum indicum* L.** Dissertação para obtenção do título de mestre. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2006.
- Larcher, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos: Rima. 531p, 2000.
- Leather, G.R. & Einhellig, F.A. Bioassay of naturally occurring allelochemicals for phytotoxicity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 10: 1821-1828, 1988.
- Lovett, J. & Ryuntyu, M. Allelopathy: broadening the context. In: S.J.H. Rizvi; V. Rizvi. **Allelopathy: basic and applied aspects.** London: Chapman Hall: 11-19, 1992.
- Maraschin-Silva, F. & Aquila, M.E.A. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia**, Série Botânica. Porto Alegre, v. 60, n.1: 91-98, 2005.
- Miró, C.P.; Ferreira, A.G.; Aquila, M.E.A. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 8: 1261-1270, 1998.
- Molisch, H. Der Einfluss einer pflanze auf die andere allelopathie. Verlag G. Fisher, Jena. (English version by S. S. Narwal, 2001, **Scientific Publishers**, Jodhpur, India), 1937.
- Muller, W.H. & Hauge, R. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: Effect on seedling anatomy. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 94, n.3: 182-191, 1967.
- Noldin, V.F.; Monache, F.D.; Yunes, R.A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**. São Paulo, v. 26, n. 3: 331-334, 2003.
- Oliveira, S.C.C. **Alelopatia em *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae).** Dissertação de mestrado. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2003.
- Oliveira, S.C.C.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3: 401-406, 2004.
- Periotto, F.; Perez, S.C.J.G.A.; Lima, M.I.S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3: 401-406, 2003.
- Pires, N.M.; Souza, I.R.P.; Prates, H.T.; Faria, T.C.L.; Filho, I.A.P.; Magalhães, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1: 55-65, 2001.
- Raven, P.H.; Evert, R.F.; Eichhorn, S.E. **Biologia Vegetal.** Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro - RJ. 6ªed. 2001.

- Ribeiro, J.F.; Fonseca, C.E.L.; Almeida, S.P. Espécies arbóreas de usos múltiplos da região do Cerrado: caracterização botânica, uso potencial e reprodução. In: **Congresso Brasileiro Sobre Sistemas Agroflorestais**. Porto Velho. Anais: 335-355, 1994.
- Rice, E.L. **Allelopathy**. 2<sup>a</sup> ed. Academic Press. New York, 1984.
- Rodrigues, F.A.; Carvalho, E.M.; Vale, F.X.V. Severidade da podridão-radicular de *Rhizoctonia* do feijoeiro influenciada pela calagem e pelas fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 37. n. 9: 1247-1252. 2002.
- Silva Júnior, M.C.; Santos, G.C.; Nogueira, P.E.; Munhoz, C.B.R.; Ramos, A.E. **100 Árvores do Cerrado. Guia de Campo**. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado. 278 p, 2005.
- Souza Filho, A.P.S. & Alves, S.M. Função dos agentes alelopáticos nas plantas. In: A.P.S. Souza Filho; S.M. Alves. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental: 15-23. 2002.
- Souza Filho, A.P.S.; Santos, R.A.; Santos, L.S.; Guilhon, G.M.P.; Santos, A.S.; Arruda, M.S.P.; Muller, A.H.; Arruda, A.C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**. Viçosa – MG, v. 24, n. 4: 649-656, 2006.
- Taiz, L. & Zeiger, E. **Fisiologia Vegetal**. Ed. Artmed. São Paulo- SP. 3<sup>a</sup>ed. 719p, 2004.

**Efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) na germinação e no crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete).**

Giselle Oliveira Pina<sup>1</sup>, Luiz A. R. Pereira<sup>1</sup>, Fabian Borghetti<sup>1\*</sup> e Conceição E. S. Silveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília.

\* Autor correspondente

## RESUMO

Alelopatia é a influência de plantas sobre outros organismos por meio de compostos por elas produzidos e lançados no meio. Algumas espécies da família Myrtaceae apresentam evidências de propriedades alelopáticas. *Eugenia dysenterica* DC., conhecida como cagaita, é frequentemente encontrada no Cerrado sentido restrito. Os objetivos desse estudo foram quantificar os efeitos alelopáticos de extratos aquosos foliares de cagaita na germinação e no crescimento de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.), e verificar se a atividade alelopática dos extratos tem interferência do pH e da secagem das folhas antes do preparo dos mesmos. Para tal, os extratos foram preparados a partir de folhas maduras frescas e secas. A secagem ocorreu em estufa (50 °C /24h). Em ambos os casos as folhas foram trituradas e solubilizadas em água a 5% (p/v) com diluição para 1% e 3%. Os efeitos do pH do extrato foram verificados através de tratamentos com o pH original do extrato (4,7) e tratamentos com o pH ajustado para 7,0. Para a germinação, foram utilizadas placas de petri com 10 sementes de gergelim/rabanete contendo 6 mL dos extratos (suas diluições) e água como controle, com três repetições por tratamento. Houve acompanhamento diário por 5 dias. Para os experimentos de crescimento nos extratos, foram utilizadas sementes pré-germinadas em água. Após cinco dias as plântulas tiveram suas partes aérea e radicular medidas e características morfológicas registradas. Os experimentos foram conduzidos em câmaras de germinação a 25°C (rabanete) e 30°C (gergelim), com fotoperíodo de 12h. Os resultados mostram que a germinabilidade e o tempo médio de germinação de ambas as espécies-alvo não foram afetados pelos extratos, independentemente do pH e da secagem ou não das folhas. Quanto ao crescimento, a parte radicular foi a mais afetada para as duas espécies, apresentando redução em seu comprimento 82% (gergelim) e 87% (rabanete), escurecimento radicular em todas as plântulas em contato com o extrato, redução do número de plântulas com pêlos radiculares (73% e 90% - gergelim e rabanete, respectivamente) e com raízes laterais (30% e 70% respectivamente). O ajuste do pH para 7,0 não alterou o potencial alelopático do extrato. O extrato proveniente de folhas secas promoveu maior efeito inibitório no crescimento radicular 85% (gergelim) e 86% (rabanete) que o de folhas frescas (69% e 80% respectivamente).

**Palavras Chaves:** alelopatia, *Eugenia dysenterica*, germinação, desenvolvimento radicular, *Sesamum indicum*, *Raphanus sativus*.

**Allelopathic effect of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) aqueous leaf extract on germination and growth of *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – sesame) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – radish) seedlings.**

Giselle Oliveira Pina<sup>1</sup>, Luiz A. R. Pereira<sup>1</sup>, Fabian Borghetti<sup>1\*</sup> e Conceição E. S. Silveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Department of Botany, Biological Science Institute, University of Brasilia.

\* Corresponding author

## **ABSTRACT**

Allelopathy is the influence that compounds produced by plants and released into the environment produces on other organisms. Some Myrtaceae's species have shown some allelopathic property. *Eugenia dysenterica* DC., popular known as cagaita, is very common in the Cerrado sentido restrito. The objectives of this study were 1) to quantify the allelopathic effects of leaf aqueous extract of cagaita on the germination and growth of sesame (*Sesamum indicum* L.) and radish (*Raphanus sativus* L.) seedlings and 2) to verify if the allelopathic activity of the extracts are influenced by its pH and by the drying of the leaves before preparing them. Aqueous extracts were prepared using fresh and dry adult leaves. The leaves were dried at 50° C for 24h. In both cases the leaves were grinded and dissolved in water at 5% (w/v) with posterior dilution to 1% and 3% for the experiments. The effects of pH of the extracts were verified through treatments keeping the original pH value (4,7) and treatments with pH adjusted to (7,0) with NaOH. To test the effects on germination, Petri dishes with 10 seeds of sesame/radish each containing 6 ml of the extracts (1 and 3%) were employed, water was the control. Three replications by treatment were conducted. Germinated seeds were counted everyday for up to five days. To test the effects on seedling growth, seeds previously germinated in water were employed. They were disposed in 15cm petri dishes with 10 mL of the extract to be tested. Water was the control. All the experiments were carried out in B.O.D. chambers at 25°C (radish) and 30°C (sesame), with photoperiod of 12h. After five days, the seedlings had their aerial and root parts measured and morphological characteristics were recorded. The results show that the germinability and the average time of germination of both targeted-species were not affected by the leaf extract of cagaita, irrespective of its pH and the drying of the leaves. However, the seedling growth was affected by the extracts. For both species the root parts showed to be more sensitive to the extracts than the shoot parts, showing a growth inhibition of about 82% (sesame) and 87% (radish), when compared to the growth in water. Both sesame and radish seedlings incubated in the extracts presented a reduction of the number of seedlings with root hairs (73% and 90% - sesame and radish, respectively) and with lateral roots (30% and 70% respectively). These effects were not affected by the pH adjustment. However, extracts prepared with dry leaves promoted a higher inhibitory effect on root growth 85% (sesame) and 86% (radish) than the fresh leaves one (69% and 80% respectively).

**Key Words:** allelopathy, *Eugenia dysenterica*, germination, root growth, *Sesamum indicum*, *Raphanus sativus*.

## 1. INTRODUÇÃO

A alelopatia pode ser definida como a interferência positiva ou negativa de compostos do metabolismo secundário, produzidos e lançados no meio por uma determinada planta sobre outras plantas ou outros organismos tais como plantas, fungos, insetos, algas (Lovett & Ryuntyu, 1992; Ferreira, 2004).

Os aleloquímicos – biomoléculas responsáveis pelos efeitos alelopáticos – podem ser liberados pelas plantas por lavagem (chuva) de folhas verdes, por volatilização, lixiviação de folhas secas, exsudados das raízes ou liberados durante a decomposição de restos de plantas. Flores, frutos e sementes também podem ser fontes de aleloquímicos (Gliessman, 2000).

Para o efeito alelopático ser comprovado em laboratório, se faz necessária a realização de bioensaio, empregando-se material biológico como indicador dos efeitos da substância em estudo (Inderjit & Dakshini, 1995). São diversas as variáveis a serem consideradas nos bioensaios alelopáticos. Entre estas, diferentes substratos, como ágar, papel de filtro e solo (Chon *et al.*, 2000), diferentes temperaturas (Oliveira *et al.*, 2004; Aires *et al.*, 2005) ou mesmo, diferentes espécies-alvo como milho (Prates *et al.*, 2002), gergelim (Oliveira *et al.*, 2004), rabanete e alface (Periotto *et al.*, 2003; Gatti *et al.*, 2004) entre outras. Os extratos podem ser preparados com o uso de diferentes tipos de solvente, sendo o mais comum a água (Periotto *et al.*, 2003; Gatti *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2004; Aires *et al.*, 2005), e tanto a partir de material vegetal fresco (Gatti *et al.*, 2004; Goetze & Thomé, 2004; Javaid *et al.*, 2006; Cuchiara *et al.*, 2007) como de material previamente seco (Soares *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2004; Maraschin-Silva & Aquila, 2005; Campos, 2006).

Os principais parâmetros analisados em estudos de alelopatia são a germinação e o crescimento das partes aérea e radicular sob influência dos aleloquímicos (Inderjit &

Dakshini, 1995). Além desses, características morfológicas têm se mostrado de grande importância na caracterização dos efeitos alelopáticos (Oliveira *et al.*, 2004; Aires, 2007).

No estudo de alelopatia, quando se trabalha com extratos vegetais, é necessário descartar o efeito osmótico (Souza Filho *et al.*, 1996; Oliveira *et al.*, 2004; Gatti *et al.*, 2004) e o efeito do pH (Souza-Filho *et al.*, 1996; Maraschin-Silva & Aquila, 2005) sobre os parâmetros que estão sendo analisados para se excluir efeitos não alelopáticos. Sem um controle rigoroso sobre estas diversas variáveis, não se pode assegurar que as interferências de extratos de plantas sobre o desenvolvimento de espécies-alvo sejam de caráter alelopático.

O efeito alelopático na Família Myrtaceae é conhecido para algumas espécies como *Syzygium aromaticum* L. – cravo-da-índia (Mazzafera, 2003); *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden – eucalipto (Goetze & Thomé, 2004); *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC. – pedra-ume-caá (Souza Filho *et al.*, 2006); *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum – pau-cravo, louro (Paula *et al.*, 2006).

*Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae), popularmente conhecida como cagaiteira/cagaita, é uma espécie típica do Cerrado que apresenta pluralidade de usos. É uma árvore corticeira, tanífera, melífera e ornamental que produz frutos comestíveis com propriedades laxantes (Brito *et al.*, 2003) e também possui efeito alelopático (Borghetti *et al.*, 2005; Aires, 2007; Giotto *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2007).

Borghetti *et al.* (2005) estudaram os efeitos dos extratos aquosos de folhas adultas de algumas espécies do Cerrado, dentre elas *E. dysenterica*, sobre sementes e plântulas de gergelim. Constataram que os extratos de cagaita a 1% resultaram na redução do crescimento radicular das plântulas tratadas em cerca de 80%. Adicionalmente, Aires (2007) mostrou que extratos foliares de *E. dysenterica* foram alelopaticamente mais ativos que os de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae – pequi) e *Qualea parviflora* Mart. (Vochysiaceae – pau-terra) em relação ao potencial alelopático apresentado no estudo realizado com *Bidens pilosa*

L. (Gramineae – picão-preto), *Melinis minutiflora* P. Beauv. (Gramineae – capim-gordura), *Digitaria horizontales* Willd. (Gramineae – capim-colchão) e *Zea mays* L. (Poaceae – milho).

O estudo da alelopatia em espécies nativas do Cerrado tem se mostrado promissor. A identificação de propriedades alelopáticas em espécies nativas abre perspectivas de que tais efeitos possam fazer parte dos fatores determinantes da dinâmica da vegetação e da composição florística das fitofisionomias do Cerrado (Oliveira *et al.*, 2004).

Os objetivos deste trabalho foram: 1) determinar o efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (cagaita) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (gergelim) e de *Raphanus sativus* L. (rabanete); 2) verificar a interferência do pH do extrato na sua atividade e 3) verificar se a secagem das folhas, previamente ao preparo do extrato, interfere no seu potencial alelopático.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de germinação e crescimento de plântulas foram conduzidos no Laboratório de Termobiologia L.G. Labouriau do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília (UnB).

### 2.1 Material biológico

#### 2.1.1 Espécie alelopática

Folhas adultas de *E. dysenterica* foram coletadas de quatro indivíduos localizados no campus da Universidade de Brasília – UnB, próximos ao Laboratório de Termobiologia (latitude 15,46',11" S, longitude 47,52',6" W e altitude de 1038 m). As coletas foram realizadas ao longo do ano menos, nos períodos de floração e frutificação. Tal critério foi adotado visto que a produção compostos secundários pode ser aumentada por fatores ambientais como estresse hídrico, deficiência de nutrientes e temperatura (Einhellig, 1996), situações comumente encontradas no Cerrado (Oliveira *et al.*, 2004).

#### 2.1.2 Espécies-alvo

Sementes de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) da variedade negra e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete) variedade Vip Crimson da marca Feltrin – foram utilizadas nos bioensaios de germinação e crescimento. As sementes de gergelim utilizadas nos experimentos foram adquiridas de indivíduos plantados no próprio Laboratório de Termobiologia – UnB e estocadas a -20 °C após sua colheita. Antes da montagem do experimento, as sementes foram descongeladas e selecionadas. As sementes de rabanete, obtidas em lojas de produtos agrícolas, pertenciam ao mesmo lote para minimizar possíveis diferenças no padrão de germinação. Estas não foram congeladas em momento algum.

As sementes das duas espécies-alvo foram armazenadas, sem qualquer dano, durante o período da execução dos experimentos pelo fato de serem ortodoxas - teste realizado de acordo com o Manual de Sementes: regras para análise de sementes do Ministério da Agricultura (1992), para a determinação do teor de umidade, em anexo.

## 2.2 Preparo do extrato aquoso de folhas secas de *E. dysenterica*

Folhas de *E. dysenterica* foram coletadas e secas em estufa a 60 °C por 24 h. Em seguida, foram trituradas com auxílio de um liquidificador até a obtenção de macerado em consistência de pó. O extrato foliar foi preparado com o acréscimo de água destilada ao triturado obtendo-se uma concentração final de 5% (p/v) de extrato – 5 g de macerado em 100 mL de água destilada – sendo este incubado a  $6 \pm 2$  °C, para minimizar a contaminação por fungos e bactérias, durante 24 h para a extração dos aleloquímicos (Ferreira & Aquila, 2000). Subsequentemente, o extrato foi filtrado em papel filtro Whatman nº 1 e imediatamente utilizado na montagem do teste de alelopatia – germinação e/ou crescimento (Jacobi & Ferreira, 1991; Pinã-Rodrigues & Lopes, 2001; Oliveira *et al.*, 2004; Aires *et al.*, 2005).

Também foi estimado o teor de umidade (base fresca) das folhas de cagaita. 50 folhas foram pesadas em balança de precisão antes e após sua secagem em estufa a 100 °C por 24 h. O teor de umidade foi calculado pela fórmula:

$$\% \text{ água} = (PF - PS) / PF \times 100$$

As folhas e/ou triturado não foram armazenados para posterior utilização pois esse procedimento poderia afetar o espectro de ação dos aleloquímicos presentes nos mesmos (Oliveira, 2003) e, também, não foram esterilizados para prevenir a perda de aleloquímicos pelo aquecimento ou pelo uso de substâncias químicas (Rice, 1984; Orr *et al.*, 2005). Por

esses motivos, várias coletas foram realizadas durante o ano conforme a necessidade de novos extratos para os diferentes bioensaios.

### **2.3 Preparo do extrato aquoso de folhas frescas de *E. dysenterica***

Extratos de cagaita provenientes de folhas secas e de folhas frescas foram preparados com o intuito de verificar a existência de diferenças na resposta alelopática entre ambos. O extrato proveniente de folhas secas foi obtido conforme a metodologia do item 2.2. O extrato proveniente de folhas frescas foi obtido conforme a metodologia descrita por Goetze & Thomé (2004) com as modificações a seguir.

A obtenção do extrato com material fresco foi realizada adicionando-se 50 g de folhas frescas recém-colhidas a 1000 mL de água destilada que foram trituradas durante 1 minuto em liquidificador sendo o extrato obtido, 5% (p/v), imediatamente filtrado e utilizado nos bioensaios. Após a filtragem, o extrato foi diluído a 1% e 3% e utilizado no ensaio. A montagem do experimento e aplicação dos extratos seguiram a metodologia padrão já descrita nesta dissertação.

### **2.4 Testes de alelopatia**

Para o experimento de germinação e crescimento foram utilizadas placas de Petri – 9 e 15 cm respectivamente – contendo papel filtro Qualy® previamente autoclavadas por 20 minutos a 120 °C. As placas maiores foram utilizadas para os bioensaios de crescimento possibilitando maior espaço para o crescimento das plântulas. Em cada placa foram colocadas 10 sementes da espécie-alvo escolhida (gergelim ou rabanete) distantes entre si.

### 2.4.1 Experimento de germinação

Para a montagem dos experimentos de germinação, o extrato bruto a 5% foi diluído para concentrações a 1% e 3%. Seis mililitros de cada diluição foram adicionados às placas e, então, depositadas as sementes das espécies-alvo. Subsequentemente, as placas foram acondicionadas aleatoriamente na câmara de germinação do tipo B.O.D. (Marconi MA 403) com temperatura ajustada para 30 °C e fotoperíodo de 12 h.

Para cada diluição (1% e 3%) foram preparadas três placas por experimento e mais três para o controle/testemunha com 6 mL de água destilada. No experimento de germinação foram utilizadas as placas de 9 cm de diâmetro e as de 15 cm de diâmetro, foram utilizadas para o teste de crescimento possibilitando um melhor desenvolvimento das plântulas.

Para o experimento de germinação, as sementes germinadas foram contabilizadas em intervalos de 24 horas. O critério de germinação utilizado foi o da emergência de uma das porções do embrião (Labouriau, 1983; Borghetti, 2000). Tanto para o gergelim quanto para o rabanete, a radícula foi a primeira porção do embrião a emergir.

Cada semente germinada foi contabilizada, retirada de sua placa e descartada no horário estabelecido. Esse procedimento prosseguiu até que a maioria das sementes tivesse germinado. O prazo de observação foi de cinco dias (Oliveira *et al.*, 2004; Aires *et al.*, 2005; Jerônimo, 2006).

Ao final do experimento de germinação, calculou-se a germinabilidade e o tempo médio de germinação (Borghetti & Ferreira, 2004; Ferreira, 2004) para as plântulas de *R. sativus* (rabanete) e *S. indicum* (gergelim). A germinabilidade representa a porcentagem de sementes germinadas em relação ao número de sementes dispostas a germinar. Já o tempo médio corresponde à média do tempo necessário para o conjunto de sementes acondicionadas nas placas germinar (Borghetti & Ferreira, 2004).

### 2.4.2 Experimento de crescimento

Nos experimentos de crescimento foram utilizadas sementes previamente germinadas – conforme Labouriau (1983) e Borghetti (2000) – em água e em câmara de germinação tipo B.O.D a 30 °C com fotoperíodo de 12 h.

Após a germinação, as plântulas foram acondicionadas em placas de Petri contendo extratos diluídos a 1% e 3%, e água como controle (12 mL). As placas foram subsequentemente lacradas com filme plástico para evitar dessecação e foram depositadas na câmara de germinação sob as mesmas condições descritas do teste anterior.

Após cinco dias, todas as plântulas tiveram parte aérea e radicular – raiz principal – medidas com o auxílio de um paquímetro digital. Além das medidas, características morfológicas como presença ou ausência de pêlos radiculares e raízes laterais, número de raízes laterais, coloração e curvatura atípica radicular foram registradas e analisadas estatisticamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições tanto para a germinação quanto para o crescimento. As placas com as sementes representaram as parcelas. Os tratamentos representaram as diferentes concentrações de extrato aquoso de *E. dysenterica* aplicadas às placas.

### 2.5 Efeito do pH

Para determinar se as alterações na germinação, crescimento e morfologia das plântulas tratadas com extrato aquoso foliar de *E. dysenterica* (folhas secas) foram verdadeiramente provenientes de aleloquímicos presentes no mesmo, foram conduzidos testes onde o pH do extrato foi modificado. Tanto para os experimentos de germinação quanto de crescimento, dois valores de pH foram comparados: pH 4,7 (valor normal do extrato) e pH 7,0 (valor corrigido - neutro). A montagem dos experimentos foi a mesma já descrita

anteriormente com água como controle e extratos a 1% e 3%. Os valores de pH foram ajustados com auxílio de um pHmêtro e adição de NaOH.

## **2.6 Porcentagem de inibição**

Foi calculada a porcentagem de inibição do desenvolvimento das plântulas causada pelos aleloquímicos. O cálculo foi realizado comparando-se o crescimento das plântulas dos tratamentos com as do controle tanto da parte aérea como da radicular (Jerônimo, 2006) através da fórmula descrita abaixo.

$$\% \text{ inibição} = [( \text{controle} - \text{tratamento} ) / \text{controle}] \times 100$$

## **2.7 Análise estatística**

A análise estatística geral do trabalho foi baseada em testes paramétrico e não-paramétrico com o auxílio do programa BioEstat versão 4.0. Para dados paramétricos utilizou-se a análise de variância (ANOVA) comparando-se as médias segundo o teste de Tukey a 5%. Para dados não-paramétricos utilizou-se o teste Kruskal-wallis a 5% de probabilidade.

O teste Kruskal-Wallis é aplicado quando os dados experimentais não são homogêneos. É um teste que auxilia na decisão se as diferenças entre os tratamentos significam diferenças efetivas ou se são apenas variações casuais (Santana & Ranal, 2004).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Germinação e crescimento do gergelim (*S. indicum*) e do rabanete (*R. sativus*) sob efeito do extrato aquoso foliar de cagaita (*E. dysenterica*)

A germinabilidade do gergelim e do rabanete apresentou-se bastante alta, quase 100% mesmo sob efeito do extrato de cagaita, o que pode ser observado na Tabela 1. Comparando-se os controles com os tratamentos 1% e 3% não foi verificada diferença estatística para essas concentrações em ambas as espécies-alvo.

Foi observada pequena diferença no tempo médio de germinação das sementes de gergelim (Tabela 2). Embora nas diluições a 1% e 3% o tempo médio de germinação não tenha diferido estatisticamente em comparação ao controle, este germinou poucas horas antes. Para o rabanete, o tempo médio de germinação em horas foi semelhante tanto para o controle quanto para os tratamentos.

**Tabela 1.** Germinabilidade (%) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%.

Germinabilidade (%)		
Tratamento	Gergelim	Rabanete
Controle	96,66 a*	96,66 a
1%	100,0 a	100,0 a
3%	90,00 a	90,00 a

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Gergelim e rabanete não foram comparados entre si.

**Tabela 2.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%.

Tratamento	Tempo Médio (h)	
	Gergelim	Rabanete
Controle	62,10 a*	24,83 a
1%	66,40 a	25,60 a
3%	66,00 a	25,77 a

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Gergelim e rabanete não foram comparados entre si.

Oliveira *et al.* (2004) não observaram interferências significativas de extratos aquosos de folhas de lobeira na germinação de sementes de gergelim. Da mesma forma, Oliveira & Campos (2006), em seu estudo com extrato aquoso foliar de *Solanum palinacanthum* Dunal., não verificaram efeitos na germinação da mesma espécie. Semelhantemente, sementes de rabanete não tiveram sua germinabilidade significativamente afetada pelos extratos de caule, raiz e fruto de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze (Gatti *et al.*, 2004) e com o extrato de *Andira humilis* Mart. Ex Benth (Periotto *et al.*, 2003).

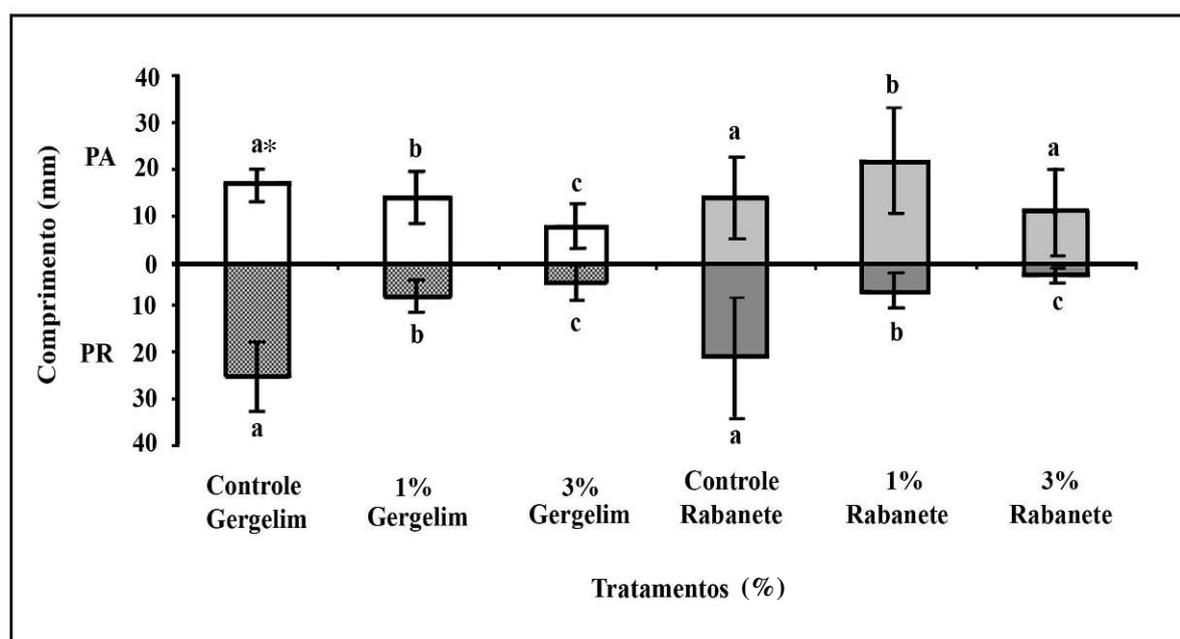
Aires (2007) constatou que a germinabilidade de *Digitaria horizontalis* Willd. (capim-colchão) não foi afetada significativamente por nenhum dos extratos de *Caryocar brasiliense* Camb., *Qualea parviflora* Mart. e *Eugenia dysenterica* DC. e de suas concentrações – 1%, 3% e 5%. Contudo, verificou que as concentrações mais altas dos extratos provocaram um atraso no pico de germinação. Prates *et al.* (2000), Gatti *et al.* (2004) e Correia *et al.* (2005) também não observaram interferências na germinação em seus estudos.

A germinação geralmente é menos afetada pela presença de aleloquímicos provenientes de extratos aplicados em bioensaios que o crescimento. Uma possível explicação para isso pode residir no fato de o processo de germinação utilizar prioritariamente as reservas da própria semente (Miró *et al.*, 1998; Jacobi e Ferreira, 1991). Essa dependência das reservas

internas poderia fazer com que a germinação fosse menos suscetível a fatores exógenos como, por exemplo, a presença de aleloquímicos no ambiente. Também existe a possibilidade de que, durante o processo de embebição das sementes, muitos dos aleloquímicos presentes nos extratos fiquem retidos pelos tegumentos protetores do embrião, não chegando até ele em concentrações significativas a ponto de interferir na sua expansão.

Pelos parâmetros analisados (germinabilidade e tempo médio de germinação), o efeito alelopático do extrato de cagaita não se mostrou expressivo, entretanto, pode se expressar em relação a outros parâmetros do processo germinativo como, velocidade média de germinação e alterações na curva de distribuição da germinação (Ferreira & Aquila, 2000). Outros parâmetros podem, futuramente, ser verificados para maior precisão de interpretação.

O crescimento das plântulas em extrato aquoso de cagaita está representado (Figura 1).



**Figura 1.** Comprimento (mm) da parte radicular (PR) e parta aérea (PA) de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%. Barras representam o desvio padrão.

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  para PA e Kruskal-Wallis  $\alpha = 0,05$  para PR (n=30 plântulas/tratamento). As comparações foram feitas separadamente entre parte aérea e radicular bem como para gergelim e rabanete.

Observou-se que o sistema radicular de ambas as espécies foi mais significativamente afetado, principalmente na concentração do extrato a 3% e, morfológicamente, mostraram-se mais sensíveis à presença do extrato foliar de cagaita que as partes aéreas. A diferença entre os tratamentos para a parte radicular e aérea do gergelim foi bastante relevante. Nitidamente ocorreu uma redução no tamanho geral das plântulas conforme o aumento da concentração do extrato.

Em comparação com o controle, os tratamentos (1% e 3%) resultaram em uma redução radicular do gergelim de 70% e 82% respectivamente (Figura 2). No tratamento a 3%, as raízes de gergelim apresentaram somente um terço do comprimento radicular em comparação com aquelas crescidas em água ( $p < 0,0001$ ). A diferença entre os tratamentos a 3% e 1% não foi tão drástica, porém, considerável ( $p = 0,0438$ ). Para o rabanete, a redução radicular também foi significativa para ambas as diluições do extrato. O extrato diluído a 1% reduziu o crescimento do sistema radicular das plântulas de rabanete em torno de 70% enquanto que a 3%, cerca de 87% em relação ao controle ( $p < 0,0020$ ).

Tanto para as plântulas de gergelim quanto para as plântulas de rabanete foram observadas diferenças significativas entre as diluições do extrato foliar de cagaita. Em ambos os casos, a resposta radicular seguiu um padrão similar de inibição dose-dependente.

As partes aéreas das plântulas de gergelim e rabanete se mostraram menos sensíveis ao efeito inibidor do extrato (Figura 3). De forma menos drástica que a raiz, a parte aérea das plântulas de gergelim também exibiu uma redução significativa e dose-dependente de seu comprimento. O tratamento a 1% inibiu o crescimento da parte aérea em torno de 17% e a 3%, cerca de 53%. O mesmo padrão não foi observado para as plântulas de rabanete. Ao contrário do gergelim, o extrato foliar a 1% estimulou o crescimento da parte aérea do rabanete em torno de 59% em comparação com o controle ( $p < 0,01$ ). Já o extrato a 3% não

resultou em diferença significativa do controle. Dessa forma, a parte aérea do rabanete não sofreu inibição pelo contato com o extrato.

Pelos resultados descritos constatou-se que o processo de crescimento das plântulas de gergelim e rabanete foi mais afetado pela presença do extrato de cagaita que a germinação. No crescimento, as partes radiculares foram as mais afetadas. Estudos sobre o crescimento de raízes de plântulas de alfalfa e “*barnyard grass*” tratadas com aleloquímicos mostraram que a germinação dessas espécies foi menos afetada que seu crescimento e que o crescimento radicular foi mais inibido que o dos hipocótilos (Chon *et al.*, 2002).

A sensibilidade radicular aos aleloquímicos é bem documentada em literatura sendo uma das características que melhor indica a ação alelopática de extratos vegetais (Ferreira & Aquila, 2000; Oliveira, 2003; Ferreira, 2004; Maraschin-Silva & Aquila, 2005).

É sabido que os efeitos alelopáticos podem variar quanto a sua intensidade, devido a fatores tais como concentração de aleloquímicos, temperatura e outras interações. Geralmente os efeitos causados tendem a ser mais diretamente dependentes da concentração dos aleloquímicos, ou seja, tendem a ser mais acentuados em concentrações mais altas (Maraschin-Silva & Aquila, 2006). Extratos aquosos de folhas de *C. brasiliense*, *Q. parviflora* e *E. dysenterica* sobre crescimento de *D. horizontalis* não só afetaram negativamente o crescimento das raízes tratadas, como também, esse efeito foi dose-dependente (Aires, 2007).

Ferreira & Aquila (2000) relataram, em seu estudo, que o crescimento radicular das espécies de alface, arroz, cenoura, chicória, couve, pepino, repolho e tomate foi inibido proporcionalmente à concentração dos extratos de frutos e folhas de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. – maricá. Outros estudos também corroboram a relação dose-dependente encontrada em extratos com potencial alelopático em relação a plântulas submetidas aos mesmos (Pires *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2004; Periotto *et al.*, 2003).

Referente à parte aérea, as plântulas de gergelim seguiram um padrão similar ao das raízes, com inibição do crescimento, ainda que mais suave e dose-dependente. Todavia, nas plântulas de rabanete foi observado um estímulo ao crescimento. Fato similar foi verificado por Jerônimo (2006) que observou um incremento na porcentagem de crescimento dos hipocótilos de gergelim tratados com extrato de folhas de lobeira a 1%. Semelhantemente, Carmo *et al.* (2007) constataram que o extrato da casca da raiz de *Ocotea odorífera* (Vell.) Rohwer. (Lauraceae – canela-sassafrás) estimulou o crescimento da parte aérea de plântulas de sorgo.

Aparentemente, a maior parte, senão todos os compostos orgânicos que são inibitórios em alguma concentração para determinadas partes das plantas, podem ser estimulantes quando presentes em determinadas faixas de concentração para outros órgãos (Rice, 1984).

### **3.2 Efeito do pH – germinação e crescimento**

Em geral, não houve diferença significativa na germinabilidade das sementes de gergelim submetidas a extratos com pH 4,7 – valor normal do extrato – e com extrato em pH 7,0 – valor corrigido do extrato (Tabela 3).

Apenas os controles, quando comparados entre si, mostraram diferença estatística ( $p=0,0495$ ). Tal diferença pode ter ocorrido devido a questões de variabilidade genética ou, simplesmente, condições experimentais adversas visto que as sementes pertenciam ao mesmo lote. O tempo médio de germinação do gergelim foi pouco afetado pela variação de pH dos extratos de cagaita (Tabela 4).

**Tabela 3.** Germinabilidade (%) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0.

Tratamento	Germinabilidade (%)	
	Gergelim pH 4,7	Gergelim pH 7,0
Controle	100,0 aA*	86,66 aB
1%	96,66 aA	96,66 aA
3%	96,66 aA	90,00 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Kruskal-Wallis  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre os tratamentos em um mesmo valor de pH. Letras maiúsculas – comparação entre tratamentos de diferentes valores de pH.

**Tabela 4.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0.

Tratamento	Tempo Médio (h)	
	Gergelim pH 4,7	Gergelim pH 7,0
Controle	62,40 aA*	63,70 aA
1%	62,90 aA	63,80 aA
3%	63,72 aA	66,66 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre os tratamentos em um mesmo valor de pH. Letras maiúsculas – comparação entre tratamentos de diferentes valores de pH.

Com o pH 4,7 os tratamentos a 1% e 3% e o controle não diferiram estatisticamente entre si quanto ao tempo médio de germinação. Com pH 7,0 também não ocorreram diferenças estatisticamente significativas embora o tempo médio de germinação a 3% tenha sido o de maior valor.

As Tabelas 5 e 6 mostram a germinabilidade e o tempo médio de germinação das sementes de rabanete tratadas com extrato foliar de cagaita com pH 4,7 e pH ajustado para 7,0. Como descrito para o gergelim, não foram observadas diferenças significativas do efeito do extrato em função da mudança de seu pH nos parâmetros analisados.

**Tabela 5.** Germinabilidade (%) de sementes rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0.

Tratamento	Germinabilidade (%)	
	Rabanete pH 4,7	Rabanete pH 7,0
Controle	96,66 aA*	100,0 aA
1%	100,0 aA	96,66 aA
3%	93,33 aA	93,33 aA

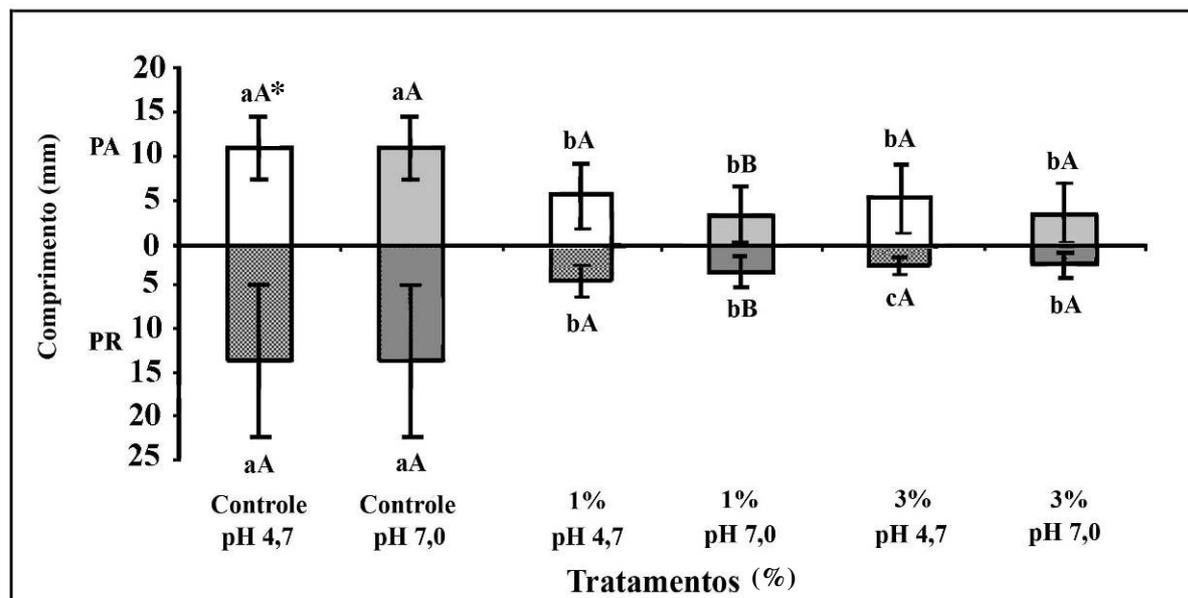
\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Kruskal-Wallis e Tukey  $\alpha = 0,05$ , respectivamente. (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre os tratamentos em um mesmo valor de pH. Letras maiúsculas – comparação entre tratamentos de diferentes valores de pH.

**Tabela 6.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0.

Tratamento	Tempo Médio (h)	
	Rabanete pH 4,7	Rabanete pH 7,0
Controle	25,65 aA*	28,80 aA
1%	24,00 aA	24,83 aA
3%	27,43 aA	30,00 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Kruskal-Wallis e Tukey  $\alpha = 0,05$ , respectivamente. (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre os tratamentos em um mesmo valor de pH. Letras maiúsculas – comparação entre tratamentos de diferentes valores de pH.

Com relação ao desenvolvimento do gergelim sob efeito do extrato de cagaita com pH ajustado para 7,0 e pH 4,7, os resultados são mostrados na Figura 2. Nos tratamentos com extrato pH 4,7 observou-se uma inibição significativa e dose-dependente do crescimento radicular de 71% e 89% para os extratos diluídos a 1% e 3% ( $p < 0,0003$ ), respectivamente. Já para os extratos com pH 7,0, o tratamento com extrato a 1% inibiu o crescimento das raízes em 83% e o extrato a 3%, em 88%, não diferindo estatisticamente entre si. Quando analisado o efeito dos diferentes valores de pH nas mesmas concentrações de extrato, em geral, verificou-se uma inibição aproximada para os dois valores de pH. Apenas no tratamento a 1% houve diferença estatisticamente significativa.



**Figura 2.** Comprimento (mm) da parte radicular (PR) e parte aérea (PA) de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0. Barras representam o desvio padrão.

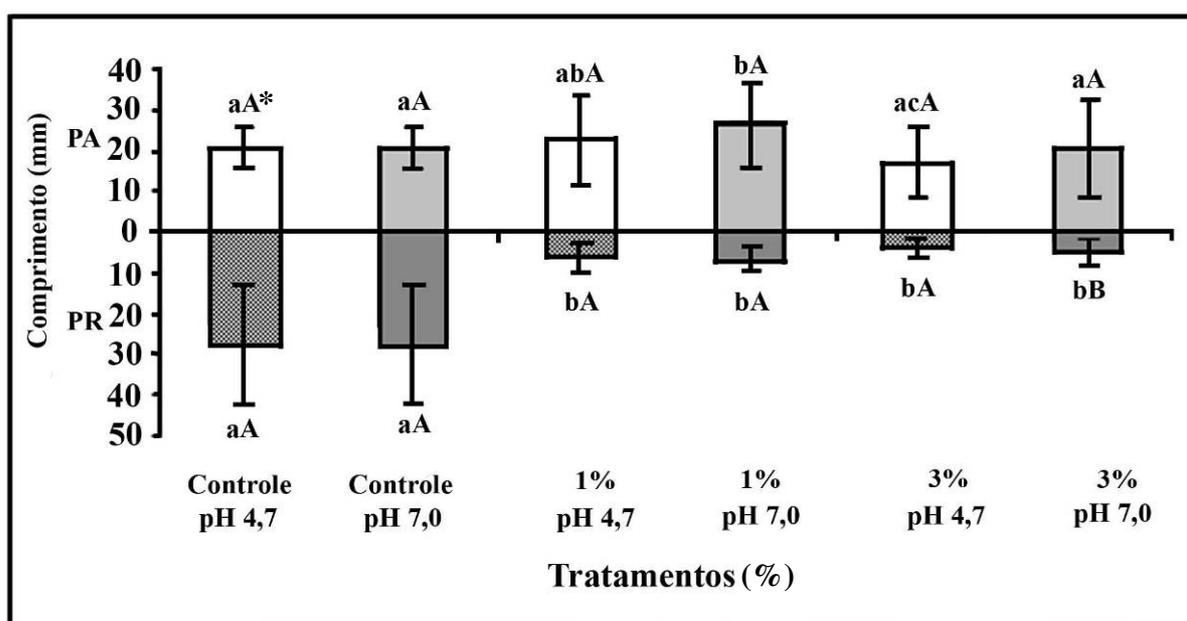
\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes (maiúsculas – entre partes aéreas ou radiculares de um mesmo tratamento; minúsculas – entre PAs e PRs de diferentes tratamentos) segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  para PA e Kruskal-Wallis  $\alpha = 0,05$  para PR ( $n=30$  plântulas/tratamento). As comparações foram feitas separadamente entre parte aérea e radicular.

Quanto à parte aérea do gergelim (Figura 2), o efeito inibitório dos extratos com pH 4,7 e pH 7,0 foi similar, ou seja, a diferença de pH dos extratos não teve influência importante nos resultados observados. Em pH 4,7, nos tratamentos a 1% e 3%, a inibição do crescimento da parte aérea foi de 41% e 61% respectivamente. Em pH 7,0, a inibição foi em torno de 70% para ambos os tratamentos. Em nenhuma das duas concentrações de extrato houve uma resposta dose-dependente visto que não se verificou um efeito inibitório mais acentuado a 3%. A diferença de pH somente foi observada no tratamento a 1% para a parte radicular com um valor ligeiramente significativo.

Os resultados do gergelim mostraram que o crescimento do sistema radicular foi mais afetado que a parte aérea. Especificamente com relação ao pH dos extratos, não se observou

nenhuma tendência de alteração da resposta alelopática apesar do tratamento a 1% ( $p= 0,0023$ ).

No teste com plântulas de rabanete (Figura 3), observou-se que os resultados foram bastante similares aos obtidos com plântulas de gergelim em relação ao crescimento das raízes das plântulas tratadas. Tanto para os extratos de pH 4,7 e 7,0, as concentrações 1% e 3% inibiram o crescimento das raízes em cerca 74% e 83% em relação ao controle, sem, contudo, evidenciar uma resposta dose-dependente visto que não houve diferença estatística dos tratamentos entre si – diferiram apenas de seus controles ( $p<0,01$ ). Como observado com gergelim, a diferença de pH não teve influência no efeito alelopático dos extratos sobre o crescimento das partes radiculares das plântulas de rabanete (Figura 3).



**Figura 3.** Comprimento (mm) da parte radicular (PR) e parta aérea (PA) de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% ajustadas para pH 4,7 e pH 7,0. Barras representam o desvio padrão.

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes (maiúsculas – entre partes aéreas ou radiculares de um mesmo tratamento; minúsculas – entre PAs e PRs de diferentes tratamentos) segundo o teste de Kruskal-Wallis  $\alpha = 0,05$  ( $n=30$  plântulas/tratamento). As comparações foram feitas separadamente entre parte aérea e radicular.

Em relação à parte aérea, o extrato foliar de cagaita mostrou uma tendência em estimular o crescimento da parte aérea do rabanete para os diferentes valores de pH (Figura 3). O extrato a 1% com pH 4,7 estimulou levemente (8,2%) o crescimento da parte aérea do rabanete, contudo, sem diferir estatisticamente do controle. O extrato a 3% com pH 4,7, ao contrário, inibiu o crescimento diferindo estatisticamente apenas do tratamento a 1% ( $p < 0,01$ ). No caso dos tratamentos em pH ajustado para 7,0, consistentemente com os resultados anteriores, o extrato a 1% estimulou o crescimento da parte aérea em torno de 27% em relação ao controle ( $p = 0,0006$ ). Já no tratamento com extrato a 3%, houve uma pequena inibição (1,5%), contudo, sem diferir significativamente do controle. Como observado nos experimentos aqui descritos, em relação ao crescimento da parte aérea do rabanete, o pH também não mostrou diferenças significativas na resposta alelopática.

No geral, as respostas do sistema radicular e aéreo, tanto de gergelim quanto do rabanete, mostraram-se mais afetadas pela concentração do extrato do que pelas variações de pH. As partes aéreas demonstraram comportamentos diferentes em função da concentração do extrato foliar de cagaita.

A caracterização físico-química dos extratos vegetais utilizados em bioensaios é importante para que se possa concluir a respeito dos efeitos biológicos observados em tais ensaios (Carmo *et al.*, 2007). Dentre essas características, a avaliação do pH e do potencial osmótico do extrato é de fundamental importância visto que em sua constituição possa haver açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, íons e outras moléculas os quais podem influenciar sua concentração iônica ou serem osmoticamente ativos (Ferreira, 2004).

Aires (2007) demonstrou que a osmolaridade do extrato de cagaita foi insuficiente para prejudicar de forma grave o desenvolvimento e a germinação de quatro espécies testadas afastando, assim, qualquer possibilidade de interferência osmótica nos efeitos alelopáticos de tal extrato. Por esse motivo, não houve necessidade de serem realizados novos testes com o

potencial osmótico das folhas de cagaita já que os extratos, neste trabalho, foram feitos nas mesmas condições do experimento conduzido por esse autor.

Quanto às variações de pH, os dados disponíveis sobre germinação, em geral, mostram que variações extremas de pH – valores de pH iguais ou inferiores a 3,0 e iguais ou superiores a 9,0 – podem influenciar negativamente a germinação e o desenvolvimento de plântulas (Souza Filho *et al.*, 1996).

Ferreira (1976) estudou o efeito de variações de pH sobre a germinação de sementes de *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze – marica – e observou que valores de pH fora do padrão normal para a espécie (pH 4 e 8) resultaram em má formação das plântulas. Em pH 6 e 7 as plântulas se desenvolveram bem, sendo parecidas com as do controle. Entretanto, não foi esse padrão observado para gergelim e rabanete nos experimentos com variações de pH. No caso dessas plantas-alvo, nem a germinação nem o crescimento foram consideravelmente influenciados pela variação do pH do extrato foliar de cagaita.

Em relação ao crescimento, semelhantemente ao gergelim e rabanete, outros estudos também mostraram que os efeitos dos extratos aplicados sobre diferentes plântulas-alvo estavam diretamente relacionados à ação direta de aleloquímicos presentes nestes, e que alterações no pH não influenciaram os resultados (Souza Filho *et al.*, 1996; Souza Filho *et al.*, 1997; Periotto *et al.*, 2003; Chon & Boo, 2004; Gatti *et al.*, 2004; Correia *et al.*, 2005; Maraschin-Silva & Aquila, 2005; Carmo *et al.*, 2007).

O fato de o pH estar associado a variações na disponibilidade de elementos/nutrientes em solução (Malavolta, 1980), podendo influenciar nas respostas de bioensaios, revela a necessidade de verificar se existe influência ou não do pH.

### 3.3 Teste do extrato aquoso de *E. dysenterica* com folhas secas/frescas – germinação e crescimento

Nesse experimento – que visou comparar a efetividade alelopática dos extratos preparados com folhas secas e frescas de cagaita – sobre a germinação de sementes de gergelim e rabanete, os dados obtidos mostraram que nem a germinabilidade nem o tempo médio de germinação das espécies-alvo apresentaram quaisquer diferenças significativas em relação à secagem ou não das folhas (Tabelas 7, 8, 9 e 10).

**Tabela 7.** Germinabilidade (%) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas.

Tratamento	Germinabilidade (%)	
	Gergelim Folha Seca	Gergelim Folha Fresca
Controle	90,00 aA*	93,33 aA
1%	93,33 aA	96,66 aA
3%	86,66 aA	93,33 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre tratamentos. Letras maiúsculas – comparações entre os extratos.

**Tabela 8.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas.

Tratamento	Tempo Médio (h)	
	Gergelim Folha Seca	Gergelim Folha Fresca
Controle	64,90 aA*	63,00 aA
1%	66,00 aA	68,70 aA
3%	65,50 aA	67,70 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre tratamentos. Letras maiúsculas – comparações entre os extratos.

**Tabela 9.** Germinabilidade (%) de sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas.

Tratamento	Germinabilidade (%)	
	Rabanete Folha Seca	Rabanete Folha Fresca
Controle	96,66 aA*	100,0 aA
1%	96,66 aA	100,0 aA
3%	93,33 aA	93,33 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey e Kruskal-Wallis  $\alpha = 0,05$ , respectivamente. (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre tratamentos. Letras maiúsculas – comparações entre os extratos.

**Tabela 10.** Tempo médio de germinação (h) de sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações de extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas.

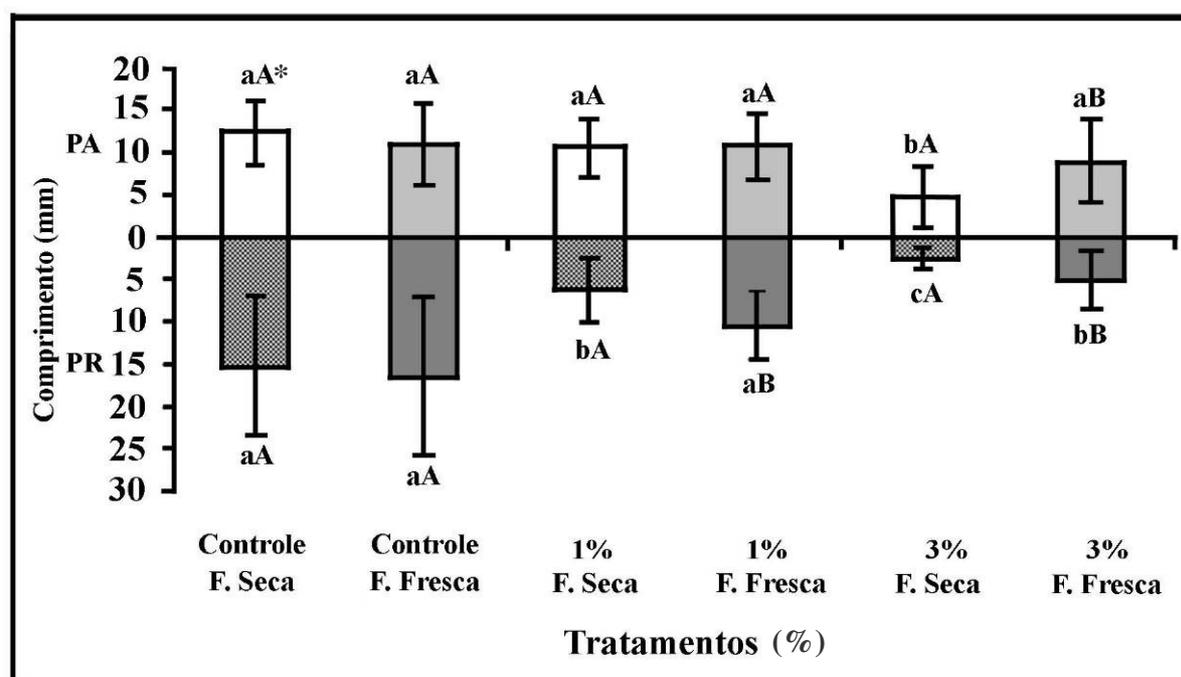
Tratamento	Tempo Médio (h)	
	Rabanete Folha Seca	Rabanete Folha Fresca
Controle	24,83 aA*	27,75 aA
1%	26,48 aA	25,60 aA
3%	28,00 aA	30,00 aA

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento). Letras minúsculas – comparações entre tratamentos. Letras maiúsculas – comparações entre os extratos.

O crescimento das plântulas de gergelim e rabanete sob a influência dos extratos de folhas frescas e secas é mostrado nas Figuras 4 e 5. A parte radicular das plântulas de gergelim crescidas em extrato de folhas secas foi fortemente inibida, de forma dose-dependente ( $p < 0,0001$ ), comparada com o controle (Figura 4). O extrato de folhas secas a 1% reduziu o crescimento das raízes em 59% e o extrato a 3% em 85%. Na presença do extrato de folhas frescas o crescimento das raízes teve uma inibição de 36% e 69% para os tratamentos a 1% e 3% ( $p < 0,0001$ ), respectivamente. Comparando-se os extratos de folha seca e fresca, observou-se que este último foi significativamente menos efetivo na inibição do crescimento radicular das plântulas de gergelim, tanto para a concentração a 1% quanto a 3%.

O crescimento da parte aérea das plântulas de gergelim foi notadamente menos afetado pelos extratos de folhas secas e frescas. No tratamento com o extrato de folhas secas somente as plântulas submetidas ao extrato a 3% apresentaram uma diferença significativa, com inibição de 63% em relação ao controle ( $p < 0,01$ ).

Não se verificou efeito de concentração quanto ao extrato de folhas frescas sobre o crescimento da parte aérea do gergelim. No tratamento a 3% houve uma pequena redução do crescimento – cerca de 18% – que, contudo, não foi estatisticamente diferente do controle. A análise do efeito do tipo de extrato (folhas secas/frescas) mostrou uma redução significativa do crescimento apenas no tratamento a 3% ( $p < 0,001$ ).



**Figura 4.** Comprimento (mm) da parte aérea (PA) e parte radicular (PR) de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas. Barras representam o desvio padrão.

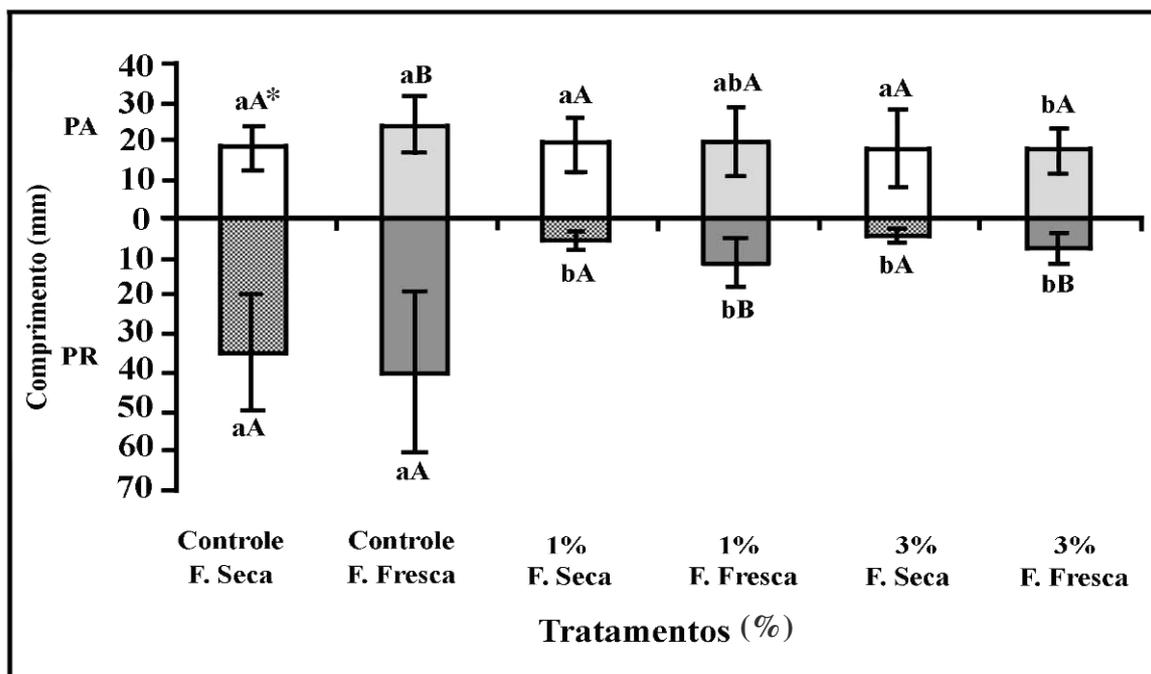
\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes (maiúsculas – entre partes aéreas ou radiculares de um mesmo tratamento; minúsculas – entre PAs e PRs de diferentes tratamentos) segundo o teste de Tukey para partes aéreas e Kruskal-Wallis para partes radiculares ambos  $\alpha = 0,05$  ( $n=30$  plântulas/tratamento). As comparações foram feitas separadamente entre parte aérea e radicular.

Em relação ao crescimento das plântulas de rabanete, o extrato de folhas secas de cagaita induziu forte redução do sistema radicular desta espécie em comparação com o controle (Figura 5). Não houve diferença estatística entre os tratamentos a 1% e 3% com folhas secas, ambos reduziram o crescimento do sistema radicular em cerca de 84% e 86,5%, respectivamente, em comparação ao controle ( $p < 0,0001$ ).

Com o extrato de folhas frescas, a redução do crescimento das raízes foi menor. A 1%, o extrato de folhas frescas reduziu o crescimento das raízes em 71,5% em relação ao controle ( $p < 0,0001$ ). Na presença do extrato de folhas frescas a 3%, as raízes de rabanete ficaram 82,5% mais curtas ( $p < 0,0001$ ). Referente ao efeito alelopático do tipo de extrato utilizado, ficou claro que o extrato de folhas frescas foi substancialmente menos efetivo que o de folhas secas na inibição da parte radicular (Figura 5).

Como nos experimentos anteriores, a parte aérea do rabanete foi menos afetada pela presença dos extratos de folhas de cagaita que as raízes. Todavia, não foi observado estímulo ao crescimento da parte aérea como visto previamente, ao contrário, ocorreu uma leve redução de crescimento em comparação com o controle. Provavelmente, essa diferença entre os bioensaios tenha sido causada por alguma eventualidade experimental.

O extrato de folhas secas não induziu diferenças significativas de crescimento, independentemente da concentração (Figura 5). Na presença de extrato de folhas frescas o crescimento da parte aérea das plântulas de rabanete não foi muito diferente do que foi observado com o de folhas secas. Em relação ao controle – folhas frescas – somente o extrato a 3% foi significativo, com uma inibição média de 27% no crescimento da parte aérea. No caso específico do crescimento da parte aérea do rabanete, não se verificou diferenças no efeito alelopático entre extrato de folhas secas e frescas.



**Figura 5.** Comprimento (mm) da parte aérea (PA) e parte radicular (PR) de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações do extrato aquoso de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas. Barras representam o desvio padrão.

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes (maiúsculas – entre partes aéreas ou radiculares de um mesmo tratamento; minúsculas – entre PAs e PRs de diferentes tratamentos) segundo o teste de Tukey para partes aéreas e Kruskal-Wallis para partes radiculares ambos  $\alpha = 0,05$  ( $n=30$  plântulas/tratamento). As comparações foram feitas separadamente entre parte aérea e radicular.

Consistente com as observações dos experimentos anteriores, nem o processo de germinação nem o tempo médio de germinação foram significativamente afetados pela presença de extrato foliar de cagaita, sua concentração, pH, ou forma de preparo. O crescimento, diferentemente, foi fortemente afetado pela concentração do extrato e pela sua forma de preparo.

Apesar de alguns trabalhos mostrarem que extratos foliares de algumas plantas possuem maior efeito alelopático quando as folhas são utilizadas *in natura*, ou seja, sem a secagem em estufa (Prates *et al.*, 2000; Piña-Rodrigues & Lopes, 2001; Gatti *et al.*, 2004; Goetze & Thomé, 2004; Javaid *et al.*, 2006; Cuchiara *et al.*, 2007), no caso dos extratos de folhas de cagaita secas e frescas, os dados mostraram que este último afetou em menor escala

o desenvolvimento de plântulas de gergelim e rabanete principalmente no crescimento das raízes.

Resultados semelhantes foram observados nos estudos com extratos secos/frescos de eucalipto e tabaco no crescimento de plântulas de alface e brócolis. Nesse estudo, os extratos elaborados a partir de folhas secas apresentaram efeitos prejudiciais em maior escala sobre as plântulas tratadas, que os provenientes de folhas frescas (Goetze & Thomé, 2004). Outros estudos corroboram com o uso de folhas secas na preparação de extratos (Oliveira *et al.*, 2004; Campos, 2006; Aires, 2007; Carmo *et al.*, 2007).

O material seco pode apresentar maior potencial alelopático caso as substâncias não sejam destruídas durante sua secagem. É provável que na secagem do material, a integridade das membranas celulares seja comprometida, facilitando a liberação dos aleloquímicos para o meio. Contudo, o maior poder alelopático associado ao extrato com folhas secas pode ser resultado também da utilização de uma quantidade maior de matéria seca para a composição do extrato quando comparado ao elaborado com folhas frescas (Jacobi & Ferreira, 1991), simplesmente por este último conter mais água. Isso aparentemente ocorreu o extrato de cagaita.

Pelo cálculo do teor de umidade das folhas de cagaita foi verificado que as folhas secas apresentaram um peso médio de 14,7g (SD±0,06), ou seja, cerca da metade do peso das folhas frescas recém-colhidas, cujo peso médio foi de 31,8g (SD±0,12). Dessa forma, considerando-se a utilização do mesmo peso de folhas para o preparo dos extratos (p/v), os extratos preparados com folhas secas apresentaram conteúdo relativo de matéria seca significativamente superior aos extratos preparados com folhas frescas, logo, com maior quantidade de potenciais agentes alelopáticos.

Provavelmente, por tais motivos, no caso de *M. bimucronata*, o material seco apresentou maior poder alelopático (Jacobi & Ferreira, 1991). Contudo, dependendo da

natureza do inibidor que exerce papel alelopático sobre outras espécies, o material de folhas frescas pode ser mais eficiente (Kil & Yim, 1983 apud Jacobi & Ferreira, 1991). No mais, existem variações que são relacionadas com a espécie e a parte da planta utilizada nos extratos que podem responder diferentemente ao potencial inibitório de um determinado extrato (Javaid *et al.*, 2006).

### 3.4 Caracterização morfológica

Também foi realizada uma análise das características morfológicas das plântulas de gergelim e rabanete tratadas com os extratos foliares aquosos de cagaita. Nas tabelas 11 e 12 estão quantificadas as porcentagens de plântulas que apresentaram pêlos radiculares e raízes laterais para ambas as espécies.

Para o gergelim, 100% das plântulas do controle apresentaram pêlos radiculares. Tanto nas concentrações a 1% e 3% ocorreu uma redução – dose-dependente – do número de plântulas com pêlos radiculares para 86,7% e 26,7%, respectivamente. Todavia, apenas no tratamento com extrato a 3%, essa redução foi significativa ( $p < 0,001$ ) em relação aos demais tratamentos (Tabela 11).

**Tabela 11.** Porcentagem de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) com pêlos radiculares, com raízes laterais e quantidade média de raízes laterais por tratamento. Plântulas tratadas com extrato de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) por cinco dias em diferentes concentrações (1% e 3%) e água como controle.

Tratamento	Plântulas com pêlos radiculares (%)	Plântulas com raízes laterais (%)	Quantidade média de raízes laterais
Controle	100,0 a*	90,0 a	**3,6 ± 2,01 a
1%	86,7 a	83,3 a	3,6 ± 2,46 a
3%	26,7 b	60,0 b	1,8 ± 1,78 b

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Tukey para o número de plântulas que apresentaram raízes laterais e quantidade média de raízes laterais por tratamento. Kruskal-Wallis para o número de plântulas que apresentaram pêlos absorventes. Ambos os testes  $\alpha = 0,05$  (n=30 plântulas/tratamento).

\*\* Valores médios seguidos pelo seu desvio padrão.

Apesar de não ter ocorrido diferença significativa na porcentagem de plântulas com pêlos radiculares entre o controle o tratamento a 1%, visualmente, o aspecto destas últimas dava a clara impressão que tinham uma menor quantidade de pêlos que o controle (Figura 7A). Observação similar pôde ser feita também para o tratamento a 3%, tanto em relação ao controle quanto ao tratamento a 1%.

Referente ao número de plântulas com raízes laterais, foi observado um padrão semelhante ao verificado para os pêlos radiculares (Tabela 11). Para o controle, 90% das plântulas tinham raízes laterais. Para o tratamento a 1%, a presença de raízes laterais foi verificada em 83,3% das plântulas observadas. A 3%, apenas 60% das plântulas continham raízes laterais. Ficou claro que o aumento da concentração do extrato resultou em uma significativa redução do número de plântulas com raízes laterais ( $p < 0,001$ ). Tendência semelhante foi verificada com o número de raízes laterais por plântula/por tratamento. O número de raízes laterais foi de 3,6 raízes no controle e no tratamento a 1%, e 1,8 raízes no tratamento a 3%.

Para o rabanete, a porcentagem de plântulas com pêlos radiculares teve um comportamento semelhante ao do gergelim. Em média, 70% das plântulas crescidas em água apresentaram pêlos radiculares (Tabela 12). Já os tratamentos com extrato diluído a 1% e a 3% esse valor caiu para 53,3% e 10%, respectivamente. Estatisticamente, somente se verificou diferença no extrato a 3% em relação aos demais ( $p < 0,0001$ ). No aspecto visual, no extrato a 1% e 3%, as plântulas tinham menos pêlos radiculares o controle (Figura 7B). Além disso, foi observado nos tratamentos que os pêlos se mostravam com uma distribuição em agregados isolados, bastante diferente do padrão observado nas plântulas do controle.

**Tabela 12.** Porcentagem de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) com pêlos radiculares, com raízes laterais e quantidade média de raízes laterais por tratamento. Plântulas tratadas com extrato de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) por cinco dias em diferentes concentrações (1% e 3%) e água como controle.

Tratamento	Plântulas com pêlos radiculares (%)	Plântulas com raízes laterais (%)	Quantidade média de raízes laterais
Controle	70,0 a*	93,3 a	**1,7 ± 1,50 a
1%	53,3 a	33,3 b	1,1 ± 1,66 b
3%	10,0 b	23,3 b	0,3 ± 0,52 b

\*Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes segundo o teste de Kruskal-Wallis para todos os parâmetros calculados com  $\alpha = 0,05$  (n=30 plântulas/tratamento).

\*\* Valores médios seguidos pelo seu desvio padrão.

Foi observada uma drástica redução do número de plântulas tratadas de rabanete que apresentaram raízes laterais em comparação com o controle (p=0,0008 para 1% e p<0,0001 para 3%). Para ambas as concentrações, 1% e 3%, o número de plântulas com raízes laterais foi de 33,3% e 23,3%, respectivamente. A quantidade média de raízes laterais por plântula também foi significativamente reduzida de forma dose-dependente.

Como visto, as plântulas de gergelim e rabanete mostraram alterações morfológicas sob o efeito do extrato foliar de cagaita. Essa diferença se manifestou mais visivelmente nas raízes onde se verificou a redução de pêlos radiculares e número de raízes laterais (Figura 7A, B). Em todos os casos a diminuição do número de plântulas com pêlos radiculares foi proporcional à concentração do extrato.

Aires (2007) verificou considerável redução na porcentagem de plântulas de *Z. mays* e *B. pilosa*, com presença de pêlos radiculares, sob efeito dos extratos de pequi, cagaita e pau-terra. Semelhantemente, Miró *et al.* (1998) verificaram uma redução na quantidade de pêlos absorventes em radículas de milho tratadas com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate) considerando tal redução, um sensível indicador do efeito alelopático em bioensaios.

O fato de as plântulas tratadas com extrato de cagaita, ainda produzirem raízes laterais, porém, em menor quantidade que o controle, indica que esse evento possa estar relacionado com distúrbios no balanço hormonal (Dayan *et al.*, 2000). O envolvimento de substâncias alelopáticas com o balanço de hormônios é um mecanismo comum de interferência alelopática (Souza Filho & Alves, 2002). Estudos realizados por Brunn *et al.* (1992) mostraram que flavonóides inibiram o transporte de auxina em raízes de tomate levando a um distúrbio em seus níveis normais, o que resultou na indução de raízes laterais e na supressão do crescimento gravitrópico da raiz.

Oliveira e colaboradores (2004) e Jerônimo (2006) também verificaram em seus estudos que plântulas de gergelim tratadas com extrato de lobeira apresentaram redução no tamanho médio radicular, na presença de raízes laterais e de pêlos radiculares. Aires (2007) verificou que todas as plântulas submetidas ao extrato de *E. dysenterica* apresentaram redução significativa no número médio de raízes laterais por plântula além de escurecimento dos tecidos radiculares.

Os efeitos na redução do tamanho radicular, na presença de raízes laterais e de pêlos absorventes, comumente observados em plântulas submetidas a extratos, podem afetar a absorção eficiente de nutrientes pelas plântulas (Raven *et al.*, 2001) afetando seu desenvolvimento. No ambiente Cerrado, onde ter uma raiz profunda é essencial para sobrevivência, tais reduções poderiam comprometer o estabelecimento dessas plântulas (Abdala *et al.*, 1998). Quando o desenvolvimento de outra espécie é prejudicado, a espécie favorecida pode se estabelecer pelo fato de menor pressão de competição (Jacobi & Ferreira, 1991).

Plântulas de gergelim e rabanete apresentaram escurecimento das partes que estavam em contato com o extrato, que assumiram uma tonalidade marrom (Figura 7A, B). O escurecimento de porções radiculares também foi observado em plântulas de picão preto,

capim gordura, capim colchão submetidas ao extrato de cagaita (Aires, 2007). Semelhantemente, o aspecto de escurecimento radicular foi observado nos tratamentos com extratos de *Dodonaea viscosa* Jacq. e plântulas de alface (Maraschin-Silva & Aquila, 2005).

Geralmente, o escurecimento de tecidos é associado com um processo de necrose. Contudo, Jerônimo (2006) mostrou que o efeito causado pelo extrato de lobeira no escurecimento das raízes das plântulas de gergelim pôde ser revertido quando as mesmas foram lavadas e transferidas para placas com água destilada. Os tecidos escurecidos não estavam necrosados, um provável acúmulo de fenóis promoveu a alteração da cor.

Segundo Jerônimo (2006) e Aires (2007), o termo necrose – morte provocada por dano físico, químicos ou outra lesão externa que leve à morte celular (Taiz & Zeiger, 2004) – talvez não seja o mais apropriado para definir o escurecimento com coloração típica do tecido radicular visto que esse termo se refere a tecidos mortos e o teste de reversibilidade comprovou que os tecidos estavam vivos. Além disso, este escurecimento radicular tem sido atribuído a danos oxidativos pelos aleloquímicos presentes no extrato aplicado (Weir *et al.*, 2004). Já Cruz-Ortega *et al.* (1998) relataram que o endurecimento e escurecimento dos ápices radiculares são evidências de alterações morfológicas e ultra-estruturais causadas por fitotoxinas.

Borghetti *et al.* (2005) verificaram que extratos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., *Trembleya parviflora* Cogn. e *Eugenia dysenterica* DC. inibiram a produção de pêlos e, em alguns casos, interferiram na curvatura gravitrópica das plântulas de gergelim tratadas. Semelhantemente, Oliveira *et al.* (2004) observaram ausência de pêlos radiculares, redução de raízes laterais e gravitropismo alterado de plântulas de gergelim tratadas com extrato de lobeira.

O efeito do extrato sobre a resposta gravitrópica das plântulas foi também observado nesse estudo, tanto com gergelim quanto com rabanete. As raízes de plântulas tratadas com o

extrato de cagaita tenderam a crescer no sentido contrário àquele apresentado pelas plântulas do controle. Chon *et al.* (2000), sugeriram que esse comportamento poderia ser uma tentativa da planta de evitar o contato com aleloquímicos. No entanto, tal suposição precisa ser melhor investigada.



**Figura 6.** Plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) crescidas durante cinco dias em água (controle) e em diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). Concentrações em porcentagem: 0 (água), 1% e 3%. **A)** Plântulas de gergelim. **B)** Plântulas de rabanete.

#### 4. CONCLUSÕES

1. O extrato aquoso de cagaita não afetou a germinabilidade nem o tempo médio de germinação do gergelim e do rabanete.
2. O extrato aquoso de cagaita apresentou propriedades alelopáticas sobre o crescimento das plântulas tratadas.
3. As porções radiculares são mais sensíveis ao extrato de cagaita e sua concentração que as partes aéreas tanto para o gergelim quanto para o rabanete.
4. O pH não afetou a germinação nem o crescimento das espécies-alvo indicando que as respostas encontradas foram provenientes do(s) efeito(s) do(s) aleloquímico(s) presente(s) no extrato de cagaita.
5. O processamento do extrato com folhas secas/frescas não interferiu na germinação e no tempo médio de germinação das sementes de gergelim e rabanete. Contudo, o crescimento respondeu diferentemente ao processamento.
6. O extrato proveniente de folhas frescas afetou o desenvolvimento do gergelim e do rabanete em menor escala tanto a parte aérea como radicular. Os extratos de folhas secas de cagaita demonstraram ser mais efetivos que os de folhas frescas.
7. O extrato aquoso foliar de cagaita induziu alterações morfológicas em ambas as espécies-alvo como: redução dose-dependente da quantidade de plântulas com pêlos radiculares e raízes laterais, redução da quantidade média de raízes laterais por plântula, escurecimento dos tecidos radiculares e respostas gravitrópicas alteradas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdala, G.C.; Caldas, L.S.; Haridasan, M.; Eiten, G. Above and below-ground organic matter and root-shoot ratio in cerrado in central Brazil. **Brazilian Journal of Ecology**, v.2: 11-23, 1998.
- Aires, S.S. **Potencial alelopático de espécies nativas do Cerrado na germinação e desenvolvimento inicial de invasoras**. Dissertação de mestrado. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2007.
- Aires, S.S.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2: 339-344, 2005.
- Borghetti, F. Ecofisiologia da germinação das sementes. **Revista Universa**, v. 8: 149-179, 2000.
- Borghetti, F. & Ferreira, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: A.G. Ferreira & F. Borghetti. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre. Ed. Artmed, 209-224, 2004.
- Borghetti, F.; Silva, L.C.R.; Pinheiro, J.D.; Varella, B.B.; Ferreira, A.G. Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil. In: **Allelopathy: Establishing the scientific base**. Fourth World Congress. Charles Sturt University – NSW Austrália. 2005.
- Brito, M.A.; Pereira, E.B.C.; Pereira, A.V.; Ribeiro, J.F. **Cagaita: biologia e manejo**. Planaltina. DF: Embrapa Cerrados. 80p, 2003.
- Brunn, S.A.; Muday, G.K.; Haworth, P. Auxin transport and the interaction of phytohormones. **Plant Physiology**, v. 98: 101-107, 1992.
- Campos, M.L. **Alelopatia em *Solanum palinacanthum* Dunal (Solanaceae)**. Monografia de bacharelado em Ciências Biológicas. Centro de Ciências da Educação e Humanidades. Pró-reitoria de Graduação – UCB, 2006.
- Carmo, F.M.S.; Borges, E.E.L.; Takaki, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorífera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3: 697-705, 2007.
- Chon, S. -U. & Boo, H.-O. Difference in Allelopathic Potential as Influenced by root periderm colour of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 191: 75-80, 2004.
- Chon, S. -UK.; Coutts, J.H.; Nelson, C.J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v. 92: 715-720, 2000.

- Chon, S. -UK.; Choi, S. -Kyu.; Jung, S.; Jang, H. -Gi.; Pyo, B. -Sik; Kim, S. -Min. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. **Crop Protection**, v. 21: 1077-1082, 2002.
- Correia, N.M.; Centurion, M.A.P.C.; Alves, P.L.C.A. Influência de extratos aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3: 498-503, 2005.
- Cuchiara, C.C.; Borges, C.S.; Sopezki, M.S.; Souza, S.A.M.; Bovrowski, V.L. Efeito antiproliferativo dos extratos aquosos de mamona (*Ricinus communis* L.). Nota Científica. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 5, supl. 2: 639-641, 2007.
- Cruz-Ortega, R.; Anaya, A.N.; Hernández-Bautista.; Laguna-Hernández, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n.12: 2039-2057, 1998.
- Dayan, F.E.; Romagni, J.G. & Duke, S.O. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9: 2079-2094, 2000.
- Einhellig, F.A. Interaction involving allelopathy in crop systems. **Agronomy Journal**, v. 88: 886-893, 1996.
- Ferreira, A.G. Germinação de sementes de *Mimosa bimucronata* (DC.) OK. (maricá) – Efeito da escarificação e do pH. **Ciência e Cultura**, v. 28, n.10: 1201-1204, 1976.
- Ferreira, A.G. Interferência, competição e alelopatia. In: A.G. Ferreira & F. Borghetti. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 251-262, 2004.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** (Edição especial): 175-204, 2000.
- Gatti, A.B.; Perez, S.C.J.G.A.; Lima, M.I.S. Atividade alelopática dos extratos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n. 3: 459-472, 2004.
- Giotto, A.C.; Oliveira, S.C.C.; Silva, J.P.G. Efeito alelopático de *Eugenia dysenterica* Mart. Ex DC. Berg. (Myrtaceae) na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). Nota Científica. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 5, supl. 2: 600-602, 2007.
- Gliessman, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFGRS. 653 p, 2000.
- Goetze, M. & Thomé, G.C.H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1: 43-50, 2004.
- Inderjit & Dakshini, K.M.M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 61: 28-44, 1995.

- Jacobi, U.S. & Ferreira, A.G. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 7, n. 26: 935-943, 1991.
- Javaid, A.; Shafique, S.; Bajwa, R.; Shafique, S. Effect of aqueous extracts of allelopathic crops on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. **South African Journal of Botany**, v. 72: 609-612, 2006.
- Jerônimo, C.A. **Efeitos do extrato aquoso de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hil no desenvolvimento inicial e na síntese protéica de plântulas de *Sesamum indicum* L.** Dissertação para obtenção do título de mestre. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2006.
- Labouriau, L. G. **A germinação das sementes.** Washington. D.C: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos (O.E.A.). 174 p, 1983.
- Lovett, J. & Ryuntyu, M. Allelopathy: broadening the context. In: S.J.H. Rizvi; V. Rizvi. **Allelopathy: basic and applied aspects.** London: Chapman Hall: 11-19, 1992.
- Malavolta, E. **Elementos de nutrição mineral das plantas.** São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 1980.
- Maraschin-Silva, F. & Aquila, M.E.A. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia**, Série Botânica. Porto Alegre, v. 60, n.1: 91-98, 2005.
- Maraschin-Silva, F. & Aquila, M.E.A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.20, n. 1: 61-69, 2006.
- Mazzafera, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2: 231-236, 2003.
- Miró, C.P.; Ferreira, A.G.; Aquila, M.E.A. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 8: 1261-1270, 1998.
- Oliveira, S.C.C. **Alelopatia em *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae).** Dissertação de mestrado. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2003.
- Oliveira, S.C.C.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3: 401-406, 2004.
- Oliveira, S.C.C. & Campos, M.L. Allelopathic effects of *Solanum palinacanthum* leaves on germination and seedling growth of *Sesamum indicum*. **Allelopathy Journal**, v. 18, n. 2: 331-338, 2006.
- Orr, S.P.; Rudgers, J.A.; Clay, K. Invasive plants can inhibit native tree seedlings: testing potential allelopathic mechanisms. **Plant Ecology**. DOI 10.1007/s11258-005-5698-6, 2005.

- Paula, J.A.; Rocha, J.B.; Nascimento, P.M.S.; Rezende, M.H.; Paula, J.R. Estudo farmacognóstico da casca de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum – Myrtaceae. **Revista Eletrônica de Farmácia**, supl., v. 3, n. 2:1-3, 2006.
- Periotto, F.; Perez, S.C.J.G.A.; Lima, M.I.S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3: 401-406, 2003.
- Piña-Rodrigues, F.C.M & Lopes, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1: 130-136, 2001.
- Pires, N.M.; Souza, I.R.P.; Prates, H.T.; Faria, T.C.L.; Filho, I.A.P.; Magalhães, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1: 55-65, 2001.
- Prates, H.T.; Paes, J.M.V.; Pires, N.M.; Filho, I.A.P.; Magalhães, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 35, n.5: 909-914, 2000.
- Raven, P.H.; Evert, R.F.; Eichhorn, S.E. **Biologia Vegetal**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro- RJ. 6ªed, 2001.
- Rice, E.L. **Allelopathy**. 2ªed. Academic Press. New York, 1984.
- Santana, D.G. & Ranal, M.A. **Análise da germinação – um enfoque estatístico**. Brasília: Ed. Universidade de Brasília. 248p, 2004.
- Soares, G.L.G.; Scalon, V.R.; Pereira, T.O.; Vieira, D.A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 9, n. 1: 199-126, 2002.
- Souza Filho, A.P.S.; Rodrigues, L.R.A.; Rodrigues, T.J.D. Efeito de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. **Planta Daninha**, v. 14, n. 2: 93-100, 1996.
- Souza Filho, A.P.S.; Rodrigues, L.R.; Rodrigues, T.D. Inibição da germinação e alongamento da radícula de invasoras de pastagens pelos extratos aquosos de gramíneas forrageiras tropicais. Nota científica. **Pasturas tropicais**, Cali, Colômbia, v. 19, n. 1: 45-50, 1997.
- Souza Filho, A.P.S. & Alves, S.M. Função dos agentes alelopáticos nas plantas. In: A.P.S. Souza Filho; S.M. Alves. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental: 15-23. 2002.
- Souza Filho, A.P.S.; Santos, R.A.; Santos, L.S.; Guilhon, G.M.P.; Santos, A.S.; Arruda, M.S.P.; Muller, A.H.; Arruda, A.C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**. Viçosa – MG, v. 24, n. 4: 649-656, 2006.

Souza, L.M.; Canini, G.B.; Aires, S.S.; Borghetti, F. Efeito alelopático de quatro espécies do Cerrado sobre crescimento do gergelim. Nota Científica. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 5, supl. 2: 540-542, 2007.

Taiz, L. & Zeiger, E. **Fisiologia Vegetal**. Ed. Artmed. São Paulo- SP. 3ªed. 719p, 2004.

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

**Estudos morfo-anatômicos das raízes de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete) submetidas ao extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita).**

Giselle de Oliveira Pina<sup>1</sup>, Luiz A. R. Pereira<sup>1\*</sup>, Fabian Borghetti<sup>1</sup> e Conceição E. S. Silveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília.

\* Autor correspondente

## RESUMO

*Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae), popularmente conhecida como cagaita, possui uma ampla distribuição no Cerrado. Essa espécie possui efeito alelopático. Algumas das características observadas em plântulas tratadas com extrato de cagaita foram a redução do comprimento radicular, redução do número de plântulas com pêlos radiculares e com raízes laterais, escurecimento tecidual das raízes em contato com o extrato e interferência no gravitropismo. Os objetivos deste estudo foram investigar, em nível estrutural e ultra-estrutural, alterações morfo-anatômicas radiculares em plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) crescidas em extratos aquosos foliares de cagaita. Objetivou-se, também, verificar os efeitos do extrato sobre a formação dos estatólitos da coifa de ambas as espécies-alvo pelo fato de o extrato de cagaita afetar o gravitropismo. Para a obtenção das raízes para análise anatômica quinze sementes de cada espécie-alvo foram germinadas e crescidas em placas de petri contendo 12 mL de água destilada (controle) e extratos aquosos de cagaita a 1% e 3%. Os extratos aquosos foram preparados a partir de folhas previamente secas (50 °C/24 h), trituradas e ressuspensas em água destilada para as concentrações finais de 1% e 3% (p/v). As plântulas foram incubadas em câmara de germinação a 25 °C - rabanete e 30 °C - gergelim com fotoperíodo de 12 h. A cada 24 h, a partir da germinação de cada espécie, durante cinco dias, houve fixação do material em paraformaldeído 4%, glutaraldeído 2% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M. Após a fixação, sua preparação ocorreu conforme a especificidade de cada técnica de microscopia. Foram obtidos cortes para microscopia óptica (transversais e longitudinais de ápices radiculares), microscopia eletrônica de varredura (JEOL JEM 840A), de transmissão (JEOL 1011) e testes histoquímicos (cloreto férrico e sulfato ferroso). Anatomicamente, observou-se necrose da epiderme e córtex radicular nas regiões escurecidas de contato com o extrato (presença de taninos no extrato), hipertrofia do parênquima cortical e diferenciação precoce do xilema (responsáveis pelo aumento de diâmetro), alterações no tamanho e formato da coifa e nos estatólitos (mudanças na resposta gravitropica). Devido a importância da coifa na regulação e no controle de vários mecanismos do desenvolvimento radicular, além da resposta gravitacional, sua alteração talvez seja o ponto mais importante da ação dos aleloquímicos presentes no extrato de cagaita visto que esta possa ser a base de grande parte das anormalidades observadas nas raízes tratadas.

**Palavras Chaves:** alelopatia, *Eugenia dysenterica*, morfo-anatomia, amiloplastos, estatólitos, *Sesamum indicum*, *Raphanus sativus*.

**Morpho-anatomical studies of *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – sesame) and *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – radish) roots subjected to aqueous leaf extract of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita).**

Giselle de Oliveira Pina<sup>1</sup>, Luiz A. R. Pereira<sup>1\*</sup>, Fabian Borghetti<sup>1</sup> and Conceição E. S. Silveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Department of Botany, Biological Science Institute, University of Brasilia.

\* Corresponding author

## ABSTRACT

*Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae), popular known as cagaita, is a very widespread species in Cerrado. This specie has allelopathic effects. Some characteristics noticed in treated seedlings with cagaita leaves extract were reduced root lenth, reduced number of seedlings with root hair and with lateral roots, root darkness regions in contact with the extract and gravitropic interference. The aims of this study were to investigate the morpho-anatomical root alterations in seedlings of sesame (*Sesamum indicum* L.) and radish (*Raphanus sativus* L.) grown in leaf aqueous extract of cagaita in structural and ultra-structural levels. In addition, it was also verified the effects of this extract on the formation of statoliths of the root cap in both targered-species because of the gravitropic altered response. Fifteen seeds of each targered-species were germinated and grown in petri dishes with 12 mL of distilled water (control) and cagaita aqueous extract at 1% and 3%. This extract was prepared from dried leaves (50 °C/24 h), grinded and resuspended in distilled water to final concentrations of 1% and 3% (w/v). The seedlings were incubated in germination chambers at 25 °C (radish) and 30 °C (sesame) with 12 h of photoperiod. 24 h after each specie germination, during five days, the roots were fixed in paraformaldehyde 4%, glutaraldehyde 2% and sodium cacodilato buffer 0,05 M. After the fixing process, the material was prepared according to each microscopy technique. The sections were obtained to optical microscopy (transverse and longitudinal sections from root apex), scanning electron microscopy (JEOL JEM 840A), transmission electron microscopy (JEOL 1011) and histochemical tests (ferric chloride and ferrous sulphate). Anatomically it was observed epidermis and cortical necrosis in darkening regions of roots incubated in the extracts (due to tannins in the extract), there was either hypertrophy of the cortical parenchyma and earlier xylem differentiation (responsible for the increased diameter), lenth and shape root cap alterations as well as statoliths alterations (changed gravitropic responses). Due to the root cap importance in regulation and control of several mechanisms of root development, besides the gravitropic response, its alteration is likely to be the most important region of allelochemical's action and it may be the basis for many of the abnormalities observed in the treated roots.

**Key Words:** allelopathy, *Eugenia dysenterica*, morpho-anatomy, amyloplasts, statoliths, *Sesamum indicum*, *Raphanus sativus*.

## 1. INTRODUÇÃO

Alguns produtos do metabolismo secundário, quando liberados no ambiente, promovem efeitos nocivos ou benéficos ao indivíduo que sofre sua ação (Rice, 1984). Esses compostos são conhecidos como aleloquímicos e seus efeitos como alelopatia (Ferreira & Aquila, 2000). Os aleloquímicos podem ser encontrados em folhas, caules, raízes, frutos, sementes, cascas e inflorescências de plantas, não existindo um padrão na quantidade e distribuição em cada uma dessas partes (Alves *et al.*, 2002).

O local de acúmulo de aleloquímicos nos vegetais provavelmente está relacionado com sua facilidade de liberação para o ambiente e da função que exercerão. Os aleloquímicos situados nos tecidos vegetais mais externos, geralmente, atuam na defesa contra herbívoros e patógenos (Alves *et al.*, 2002). Os que são acumulados mais internamente estão relacionados à competição por recursos entre os vegetais (Alves *et al.*, 2002; Hadacek, 2002). Muitos aleloquímicos já foram isolados, identificados e seus efeitos estudados, não somente na germinação, crescimento ou metabolismo, mas, também, em nível molecular (Ferreira & Aquila, 2000; Ferreira, 2004; Weir *et al.*, 2004).

Os principais grupos de compostos que estão envolvidos em processos alelopáticos são fenóis, taninos, cumarinas, terpenos, alcalóides, quinonas e outros (Inderjit, 1996). Segundo Einhelling (1996), a inibição alelopática resulta da ação combinada desses grupos de aleloquímicos que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos. Nesse contexto, os efeitos morfológicos dos aleloquímicos sobre as plantas são apenas sinalizações secundárias (Ferreira & Aquila, 2000) decorrentes de tais interferências. Pesquisas sobre o efeito de aleloquímicos na anatomia de plântulas são escassos na literatura.

Dayan *et al.* (2000) relataram a interferência de aleloquímicos nas fases de mitose e na formação atípica de parede celular em células da raiz de *Allium cepa* L. (Liliaceae - cebola)

crescida na presença de extrato de *Leucophyllum frutescens* (Berl.) I.M. Johnston (Escrophulariaceae –“purple sage”). Sugeriram que esse distúrbio estava relacionado com uma ruptura na organização dos microtúbulos pela ação dos compostos alelopáticos do extrato.

Plântulas de *Phaseolus vulgaris* L., expostas a exsudatos da raiz de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. (sorgo), que contém sorgoleone (SGL) - um composto com ação alelopática -, mostraram alterações anatômicas em seus caules como: diminuição no número de camadas de células, espessamento da parede celulósica do colênquima, aumento no número de camadas de células parenquimáticas do córtex, diminuição no número e deformação dos elementos de vaso e descontinuidade na bainha amilífera (Hallak *et al.*, 1999).

*Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae), popularmente conhecida como cagaita, foi selecionada para esse estudo por apresentar potencial alelopático comprovado (Borghetti *et al.*, 2005; Aires, 2007; Giotto *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2007). É uma árvore melífera, tanífera, ornamental, que produz frutos comestíveis com propriedades laxativas. É considerada como uma das grandes corticeiras do Cerrado (Almeida *et al.*, 1998; Brito *et al.*, 2003; Silva Júnior, 2005).

Os efeitos morfo-anatômicos dos aleloquímicos presentes no extrato foliar de cagaita sobre plantas-alvo ainda não foram descritos na literatura. Em observações preliminares foi verificado que plântulas de gergelim e rabanete tratadas com o extrato de cagaita apresentaram crescimento radicular reduzido, presença de coloração “marrom” das raízes quando em contato com o extrato, diminuição quantitativa e qualitativa de pêlos e de raízes laterais além de aspecto retorcido – principalmente em extratos mais concentrados. Outros autores também verificaram características semelhantes em seus estudos com outras espécies (Cruz-Ortega *et al.*, 1998; Oliveira *et al.*, 2004; Aires *et al.*, 2005).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae – cagaita) sobre as estruturas anatômicas radiculares de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e de *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete) cultivadas em laboratório.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção das radículas para análise anatômica

Para a obtenção das radículas, sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) variedade negra e de rabanete (*Raphanus sativus* L.), variedade Vip Crimson da marca Feltrin, foram germinadas em placas de Petri. As sementes de gergelim utilizadas nos experimentos foram adquiridas de indivíduos plantados no próprio Laboratório de Termobiologia – UnB e estocadas a -20 °C após sua colheita. Antes da montagem do experimento, as sementes foram descongeladas. As sementes de rabanete, obtidas em lojas de produtos agrícolas, pertenciam ao mesmo lote para minimizar possíveis diferenças no padrão de germinação. Estas não foram congeladas em momento algum.

Para o experimento de germinação foram utilizadas placas de Petri (diâmetro: 15 cm), contendo duas folhas de papel filtro Qualy®, previamente autoclavadas por 20 minutos a 120 °C. Em cada placa foram colocadas 15 sementes da espécie-alvo escolhida (gergelim ou rabanete), extrato aquoso foliar de cagaita diluído a 1% e 3% e água como controle.

O extrato aquoso foliar de cagaita aplicado nos bioensaios de germinação foi obtido da seguinte forma: folhas de *E. dysenterica* foram coletadas e secas em estufa a 50 °C por 24h. Em seguida, foram trituradas com auxílio de um liquidificador até a obtenção de macerado em consistência de pó. O extrato foi preparado com o acréscimo de água destilada ao triturado obtendo-se uma concentração final de 5 % (p/v) de extrato – 5 g de macerado em 100 mL de água destilada – sendo este incubado a  $6 \pm 2$  °C para minimizar a contaminação por fungos e bactérias, e durante 24h para a extração dos aleloquímicos (Ferreira & Aquila, 2000). Subsequentemente, o extrato foi filtrado em papel filtro Whatman nº 1 e imediatamente utilizado na montagem do ensaio de germinação (Jacobi & Ferreira, 1991; Pinã-Rodrigues & Lopes, 2001).

O extrato bruto obtido a 5% (p/v) foi diluído para concentrações a 1% e 3%. Doze mililitros de cada diluição foram adicionados às placas e, então, depositadas as sementes das espécies-alvo. Subsequentemente, as placas foram lacradas com filme plástico e acondicionadas aleatoriamente na câmara de germinação do tipo B.O.D. (Marconi MA 403) com temperatura ajustada para 25 °C (rabanete) e 30 °C (gergelim) e fotoperíodo de 12h.

A cada dia, uma placa referente ao controle e referente aos extratos a 1% e 3% foram retiradas para cada espécie e as plântulas fixadas para futuros cortes anatômicos. O período de coleta decorreu por cinco dias consecutivos em horários pré-estabelecidos, ou seja, no mesmo horário de coleta do primeiro dia.

A primeira coleta foi ajustada de acordo com o tempo médio de germinação de cada espécie. A primeira coleta das amostras ocorreu para o rabanete cerca de 18h  $\pm$  2 enquanto que para o gergelim cerca de 28h  $\pm$  2 após a montagem do experimento. Para as duas espécies, as retiradas subsequentes foram feitas a cada intervalo de 24h.

Os experimentos de germinação foram desenvolvidos no Laboratório de Termobiologia L.G. Labouriau do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília (UnB) enquanto que as análises anatômicas foram conduzidas nos Laboratórios de Anatomia Vegetal e de Microscopia Eletrônica.

## **2.2 Cortes anatômicos – preparação histológica**

O material vegetal coletado foi selecionado de forma a conter as plântulas que mais representavam os efeitos alelopáticos do extrato de cagaita, evitando-se a coleta de casos extremos. Ápices radiculares de gergelim e rabanete provenientes dos tratamentos (1% e 3%) e do controle (água) foram fixados em solução fixadora composta por: paraformaldeído 4%, glutaraldeído 2% em tampão cacodilato de sódio 0,05 M com pH 7,1. Os espécimes foram deixados em vácuo por 1h. Retirado do vácuo, o material foi lavado em água destilada e

depositado novamente em fixador permanecendo resfriado a 4 °C por 24h. Em seguida, o material foi lavado em água destilada mais uma vez e transferido para tampão cacodilato de sódio (0,01 M) – continuando resfriado – até que todas as coletas tivessem sido realizadas.

Após a fixação, o material foi lavado em água destilada e desidratado em série etílica crescente (Johansen, 1940), clareado em xilol, infiltrado e emblocado em pastilhas de histosec (Merck) – material similar à parafina, porém, com maior plasticidade.

Subsequentemente, os ápices radiculares foram seccionados no plano longitudinal e transversal (cortes seriados) com espessura variando entre 5 à 7 µm e 10 µm, respectivamente. As amostras foram seccionadas em micrótomo rotatório Leica modelo RM 2145. Os cortes foram distendidos e aderidos às lâminas utilizando-se água destilada. As lâminas contendo os cortes foram deixadas sobre placa histológica a 45 °C até sua secagem completa. Logo em seguida foram acondicionadas em estufa à mesma temperatura por 48h.

Finalizando o processo, os cortes foram desparafinizados (Johansen, 1940), e corados com corante Safranina e Azul de Toluidina e o meio de montagem usado foi Entellan (Merck). Após a secagem, as lâminas foram fotografadas em fotomicroscópio Zeiss modelo Axioskop. As escalas foram preparadas com o auxílio de uma lâmina micrométrica.

### **2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Para ambas as espécies-alvo, três radículas de cada tratamento (controle, 1% e 3%), referentes ao 1º, 3º e 5º dia de crescimento, foram fixadas como descrito para microscopia óptica. As raízes já fixadas passaram, então, por um processo de pós-fixação para a microscopia de varredura que foi iniciado com duas lavagens prévias em tampão cacodilato 0,1 M e finalizado com a deposição do material em tetróxido de ósmio e tampão cacodilato 0,05 M – na proporção de 1:1 – por 1h, no escuro. Após essa etapa, procedeu-se com nova lavagem em tampão cacodilato 0,05 M e lavagem final com água destilada.

Terminada a pós-fixação, as amostras foram desidratadas em acetona (30, 50, 70, 90 e 100%) e secas ao ponto crítico em um equipamento Balzers CPD 30. Posteriormente, as raízes foram colocadas em um porta-espécimen, cobertas com ouro em um metalizador Balzers SCD 050 e observadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JEM 840A a 10 KV. As fotografias foram feitas em máquina digital.

#### **2.4 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)**

Raízes de gergelim e rabanete, dos tratamentos 1%, 3% e do controle, dos dias 3 e 5 foram fixadas para microscopia eletrônica de transmissão. A fixação ocorreu conforme descrito para microscopia eletrônica de varredura. Todavia, a pós-fixação foi realizada com tetróxido de ósmio diluído em ferracianeto de potássio (1:1). Posteriormente, o material foi contrastado em bloco em acetato de uranila 0,5%, no escuro, a 4 °C “*overnight*”.

As amostras foram desidratadas em uma série crescente de acetona e gradualmente infiltradas em resina “*Spurr*”. Após a infiltração, as mostras foram colocadas em resina (100%) e levadas à estufa, a 60 °C, por 48h para sua polimerização.

Cortes ultrafinos foram obtidos em ultramicrotomo Reichert Supernova – Leica, com espessura de 50 a 90 nm. Telinhas de cobre de 150 mesh foram utilizadas para a coleta dos cortes. Terminados os cortes, nova contrastação foi feita com acetato de uranila e citrato de chumbo, por 40 e 15 minutos, respectivamente. As amostras foram observadas em microscópio eletrônico de transmissão modelo Jeol 1011, e as imagens adquiridas com o auxílio de câmara digital GATAN UltraScan.

#### **2.5 Testes histoquímicos**

Testes histoquímicos foram feitos, para a identificação de compostos fenólicos, em secções de material fresco cortado com auxílio de micrótomo de mesa modelo R. Jungag

Heidelberg. Os cortes frescos obtidos foram reagidos com duas soluções: sulfato ferroso que produz coloração verde bem escuro na presença de taninos condensados e outros compostos fenólicos, e cloreto férrico que produz coloração negro-azulada ou verde escuro com compostos fenólicos como os taninos (Kraus & Arduin, 1997; Johansen, 1940). Cortes controles foram obtidos sem aplicação de qualquer reagente. Após as reações, lâminas foram montadas e imediatamente fotografadas em fotomicroscópio Zeiss modelo Axioskop.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análise morfo-anatômica do efeito dos extratos de cagaita (*E. dysenterica*) na estrutura radicular de gergelim (*S. indicum*) e de rabanete (*R. sativus*).

##### 3.1.1 Morfologia das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato foliar de cagaita

As Figuras 1 e 2 mostram a morfologia externa das regiões apicais das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato de cagaita (1% e 3%) e respectivos controles. Foi observado que as raízes tratadas apresentaram menor comprimento e maior diâmetro que aquelas crescidas em água. Outra característica verificada nas micrografias foi em relação ao desenvolvimento de pêlos radiculares nas raízes das duas espécies-alvo. Ao contrário do que foi observado no estudo anterior, onde houve redução no número de plântulas com pêlos radiculares em relação aos seus controles, as micrografias de varredura mostraram que todas as plântulas examinadas continham pêlos radiculares, ainda que de tamanho diminuto (Figuras 1G-I e 2H-I).

Adicionalmente, nas plântulas tratadas de gergelim (Figura 1G-H) e rabanete (Figura 2G-I) foi observado um espessamento da raiz ao longo de sua extensão e, nas plântulas de rabanete, foi verificada uma pronunciada curvatura radicular, mesmo aquelas com apenas um dia de crescimento sob efeito do extrato de cagaita (Figura 2 G-I).

Oliveira *et al.* (2004) e Jerônimo (2006) observaram uma diminuição dose-dependente de pêlos radiculares em plântulas de gergelim tratadas com extrato de lobeira. Resultados semelhantes foram verificados no capítulo anterior em relação à presença de pêlos radiculares tanto em plântulas de gergelim como de rabanete sob efeito do extrato de cagaita. Contudo, a ausência de pêlos nas raízes de algumas plântulas tratadas com aleloquímicos talvez não seja uma resposta alelopática universal visto que as micrografias eletrônicas de varredura revelaram a presença de pêlos radiculares em todos os tratamentos. Dessa forma, existe a

possibilidade de que todas as plântulas de gergelim e rabanete tratadas com extrato de cagaita possuam pêlos radiculares e estes se diferenciem precocemente, não sendo, portanto, visualizados mesmo com auxílio de lupa.

O crescimento reduzido da raiz e o aumento característico do córtex radicular parecem ser respostas típicas de raízes tratadas com aleloquímicos. Esse fato é bem documentado na literatura (Hallak *et al.*, 1999; Pires *et al.*, 2001; Soares *et al.*, 2002; Oliveira, 2003; Aliotta *et al.*, 2004). De forma similar ao observado com gergelim e rabanete nesse estudo, o extrato de *Salvia leucopylla* Greene. aplicado em plântulas de *Cucumis sativus* L. (pepino) resultou em uma diminuição considerável do comprimento das raízes tratadas, principalmente na maior concentração do extrato, quando comparadas às raízes controles, caracterizando-se como uma resposta dose-dependente (Muller & Hauge, 1967).

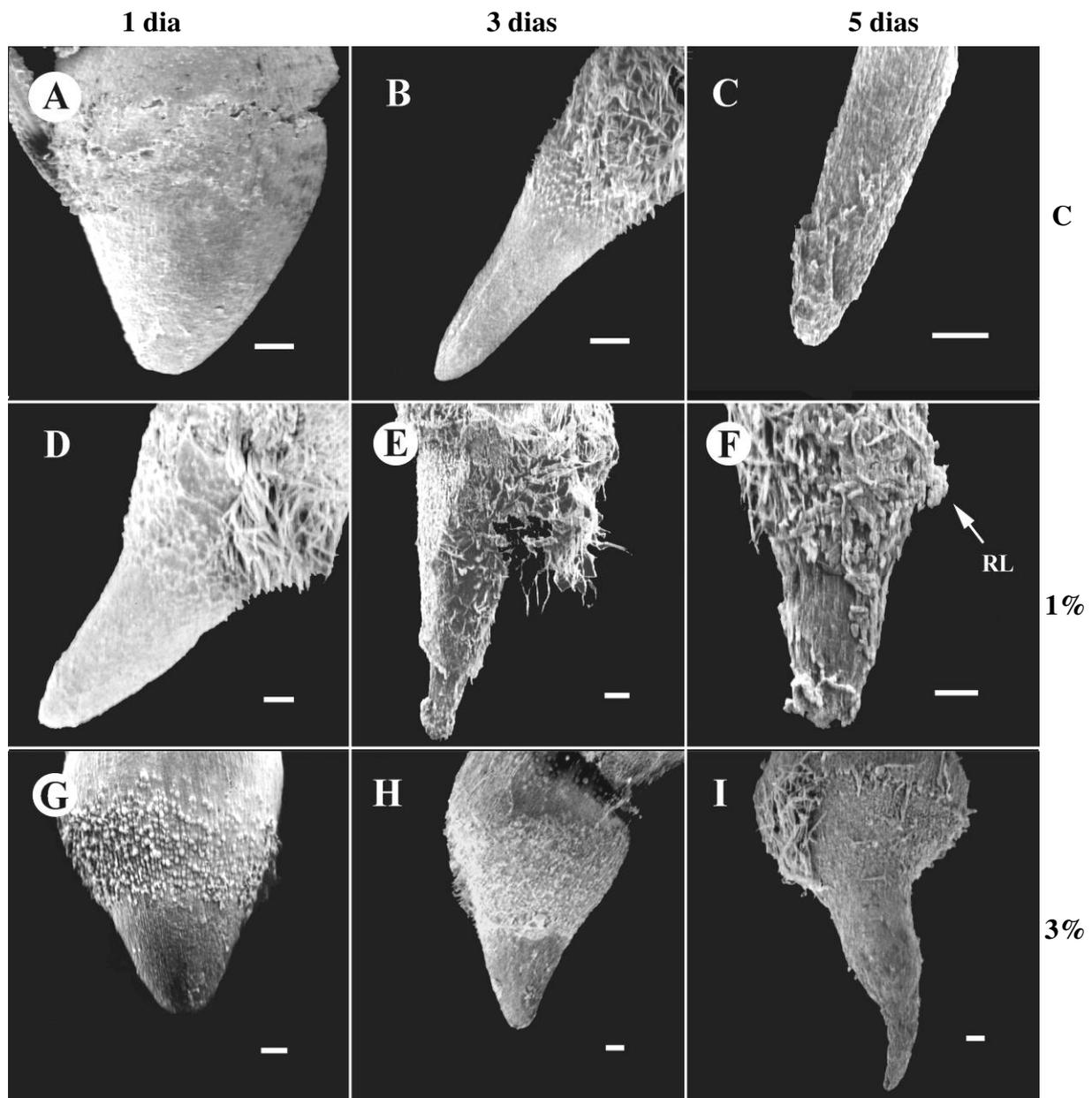
Em outro estudo, sobre o efeito alelopático de *Sicyos deppei* G. Don. – Ericaceae – no crescimento radicular de feijão e abóbora, a exposição ao extrato aquoso resultou em aumento da espessura das raízes em comparação com o controle (Cruz-Ortega *et al.*, 1998). Em outras espécies vegetais também foram verificadas reações semelhantes como nas raízes de alfafa e “*barnyard grass*” em presença de extrato foliar de alfafa (Chon *et al.*, 2002).

Em muitas plantas, tanto o aumento de diâmetro das raízes como a hipertrofia do hipocótilo e a formação de pêlos radiculares estão associadas à formação endógena de etileno devido a algum tipo de estresse (Jackson, 1985; Lorteau *et al.*, 2001, Zhang *et al.*, 2003). Plântulas crescidas na presença de inibidores de etileno bem como mutantes insensíveis ao mesmo, exibem uma redução na formação de pêlos radiculares sugerindo que esse hormônio atue como um regulador positivo na diferenciação dos pêlos (Taiz & Zeiger, 2004).

Qualquer tipo de lesão, resfriamento, moléstias, temperatura ou estresse hídrico, pode induzir a biossíntese de etileno (Taiz & Zeiger, 2004). A presença de aleloquímicos no meio de crescimento das plântulas de gergelim e rabanete pode ser considerada um estresse, pelo

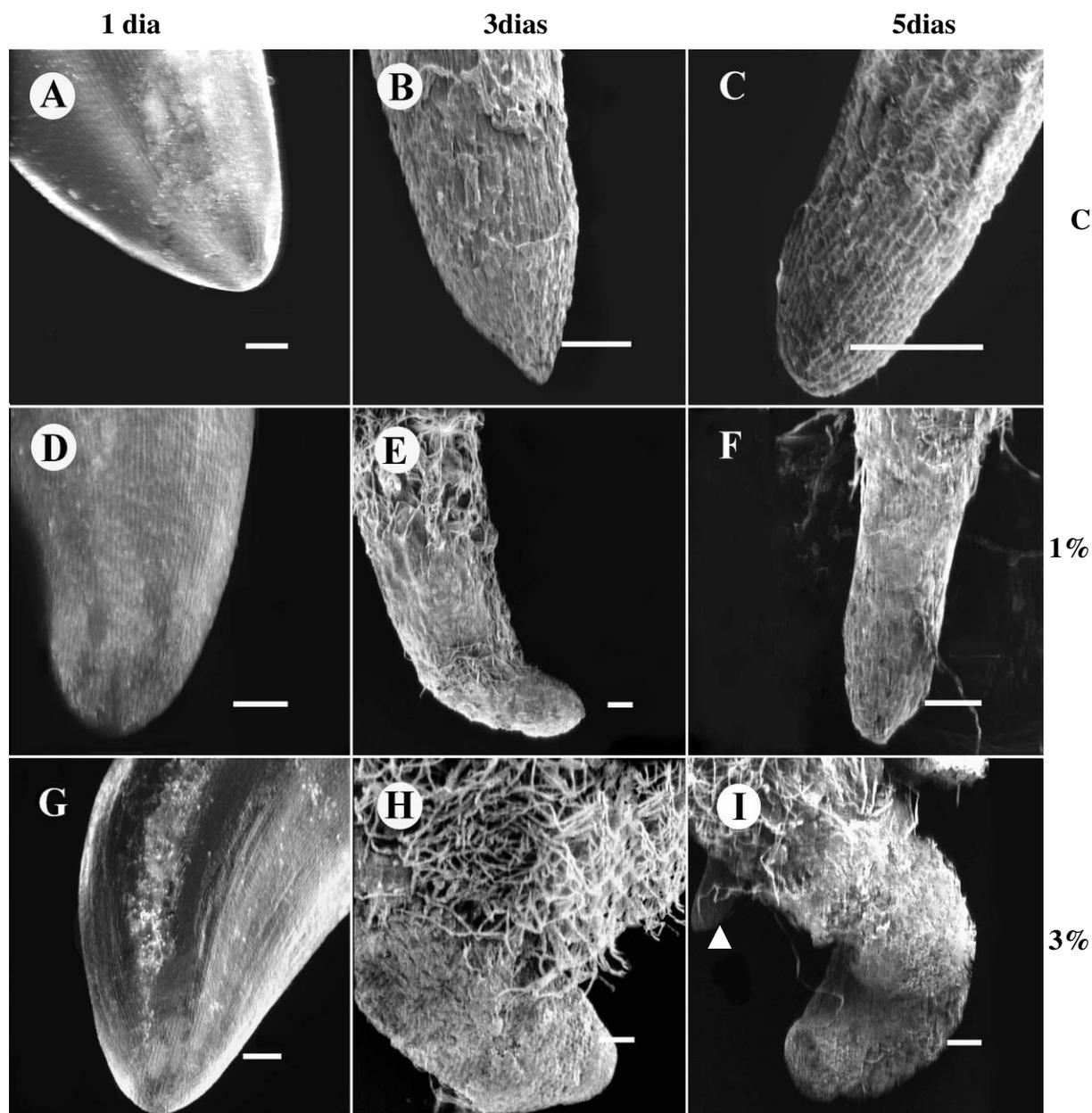
fato de as raízes reagirem negativamente à presença do extrato no meio. Todavia, é necessário que o envolvimento de etileno, e possivelmente de outros hormônios vegetais relacionados ao processo de morfogênese e da arquitetura das raízes, seja profundamente investigado no contexto da resposta alelopática.

Alguns autores também têm associado esse pouco crescimento das raízes com fatores tais como a inibição da divisão e do alongamento celular devido à presença de aleloquímicos em extratos. Isso foi observado no bioensaio com o extrato de milheto aplicado em plântulas de alfafa (Saxena *et al.*, 1995). Outro estudo mostrou que o comprimento radicular de plântulas de milho foi reduzido em consequência da diminuição do índice mitótico na presença do extrato de leucena (Pires *et al.*, 2001). Assim, é possível que os aleloquímicos possam agir de diferentes formas sobre a atividade do meristema apical da raiz. Contudo, os autores não fizeram comentários sobre os aspectos fisiológicos que estariam envolvidos nessa diminuição da divisão celular ou da atividade meristemática. Uma provável causa seria o envolvimento de hormônios vegetais, cujo balanço poderia estar alterado pelos aleloquímicos.



**Figura 1.** Microscopia eletrônica de varredura do ápice das raízes de plântulas gergelim (*Sesamum indicum* L.) crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) diluído a 1% e 3%, mostrando o efeito do extrato na morfologia externa das raízes. **A-C)** Raízes de plântulas crescidas em água. **D-F)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita a 1%. **G-I)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita a 3%.

**A-C)** Aspecto das raízes de gergelim crescidas em água com um, três e cinco dias de idade respectivamente. **D-F)** Raízes de gergelim tratadas com extrato de cagaita a 1% com um, três e cinco dias de idade respectivamente. Note a distribuição irregular de pêlos radiculares (E). Note o surgimento de raiz lateral em meio aos pêlos radiculares (F-seta). **G-I)** Raízes de gergelim tratadas com extrato de cagaita a 3% com um, três e cinco dias de idade respectivamente. Barra de escala = 100  $\mu$ m.

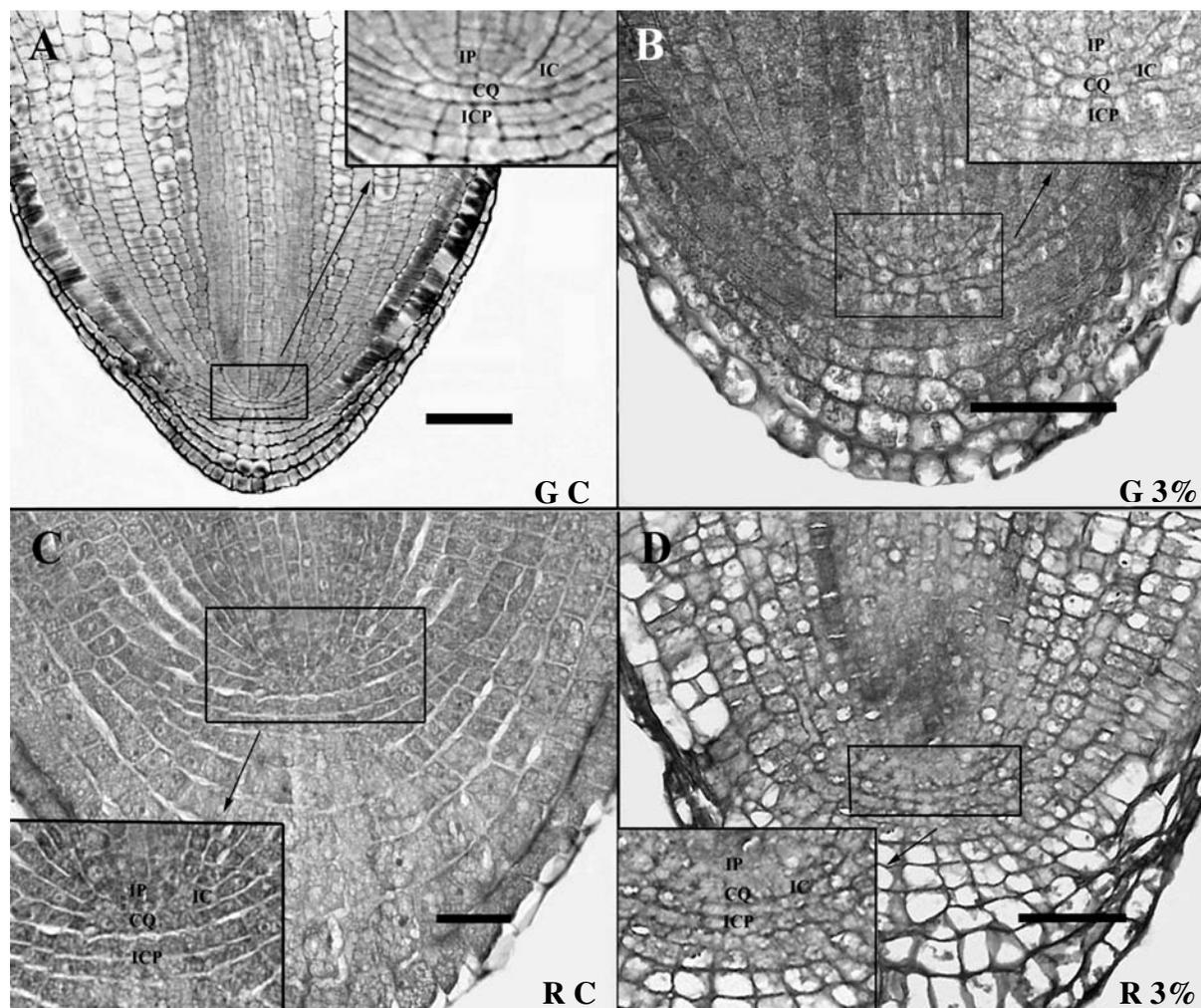


**Figura 2.** Microscopia eletrônica de varredura do ápice das raízes de plântulas rabanete (*Raphanus sativus* L.) crescidas em água e extrato de folhas de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) diluído a 1% e 3%, mostrando o efeito do extrato na morfologia externa das raízes. **A-C)** Raízes de plântulas crescidas em água. **D-F)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita a 1%. **G-I)** Raízes de plântulas crescidas em extrato de cagaita a 3%.

**A-C)** Aspecto das raízes de rabanete crescidas em água com um, três e cinco dias de idade, respectivamente. **D-F)** Raízes de rabanete tratadas com extrato de cagaita a 1% com um, três e cinco dias de idade, respectivamente. **G-I)** Raízes de rabanete tratadas com extrato de cagaita a 3% com um, três e cinco dias de idade, respectivamente. Note o crescimento radicular alterado (H). Raiz lateral em meio aos pêlos radiculares (I-cabeça de seta). Barra de escala = 100  $\mu$ m.

### **3.1.2 Estrutura do meristema apical e da coifa sob o efeito do extrato de cagaita**

Cortes longitudinais axiais das raízes principais de gergelim e rabanete – plântulas dos tratamentos e do controle – foram obtidos da extremidade da raiz principal (Figura 3). Embora, as raízes das plântulas tratadas com extrato de cagaita tenham crescido menos, ao que parece, essa redução não foi decorrente de alguma anormalidade estrutural ou má formação do meristema apical da raiz. O aspecto geral do meristema apical da raiz, tanto das plântulas de gergelim quanto de rabanete, não diferiu substancialmente entre as plântulas crescidas em extrato e as plântulas controle (Figura 3). O arranjo do meristema apical da raiz para as duas espécies-alvo é do “tipo fechado”, onde a coifa, o cilindro vascular e o córtex, possuem, cada um, a sua própria fileira de células iniciais.



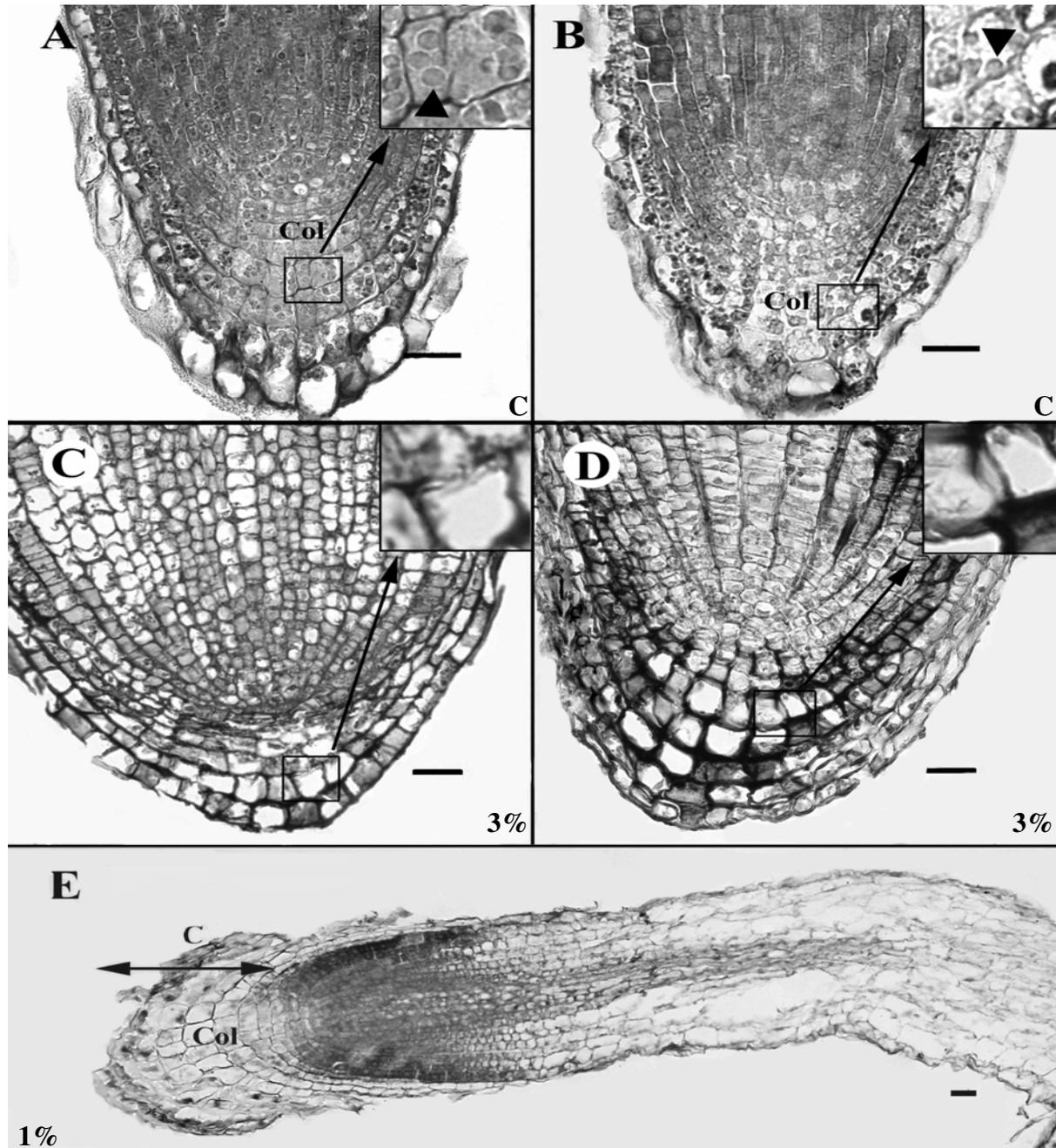
**Figura 3.** Seções longitudinais das raízes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) mostrando o meristema apical radicular de plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) diluído a 3%. **A-B)** Região apical de gergelim. **C-D)** Região apical de rabanete.

**A)** Meristema apical da raiz de gergelim crescida em água por 24h. Note o arranjo fechado do meristema apical. **B)** Aspecto do meristema apical radicular de plântula de gergelim crescida em extrato de cagaita a 3%, por três dias. Observe que não há nenhuma anormalidade aparente no meristema apical. **C)** Meristema apical da raiz de rabanete crescida em água por 24h. Semelhantemente ao meristema de gergelim note o arranjo fechado do meristema apical. **D)** Meristema apical radicular de plântula de rabanete crescida em extrato de cagaita a 3%, por três dias. O aspecto do meristema apical se assemelha ao das plantas controle. IP – iniciais do procâmbio; CQ – centro de quiescência; IC – iniciais do córtex; ICP – iniciais da coifa e protoderme. Barra de escala = 100  $\mu$ m.

Uma das principais características que diferiram as raízes das plântulas crescidas em extrato daquelas crescidas em água foi observada na região da coifa. Em geral, para ambas as espécies, a coifa das plântulas crescidas em extrato de cagaita foi menor e freqüentemente de formato variado em comparação com as do controle, as quais geralmente eram cônicas (Figuras 4 e 5). O formato da coifa das plântulas crescidas em extrato foi diversificado variando desde um formato cônico, dependendo do grau de contato destas com o extrato foliar, até totalmente irregular (Figuras 4 E e 5 E). Além disso, com certa freqüência, a columela das raízes de algumas plântulas de gergelim submetidas ao extrato de cagaita não se mostrou muito distinta, o que não foi verificado nas plântulas de rabanete tratadas com extrato foliar, onde a columela, em geral, mostrou-se evidente (Figuras 4 e 5, C e D).

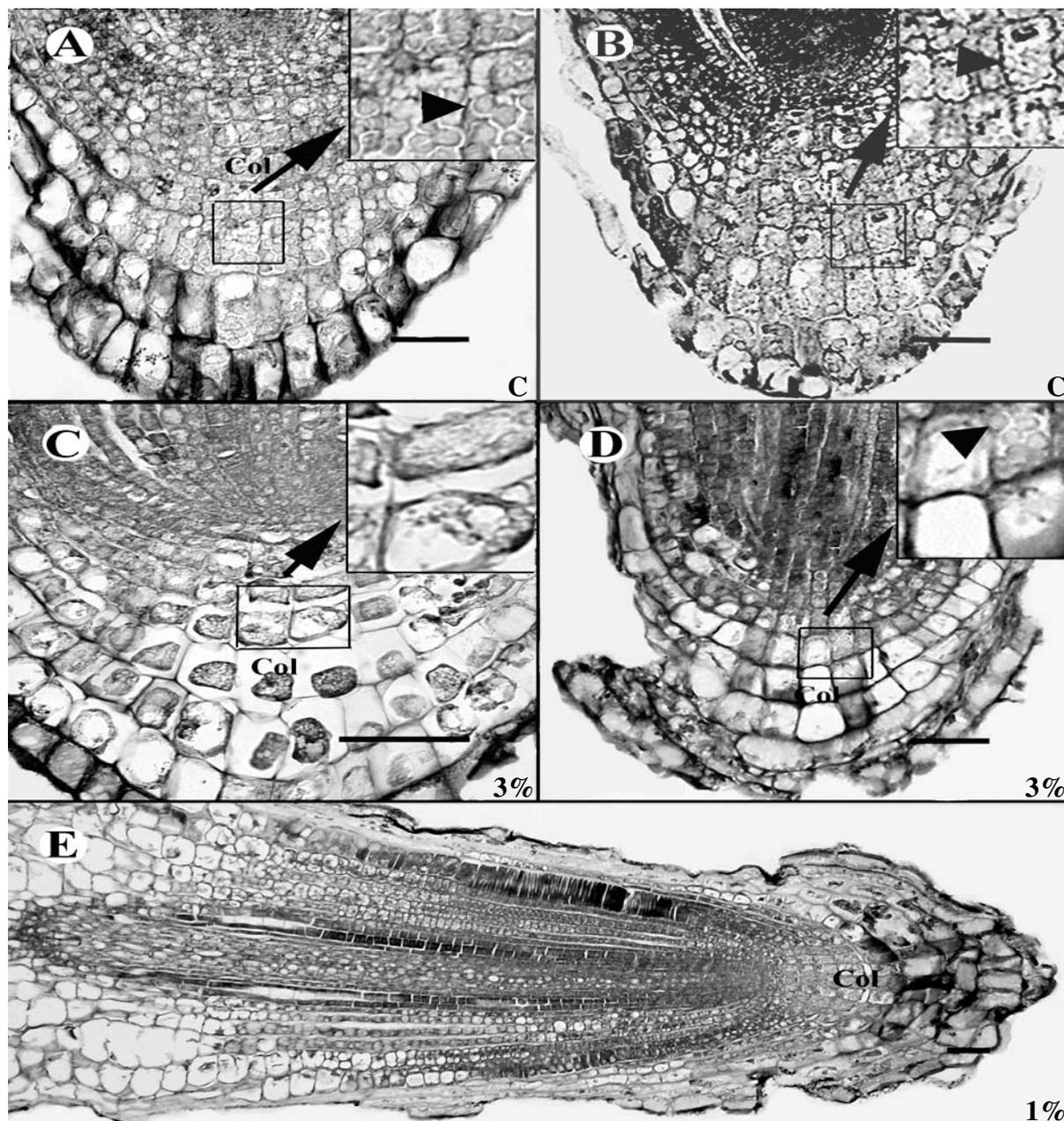
Em relação às estruturas de percepção do estímulo gravitacional, grãos de amido presentes na coifa – estatólitos –, estes também foram afetados pelo extrato foliar de cagaita (Figuras 4 e 5). Em ambas as espécies-alvo notou-se uma tendência de diminuição da quantidade de estatólitos na coifa das plântulas tratadas em comparação com as do controle. Essa diminuição foi melhor observada nas plântulas de gergelim, onde em grande parte das raízes estudadas não ficou evidente a presença de estatólitos (Figura 4 C e D).

Outro efeito do extrato de cagaita sobre o desenvolvimento radicular das espécies-alvo foi a formação precoce de raízes laterais (Figura 6). Como no capítulo anterior, o número de plântulas com raízes laterais bem como o número de raízes laterais diminuiu nos tratamentos a 1% e 3%. As raízes laterais também se diferenciaram mais precocemente em relação aos controles. Adicionalmente, foi observado que muitas raízes laterais não se desenvolveram o suficiente para atravessar todo o córtex e epiderme das raízes principais tratadas com extrato (Figura 6 A e B). Além das raízes laterais das plântulas tratadas terem surgido mais cedo, elas ocorreram em regiões da raiz principal onde, normalmente, não estariam presentes nas plântulas controle, como, na região da zona pilífera nas duas espécies-alvo (Figura 6 C e D).



**Figura 4.** Seções longitudinais das raízes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) mostrando a região da coifa de plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **A-B)** Região da coifa de plântulas de gergelim crescidas em água. **C-E)** Extremidade radicular de plântulas de gergelim crescidas em extrato aquoso de cagaita.

**A-B)** Aspecto da coifa de plântulas controle de gergelim com quatro e cinco dias de idade, respectivamente. Note a abundância de estatólitos (cabeças de setas), detalhe. **C-D)** Coifa de plântulas de gergelim em extrato de cagaita a 3% com quatro e cinco dias de idade, respectivamente. Note que a presença de estatólitos nessas plantas não é evidente (detalhe). **E)** Raiz de gergelim crescida em extrato de cagaita a 1% por cinco dias. A coifa tem forma irregular. Legenda: C – coifa; Col – região da columela. Barra de escala = 100 µm.



**Figura 5.** Seções longitudinais das raízes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) mostrando a região da coifa de plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **A-B)** Região da coifa de plântulas de rabanete crescidas em água. **C-E)** Extremidade da raiz de plântulas de rabanete crescidas em extrato aquoso de cagaita.

**A-B)** Aspecto da coifa de plântulas de rabanete do controle com quatro e cinco dias de idade, respectivamente. Note a abundância de estatólitos (cabeças de setas), detalhe. **C-D)** Coifa de plântulas de rabanete em extrato de cagaita a 3% com quatro e cinco dias de idade, respectivamente. Note que a presença de estatólitos é evidente, contudo em menor quantidade (detalhe) que o controle. **E)** Raiz de rabanete crescida em extrato de cagaita a 1% por quatro dias. Note o formato irregular da coifa. Legenda: Col – região da columela. Barra de escala = 100  $\mu$ m.

Embora não tenham sido observadas alterações estruturais substanciais no meristema apical do rabanete e gergelim, outros trabalhos comprovam mudanças significativas nessa região. Em plântulas de feijão foi observado que as células da zona meristemática das raízes tratadas com extrato de *Sicyos deppei* pareciam estar mais compactadas que nas plântulas controle (Cruz-Ortega *et al.*, 1998). Oliveira (2003) constatou a morte do meristema apical das raízes de plântulas de gergelim em contato com o extrato de lobeira. Burgos *et al.* (2004) verificaram que o aleloquímico DIBOA [2,4-dihidroxy-1,4(2H)-benzoxanzina-3-um] provocou um atraso na diferenciação das células do meristema apical do pepino em relação ao controle.

Em relação à coifa, Aliotta *et al.* (2004) usando como solução aleloquímica a água resultante da moenda de azeitona, que é considerada altamente poluente, verificaram mudanças no formato da coifa de raízes de plântulas de rabanete. Foi observado que o ápice radicular das plântulas de rabanete apresentava-se cônico pelo desenvolvimento normal da coifa e que nas plântulas tratadas havia uma tendência de arredondamento dos ápices devido a um menor desenvolvimento da coifa.

Além do formato, o tamanho da coifa também pode ser afetado por aleloquímicos. Plântulas de pepino crescidas em água apresentaram coifas com 8-10 camadas de células e plântulas tratadas com o aleloquímico BOA – 2(3H)-benzoxazolinona – proveniente do centeio, apresentaram somente de 2-3 camadas (Burgos *et al.*, 2004). Adicionalmente, Oliveira (2003) verificou uma crescente degradação e desorganização das células da coifa de raízes de gergelim tratadas com extrato de lobeira e, na concentração do extrato utilizado (2,5%), observou um desprendimento da coifa. Esses estudos são consistentes com os dados obtidos com gergelim e rabanete tratados com extrato de cagaita.

A coifa, nesse estudo, foi uma das porções radiculares mais afetadas pela presença de aleloquímicos. Assim, não foi surpreendente que a formação dos estatólitos tenha sido

deficiente nas plântulas tratadas das duas espécies-alvo. Essa deficiência na formação de tais estruturas, que estão envolvidas na resposta gravitrópica das raízes, pode estar associada com a acentuada curvatura verificada nas raízes crescidas em extrato de cagaita. Esse assunto será retomado mais adiante.

Além do mecanismo envolvendo os estatólitos, a presença de etileno também afeta a resposta gravitrópica. Em abóbora (*Cucumis sativus* L.) o etileno induziu a curvatura e o espessamento da raiz (Pierik *et al.*, 1999). Entretanto, em *Arabidopsis* o etileno modulou a resposta gravitrópica de uma forma diferente. Nas plantas selvagens, o alongamento e a curvatura radicular foram inibidos pela adição do precursor do etileno ACC (ácido carboxílico 1-aminociclopropano) (Buer *et al.*, 2006). Por outro lado, em mutantes de *Arabidopsis* insensíveis ao etileno, a adição de ACC não inibiu nem a curvatura nem o alongamento da raiz. Assim, este estudo sugere que o etileno afetou negativamente a resposta gravitrópica. Ao que parece, o etileno pode ter respostas antagônicas, que podem ser em função da espécie ou de outros fatores, como por exemplo, a concentração deste hormônio vegetal, que em geral é um fator importante no mecanismo de resposta fisiológica do etileno.

Além do envolvimento do etileno no gravitropismo, as citocininas produzidas na coifa (Miyawaki *et al.*, 2004; Takei *et al.*, 2004) são consideradas os sinais primários da resposta gravitrópica (Aloni *et al.*, 2006). A falta de citocinina inibe a curvatura da raiz mesmo na presença de estímulo gravitacional, numa eventual mudança de posição da raiz (Shaw & Wilkins, 1973). Auxina e etileno também estão envolvidos nesse sistema através de um gradiente assimétrico desses hormônios na ponta da raiz, onde auxina e etileno se acumulam no lado inferior da raiz (após esta ter sido tirada da sua posição vertical), inibindo o alongamento das células nessa região. Por outro lado, na porção superior, onde a concentração de auxina se torna menor, o alongamento é estimulado resultando na curvatura da raiz (Aloni *et al.*, 2006). Um aprofundamento sobre a função de cada um desses hormônios ainda é

necessário para se entender mais claramente a resposta gravitrópica das raízes, principalmente quando fatores exógenos, como aleloquímicos, afetam os mecanismos envolvidos.

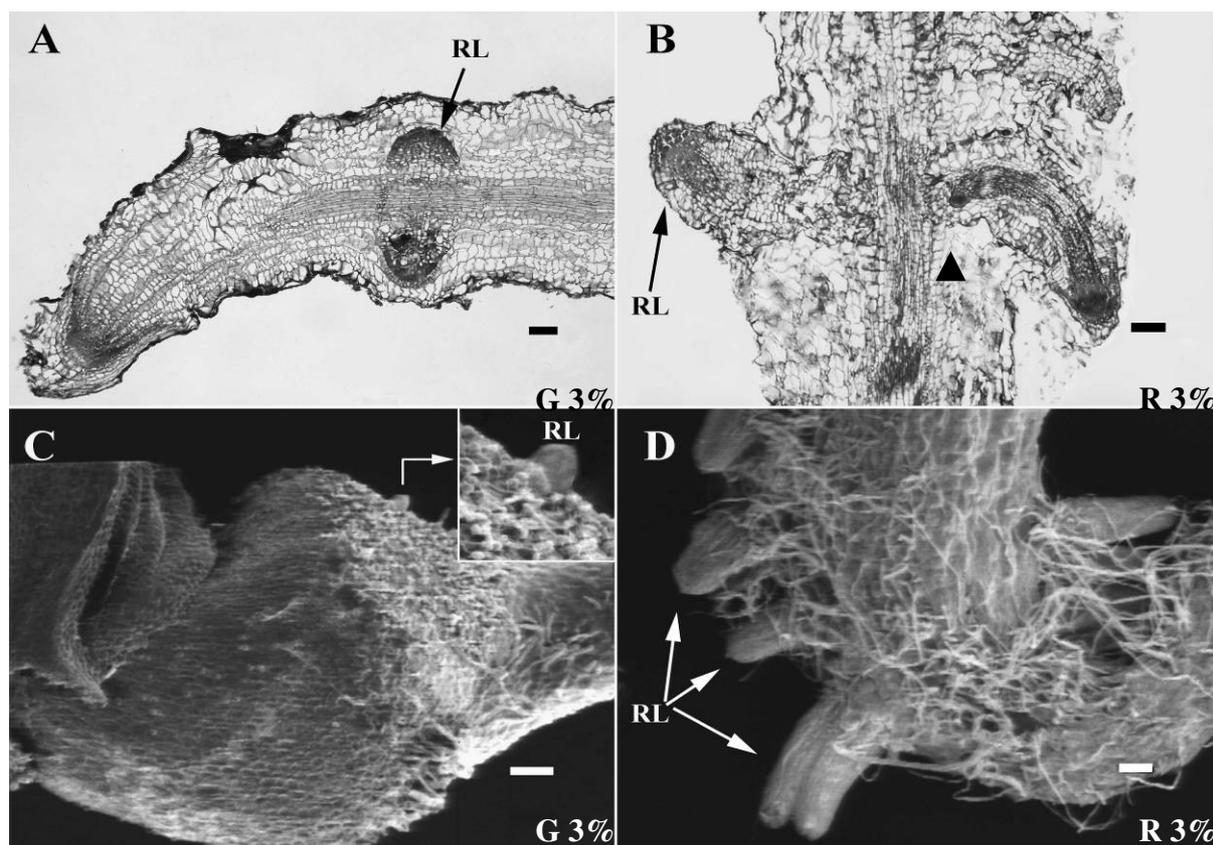
A formação de raízes laterais também foi afetada pela presença do extrato de cagaita. Semelhantemente ao observado nesse estudo com gergelim e rabanete, uma significativa redução da quantidade de raízes laterais em plântulas de pepino tratadas com aleloquímicos foi verificada no estudo de Burgos e colaboradores (2004). Na presença do aleloquímico BOA, a diferenciação de células do periciclo em raízes laterais foi inibida. Já a precocidade do surgimento das raízes laterais, segundo observado por Oliveira (2003), estaria relacionada a um desbalanço hormonal causado por possíveis injúrias no ápice da raiz principal (Dayan *et al.*, 2000).

Citocininas e auxinas têm funções antagônicas na indução de raízes laterais (Aloni *et al.*, 2006). Em geral, a deficiência de citocinina e altos níveis de auxina levam a formação precoce de raízes laterais pelo estímulo às células do periciclo a se dividirem. Um terceiro sinal envolvido nesse processo é o etileno (Aloni *et al.*, 2006). Baixos níveis de etileno/auxina são inibidores da formação de raízes laterais e, portanto, sua presença se torna importante no processo de formação de ramificações nas raízes. No caso das plântulas de gergelim e rabanete, que apresentaram indução precoce da diferenciação de raízes laterais, duas situações poderiam estar acontecendo: 1) deficiência de citocinina na região do meristema apical ou; 2) excesso de auxina ou etileno nesse local. É fato que as coifas das plântulas tratadas com extrato de cagaita apresentaram-se menores e às vezes de formato anormal. Isso pode ter levado a uma deficiência de citocinina, induzindo o surgimento precoce de raízes laterais.

Outro fato a ser destacado foi a incapacidade de as raízes laterais das plântulas de gergelim e rabanete, tratadas com extrato de cagaita, ultrapassarem o córtex radicular. Fato semelhante foi observado em plântulas de pepino tratadas com compostos voláteis de *Salvia leucophylla* (Cruz-Ortega *et al.*, 1998). Esses compostos não inibiram o surgimento de raízes

laterais, mas reduziram o crescimento daquelas já iniciadas, o que também poderia ser um efeito do extrato de cagaita em gergelim e rabanete.

Ao que tudo indica, a forma como o meristema apical radicular reage à presença de aleloquímicos pode ser diferente de espécie para espécie e pode variar de acordo com o modo de ação do aleloquímico. Assim, são necessários estudos mais aprofundados sobre como os aleloquímicos afetam a zonação citohistológica dos meristemas, atividade meristemática, formação de raízes laterais e pêlos radiculares para esclarecer os mecanismos fisiológicos envolvidos na resposta alelopática. Isso auxiliará no esclarecimento e melhor entendimento das funções dos diferentes hormônios vegetais que envolvem essas respostas. Atualmente, os estudos nessas áreas, com o foco nos efeitos alelopáticos, ainda são poucos mas se mostram extremamente interessantes para se desvendar os efeitos de tais substâncias sobre o crescimento vegetal como um todo.

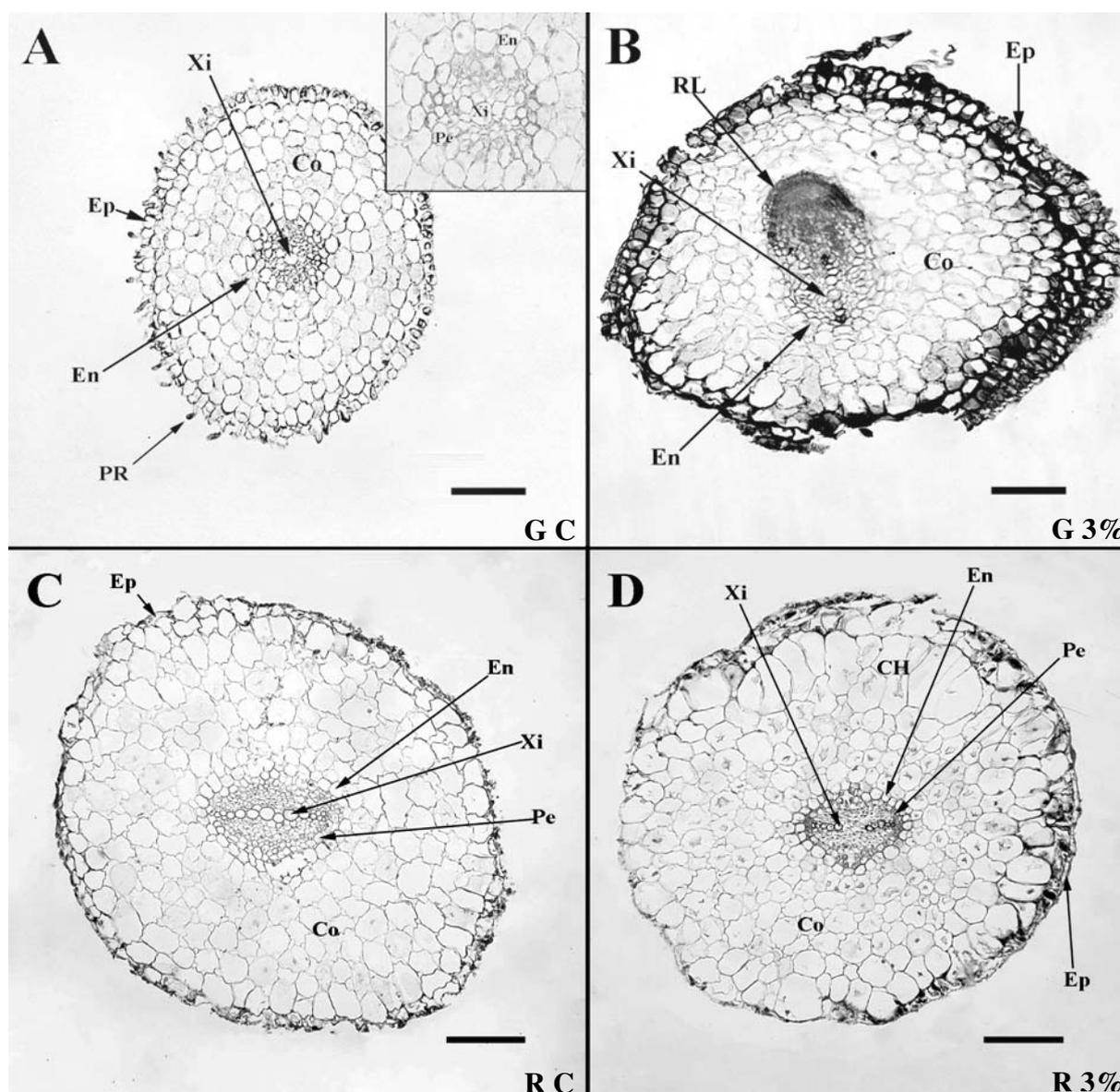


**Figura 6.** Seções longitudinais e micrografias eletrônicas das raízes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.) mostrando a formação de raízes laterais nas plântulas crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **A-B)** Seções longitudinais das raízes de gergelim e rabanete à 3%, respectivamente. **C-D)** Micrografias eletrônicas das raízes de gergelim e rabanete à 3%, respectivamente.

**A)** Micrografia mostrando a formação de duas raízes laterais no interior da raiz de gergelim crescida sob efeito do extrato de cagaita. **B)** Micrografia óptica da raiz de rabanete tratada com extrato de cagaita e várias raízes laterais se formando precocemente. Note raiz lateral surgindo de uma outra ainda em crescimento (cabeça de seta). **C)** Raiz lateral surgindo na região da zona pilífera da raiz de gergelim em extrato a 3%. **D)** Micrografia eletrônica mostrando várias raízes laterais na zona pilífera da plântula de rabanete. Legenda: RL – raiz lateral. Barra de escala = 100  $\mu$ m.

### 3.1.3 Estudo anatômico e histoquímico das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato foliar de cagaita

A estrutura anatômica das raízes das espécies-alvo pode ser vista na Figura 7. Ambas as espécies apresentaram raízes com epiderme unisseriada, córtex com seis a oito camadas de células parenquimáticas, estrutura diarca, endoderme com estrias de Caspary e periciclo de camada única (Figura 7 A e C).



**Figura 7.** Seções transversais das raízes de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.). **A-B)** Seções transversais das raízes de gergelim crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%, respectivamente. **C-D)** Micrografias de raízes de rabanete crescidas em água e em extrato a 3%, respectivamente.

**A)** Estrutura primária da raiz controle de gergelim. Detalhe do cilindro vascular. **B)** Micrografia óptica da raiz de gergelim tratada com extrato de cagaita a 3%. A raiz de plântulas tratadas com extrato escurece principalmente nas regiões de contato, onde também se percebe maior crescimento das células do córtex. **C)** Estrutura primária da raiz de rabanete crescida em água. **D)** Raiz de rabanete em extrato a 3%. Observe a hipertrofia das células corticais na região de contato com o extrato. Legenda: Co – córtex parenquimático; CH – células hipertrofiadas, En – endoderme; Ep – epiderme; Pe – periciclo; PR – pêlo radicular; RL – raiz lateral; Xi - xilema. Barra de escala = 100  $\mu$ m.

Nas amostras sujeitas ao extrato de cagaita, as regiões mais afetadas foram a epiderme e o córtex. Nessas partes da raiz observou-se um escurecimento de ambos, e em algumas raízes, necrose da porção em contato com o extrato, principalmente na epiderme (Figura 7 B).

Embora o número de camadas de células do córtex não tenha sido alterado nas raízes crescidas em extrato de cagaita, foi verificado que nas partes das raízes que não necrosaram, as células das camadas corticais mais externas cresceram mais (Figura 7 B e D). Esse fato foi visto nas duas espécies-alvo, contudo, foi mais evidente nas raízes de rabanete tratadas com extrato foliar (Figura 7 D). Em geral, o crescimento dessas células ocorreu no sentido perpendicular à epiderme. Além disso, nas raízes de gergelim de plântulas crescidas em extrato pôde ser observada a formação de uma estrutura que se assemelha a uma exoderme não vista no controle (Figura 7 B).

Quanto às raízes laterais, observou-se que originaram-se do periciclo. No material estudado, a formação de raízes laterais das plântulas tratadas com extrato, embora mais precoce, também foi no periciclo. As seções transversais também mostraram que as raízes laterais de gergelim e rabanete surgiram opostas ao xilema, o que difere do padrão mais comum em espécies vegetais com raízes diarcas (Figura 7 B). Em raízes diarcas é mais comum se observar o surgimento de raízes laterais entre o xilema e o floema.

Para se comparar o padrão de desenvolvimento das raízes de gergelim e rabanete, tratadas ou não com extrato, foi medida a distância entre a ponta da raiz e importantes eventos do desenvolvimento radicular, tais como: surgimento dos pólos de protoxilema, metaxilema, tamanho da coifa e o aparecimento das raízes laterais (Tabela 1). Embora esses dados não tenham sido estatisticamente relevantes devido ao pequeno tamanho amostral, em combinação com as demais observações morfo-anatômicas, constituíram um importante subsídio para comparação entre o desenvolvimento das raízes submetidas aos extratos de cagaita e seus respectivos controles.

Os dados mostraram que apesar do aparecimento dos primeiros vasos de xilema (protoxilema) não ter sido diferente entre o controle e os tratamentos a 1% e 3%, a diferenciação do metaxilema nas plântulas das duas espécies crescidas em extrato foi substancialmente diferente daquelas em água. Nas plântulas tratadas com extrato, o metaxilema foi visto na metade da distância observada para o controle (Tabela 1). Isso sugere que a diferenciação do xilema nas plântulas tratadas foi mais rápida que no controle.

**Tabela 1.** Distância ( $\mu\text{m}$ ) entre o ápice radicular e importantes eventos do desenvolvimento da raiz de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) após cinco dias de crescimento em água e em extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) nas concentrações de 1% e 3%.

<b>Gergelim</b>						
<b>Tratamentos</b>	<b>1º pólo protoxilema</b>	<b>2º pólo protoxilema</b>	<b>Metaxilema</b>	<b>Tamanho da coifa</b>	<b>Raiz lateral</b>	<b>Distância total observada</b>
<b>C</b>	300	320	690	680	Não	1800
<b>1%</b>	220	240	440	450	Não	1600
<b>3%</b>	300	310	370	420	900	1400

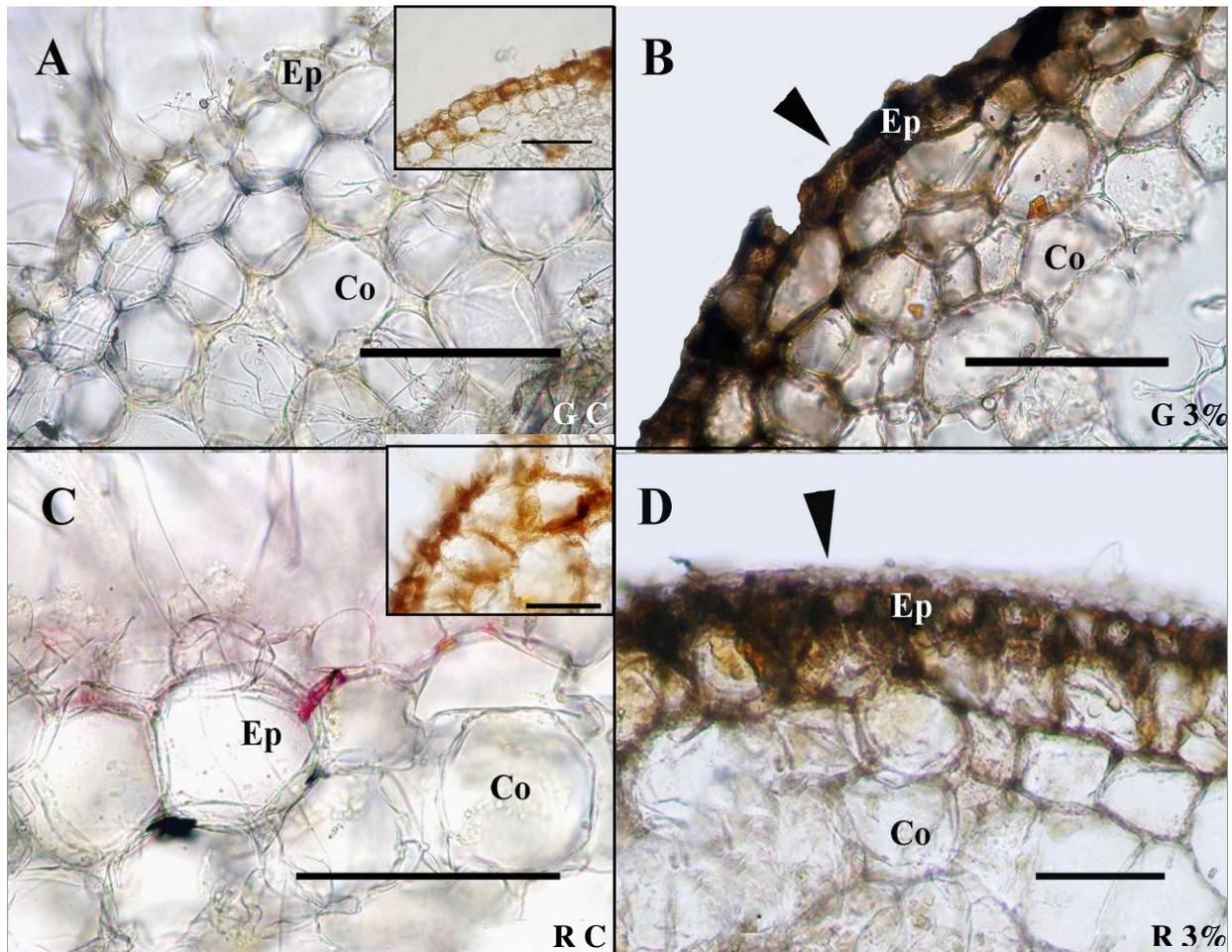
  

<b>Rabanete</b>						
<b>Tratamentos</b>	<b>1º pólo protoxilema</b>	<b>2º pólo protoxilema</b>	<b>Metaxilema</b>	<b>Tamanho da coifa</b>	<b>Raiz lateral</b>	<b>Distância total observada</b>
<b>C</b>	260	280	780	860	Não	1500
<b>1%</b>	220	240	350	680	1200	3000
<b>3%</b>	230	250	300	520	1260	1700

Também foi possível observar que a diferenciação de raízes laterais nas plântulas de gergelim e rabanete, crescidas em extrato foliar de cagaita, tendeu a ser mais precoce que aquelas tratadas com água (Tabela 1). Para as duas espécies, a presença de raízes laterais, no controle, não foi verificada. Além disso, as medições também indicaram que a extensão da coifa diminuiu nas plântulas crescidas na presença do extrato. Esses dados estão em acordo

com as observações morfológicas, anteriormente obtidas, sobre o surgimento de raízes laterais e comprimento da coifa.

Devido à coloração das raízes de plântulas crescidas em extrato – escurecimento dos tecidos radiculares – nas regiões de contato com este, as raízes foram testadas para a presença de taninos com o uso de solução de cloreto férrico e sulfato ferroso. Ambos os teste foram positivos para a presença de taninos e compostos fenólicos. A Figura 8 mostra micrografias com resultados para o cloreto férrico. A presença de taninos foi evidenciada pela formação de uma coloração escura nas regiões das raízes em contato com o extrato.



**Figura 8.** Teste histoquímico com o reagente cloreto férrico para detecção de taninos nas raízes de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.). **A-B)** Seções transversais das raízes de gergelim crescidas em água e extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%. **C-D)** Micrografias de raízes de rabanete crescidas em água e extrato a 3%.

**A)** Raiz de gergelim crescida em água testada com cloreto férrico. Não houve reação. Em detalhe, corte radicial de gergelim a 3% sem reagentes. **B)** Raiz de gergelim em extrato a 3% testada com cloreto férrico. Note a coloração escura evidenciando a presença de taninos. **C)** Raiz de rabanete crescida em água e testada com cloreto férrico. A coloração rósea é devido ao fungicida. Sem reação para cloreto férrico. Em detalhe, corte de rabanete a 3% sem reagentes. **D)** Raiz de rabanete em extrato a 3%. Observe a coloração marrom indicando a presença de taninos. Legenda: Co – córtex parenquimático; Ep – epiderme. Barra de escala = 100  $\mu$ m.

As regiões escurecidas das raízes, muitas vezes necrosadas, foram as manifestações mais drásticas dos efeitos do extrato foliar de cagaita em termos estruturais nas raízes das

plântulas-alvo. Além destas, outros efeitos anatômicos também puderam ser observados nas plântulas, como por exemplo, a diferenciação precoce do xilema. Como discutido anteriormente, o meristema apical das raízes das duas espécies-alvo apresentou-se relativamente normal no que refere aos aspectos morfológicos. Portanto, a principal modificação nesses meristemas não seria de ordem estrutural, mas em seu funcionamento quando sob efeito do extrato.

Os dados indicaram que a diferenciação do sistema vascular, principalmente do xilema, nas plantas tratadas com o extrato de cagaita ocorreu prematuramente. Hormônios vegetais como citocininas, auxinas e etileno têm importantes funções na diferenciação do sistema vascular. Auxinas, por exemplo, induzem a diferenciação apenas de floema quando em baixas concentrações. (Taiz & Zeiger, 2004). Assim, o balanço dessas classes de hormônios ao longo da raiz induz a diferenciação dos tecidos vasculares (Aloni, 1992; Aloni *et al.*, 2006). Em geral, um balanço hormonal mais favorável à citocinina induz a diferenciação de floema e o excesso de auxina induz a diferenciação de elementos de vaso do xilema (Fosket, 1970; Aloni, 1992; Helariutta, 2007).

A coifa é o sítio de síntese de citocinina. Como as plântulas de gergelim e rabanete crescidas em extrato possuíam coifas mais curtas e às vezes de formato diferente do visto em plântulas controle, é possível que a síntese de citocinina estivesse, de certa forma, prejudicada. Assim, com níveis menores de citocinina, a auxina que é transportada polarmente, no sentido caule-raiz, se acumularia na região do ápice radicular induzindo a diferenciação e o desenvolvimento do tecido xilemático mais cedo do que no controle.

Quanto à hipertrofia das células corticais observada nas plântulas tratadas com extrato, é provável que seja parte da resposta ao estímulo gravitacional. Como discutido previamente, a distribuição assimétrica de citocinina, auxina e etileno leva a uma expansão desigual das células, em lados diferentes da raiz, o que resulta na curvatura desta (Aloni *et al.*, 2006). É

importante salientar também, que esse o aumento do diâmetro das células foi uma resposta alelopática relativamente comum em gergelim e rabanete. Chon *et al.* (2002) verificaram que o extrato de alfafa aumentou o diâmetro das células do córtex em plântulas da mesma espécie. Adicionalmente, o aleloquímico (BOA) resultou em aumento considerável das células corticais de raízes de pepino (Burgos *et al.*, 2004). Dessa forma, é possível que o próprio aleloquímico possa afetar a distribuição de hormônios no interior da raiz, e desta forma, produzir uma reação que mimetiza a resposta gravitrópica em termos de curvatura da raiz, sem que o estímulo gravitacional esteja necessariamente presente.

Quanto ao escurecimento das raízes em contato com o extrato de cagaita verificou-se a presença de taninos na região escurecida das raízes que, frequentemente, mostrava-se necrosava. Esse escurecimento também foi verificado em plântulas de gergelim crescidas em extrato de lobeira (Jerônimo, 2006).

Provavelmente, o extrato de cagaita é constituído por taninos e outros compostos fenólicos como partes constituintes, o que poderia induzir diretamente o escurecimento e a necrose dos tecidos. Segundo Silva Júnior (2005), a cagaitera é uma árvore tanífera. Palhares (2003) fez um estudo farmacognóstico das folhas de *E. dysenterica* e verificou uma reação intensa dos cortes foliares com cloreto férrico. Esse fato levou o autor a concluir que existe abundância de taninos nas folhas. Ele também verificou que o mesófilo foliar é um dos locais de maior acúmulo de taninos na planta.

Os taninos são amplamente citados como aleloquímicos ou como integrante de substâncias alelopáticas (Rice, 1984; Ferreira & Aquila, 2000; Ferreira, 2004). Esses compostos são hidrossolúveis e atuam na defesa contra herbívoros e patógenos (Taiz e Zeiger, 2004). Substâncias alelopáticas, como taninos, podem apresentar mecanismos de ação diretos ou indiretos. Os efeitos diretos incluem alterações no metabolismo vegetal, alterações de características citológicas, alterações nas membranas, na divisão celular, entre outros (Rice,

1984). Dessa forma, o provável modo de ação dos compostos presentes no extrato de cagaita, o que incluiria os compostos fenólicos/taninos, seria direto.

### **3.1.4 Estrutura dos estatólitos das raízes de gergelim e rabanete crescidas em extrato foliar de cagaita**

A estrutura dos estatólitos presentes nas raízes de gergelim e rabanete e os efeitos do extrato foliar de cagaita sobre essas estruturas também foram estudados (Figuras 9 e 10). Nas raízes das plântulas controle de gergelim foram encontrados estatólitos com múltiplos grãos de amido. Em geral, esses estatólitos se encontravam localizados agrupados em um lado da célula da coifa (Figura 9 A e C). Nas raízes de plântulas tratadas com extrato de cagaita, não foram encontrados plastídios que se assemelhavam aos visualizados nas plântulas controle. Os plastídios dessas raízes eram pequenos e em geral continham quantidades mínimas de amido (Figura 9 B e D). Além disso, esses plastídios observados nas amostras de raízes das plântulas tratadas não guardavam posição fixa dentro das células da coifa, como visto nas células das plântulas controle de gergelim.

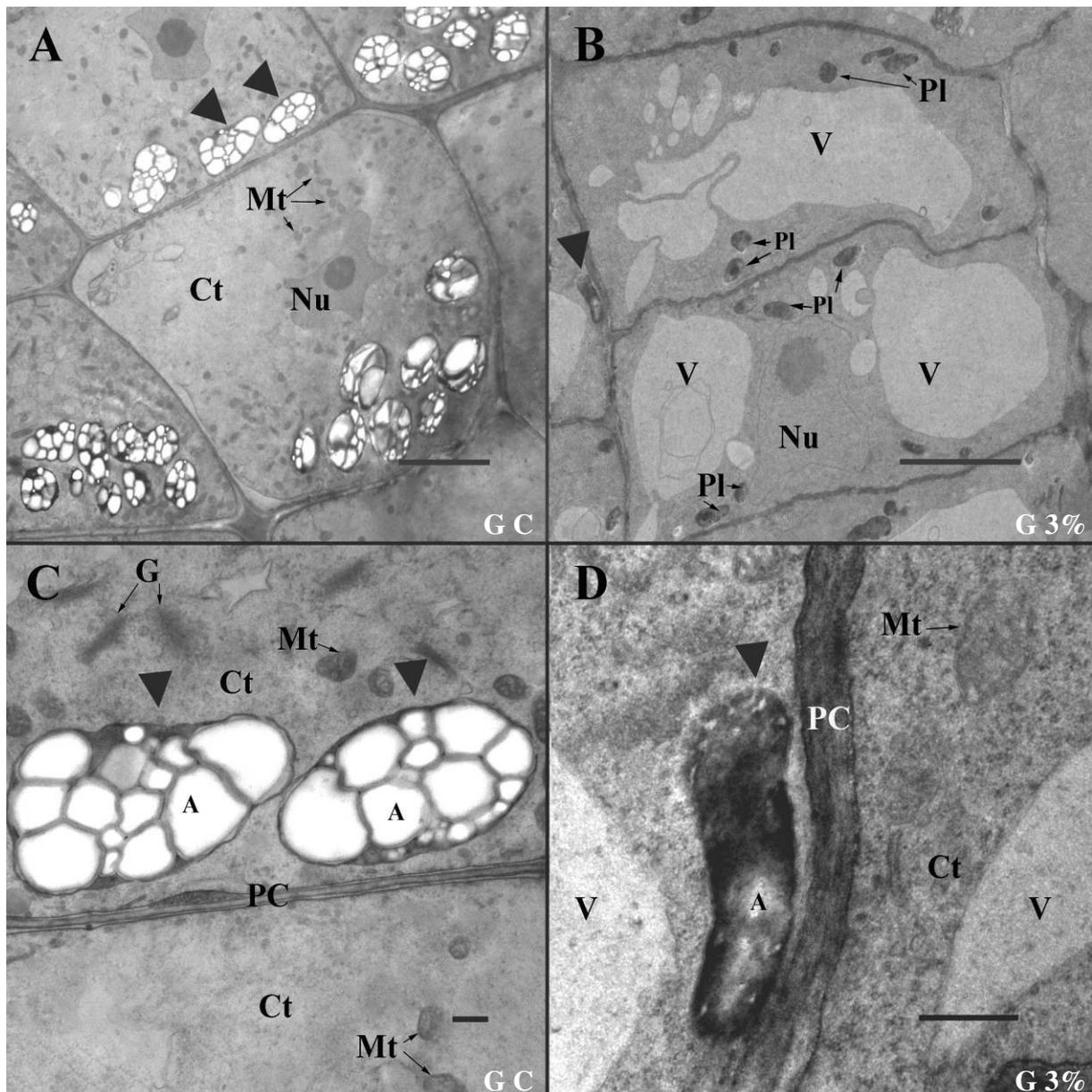
Nas raízes de plântulas controle de rabanete também foram encontrados estatólitos que estruturalmente lembravam os de gergelim (Figura 10 A). Os estatólitos possuíam múltiplos grãos de amido e também se agrupavam em um lado das células da coifa. Além desses estatólitos grandes com múltiplos grãos de amido, também foram observados estatólitos menores - com menor número de grãos de amido - de forma arredondada e/ou alongada nas plântulas crescidas em água (Figura 10 C). Nas plântulas estudadas, os estatólitos grandes e os menores não ocorriam na mesma região na coifa das plântulas controle.

Já nas amostras das plântulas tratadas com extrato de cagaita, também foram observados esses dois tipos de estatólitos, os maiores com maior número de grãos de amido e os menores – semelhantes aos das plantas controle (Figura 10 B e D). Contudo, existiam duas formas dos estatólitos grandes nas amostras tratadas: aqueles que se assemelhavam aos da

coifa das plântulas controle (Figura 10 B – detalhe), e aqueles que tinham menor número de grãos de amido, cuja forma era arredondada (Figura 10 B). Adicionalmente, esses estatólitos puderam ser vistos agrupados de um lado da célula, como nas plântulas controle, ou espalhados ao redor da célula. Os estatólitos de menor tamanho apresentaram formas mais variadas que as observadas no controle e, frequentemente, foram vistos plastídios amebóides como mostrado na Figura 10 D.

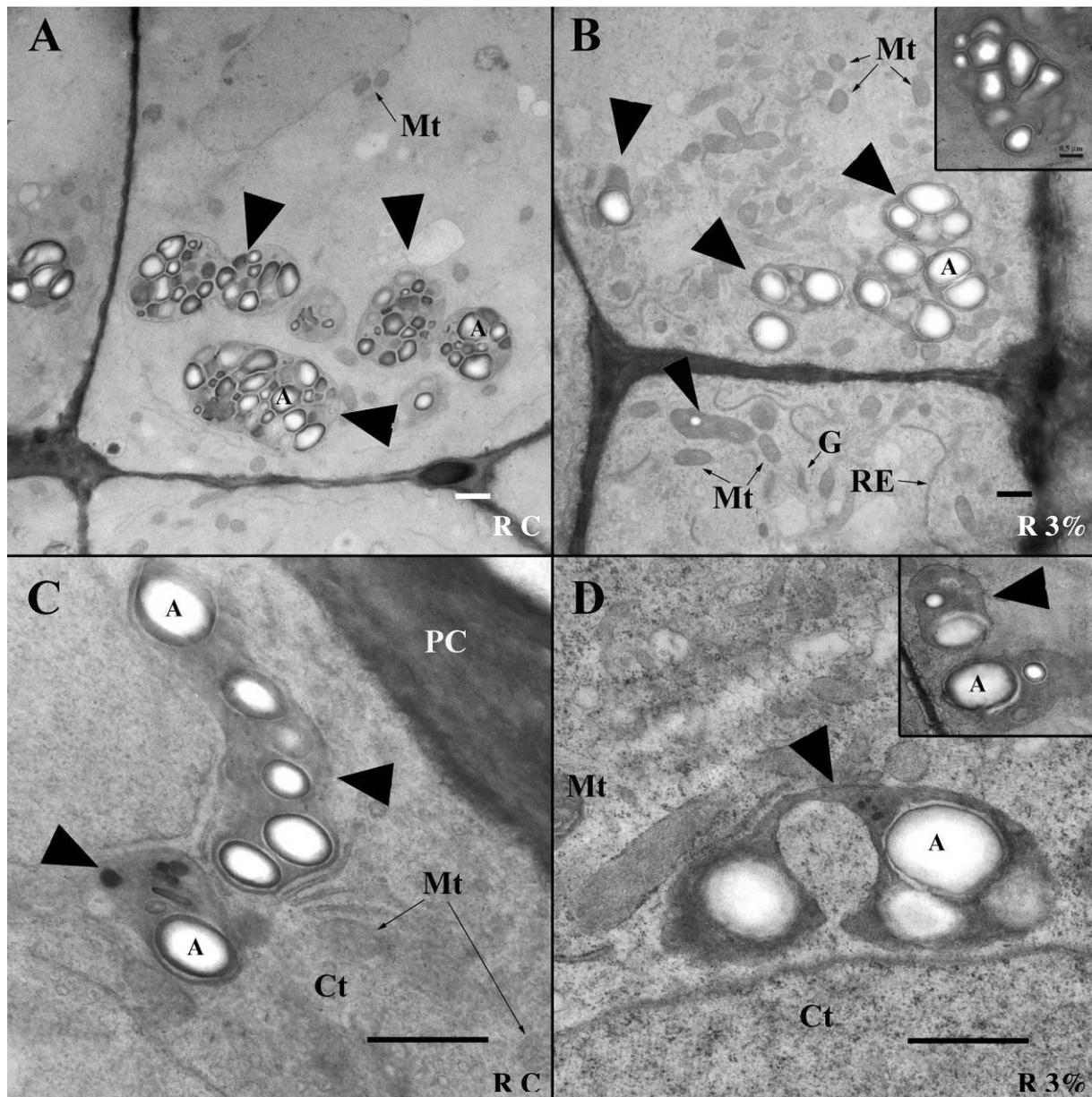
Burgos *et al.* (2004) verificaram, em plântulas de pepino crescidas em água, que os estatócitos da columela continham amiloplastos com grãos de amido armazenados. Já plântulas de pepino tratadas com o aleloquímico (BOA) apresentaram menor número de amiloplastos e continham quantidade inferior de grãos de amido. Semelhantemente, amiloplastos das raízes de feijão tratadas com extrato de *Sicyos deppei* mostraram-se imaturos e não acumularam amido (Cruz-Ortega *et al.*, 1998). Restos aquosos de processamento de azeitona inibiram o desenvolvimento dos amiloplastos na coifa de rabanete (Aliotta *et al.*, 2004). Como constatado, a inibição total ou parcial do desenvolvimento de estatólitos da coifa também é uma resposta alelopática freqüente nas plantas. Estudos mostram que a remoção da coifa aboliu completamente a resposta à gravidade nas plantas (Shaw & Wilkins, 1973).

A sedimentação dos estatólitos dentro das células da columela da coifa – sobre o retículo endoplasmático ou citoesqueleto –, denominadas de estatocitos, é considerado um dos eventos iniciais do sistema de percepção do estímulo gravitacional (Blancaflor & Masson, 2003; Taiz e Zeiger, 2004). Adicionalmente, citocininas que são produzidas pelos estatocitos da coifa são necessárias para a resposta gravitrópica e podem induzir a curvatura mesmo contra o estímulo da gravidade (Aloni *et al.*, 2006). Dois dos fatores essenciais para a resposta gravitrópica se encontram na coifa, portanto, é esperado que qualquer fator que afete seu desenvolvimento tenha efeito marcante em tal processo.



**Figura 9.** Micrografia eletrônica de transmissão mostrando a estrutura dos estatólitos das raízes de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.). **A-B)** Micrografias mostrando os estatólitos de plântula controle e de plântula crescida em extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%. **C-D)** Micrografias mostrando detalhes dos estatólitos (cabeça de seta) de raízes crescidas em água e em extrato a 3%.

**A)** Os estatólitos da plântula controle possuem múltiplos grãos de amido. **B)** Estatólitos (cabeça de seta) de plântula crescida em extrato a 3%. Observe que são pequenos e com pouco amido. **C)** Detalhe do estatólito de uma plântula controle. **D)** Vista em aproximação do estatólito de plântula crescida em extrato a 3%. Note que possui pouco amido. Legenda: Ct – citoplasma; G – Golgi; Mt – mitocôndria; Nu – núcleo; PC – parede celular; Pl – plastídeos; V – vacúolo. Barra de escala = 0,5  $\mu\text{m}$ .



**Figura 10.** Micrografia eletrônica de transmissão mostrando a estrutura dos estatólitos das raízes de plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.). **A-D)** Micrografias mostrando os estatólitos de plântula controle e de plântula crescida em extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 3%.

**A)** Os estatólitos da plântula controle possuem múltiplos grãos de amido. **B)** Estatólitos (cabeça de seta) de plântula crescida em extrato a 3%. Observe que possuem grãos de amido múltiplos, contudo são geralmente menores que os da plântula controle. **C)** Estatólito de tamanho menor. Provavelmente de regiões na periferia da columela. **D)** Estatólitos menores de plântula crescida em extrato a 3%. Também estão presentes na coifa da plântula tratada com extrato a 3%. Legenda: Ct – citoplasma; G – Golgi; Mt – mitocôndria; Nu – núcleo; PC – parede celular. Barra de escala = 1 μm.

O extrato de cagaita afetou tanto a formação de estatólitos quanto a formação da coifa nas plântulas de gergelim e rabanete. Certamente, essas modificações contribuíram para a resposta gravitacional anormal observada nas plântulas.

É bem provável que tais fatores não tenham atuado isoladamente, como mostra o envolvimento de auxinas e etileno nesse processo. O etileno acentuou a curvatura de raízes de milho estimuladas gravitacionalmente, onde provavelmente auxinas também estavam envolvidas (Lee *et al.*, 1990). Esse fenômeno também tem sido observado também em ervilha (Goeschl & Kays, 1975). Como apresentado, devido à complexidade do fenômeno, não se pode considerar apenas um fator isolado. Muito ainda há para esclarecer em relação aos fatores que estão envolvidos nesse processo, principalmente no contexto da alelopatia. Todavia, este estudo tem trazido uma contribuição importante para essa área, que tem sido pouco explorada até o momento.

#### 4. CONCLUSÕES

1. O extrato aquoso foliar de cagaita induziu modificações morfo-anatômicas nas raízes de plântulas de gergelim e rabanete tais como: encurtamento e aumento de diâmetro da raiz, diferenciação precoce de raízes laterais e pêlos radiculares, necrose em regiões severamente afetadas.
2. Estruturalmente, o meristema apical da raiz não foi dramaticamente afetado pelo extrato de cagaita. Contudo, seu funcionamento pode ter sido afetado por alterações da coifa.
3. A coifa foi bastante afetada pela presença do extrato foliar de cagaita. Por sua importância no desenvolvimento da raiz – como centro de síntese de citocinina – com envolvimento em processos morfogênicos e de controle de vários processos fisiológicos que antagonizam auxinas, etileno e citocininas, e com ligação ao gravitropismo, pode ser o efeito alelopático mais importante do extrato de cagaita. Muitas das anormalidades no desenvolvimento das raízes de gergelim e rabanete podem ser decorrentes dessas alterações na coifa.
4. Os estatólitos foram diretamente afetados pela presença do extrato nas raízes de gergelim e rabanete. Com certeza, essa é uma das causas das respostas gravitrópicas alteradas observadas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aires, S.S. **Potencial alelopático de espécies nativas do Cerrado na germinação e desenvolvimento inicial de invasoras.** Dissertação de mestrado. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2007.
- Aires, S.S.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2: 339-344, 2005.
- Aliotta, G.; Ligrone, R.; Ciniglia, C.; Pollio, A.; Stanzione, M.; Pinto, G. Application of microscopic techniques to the study of seeds and microalgae under olive oil wastewater stress. In: Francisco A. Macías; Juan C. G. Galindo; José M. G. Molinillo; Horace G. Cutler. **Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals.** CRC Press. 289-314, 2004.
- Almeida, S.P.; Proença, C.E.; Sano, S.M. & Ribeiro, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis.** EMBRAPA. Planaltina-DF: 183-186, 1998.
- Aloni R. The control of vascular differentiation. International. **Journal Plant Sciences**, v. 153: 90-92, 1992.
- Aloni, R.; Aloni, E.; Langhans, M.; Ullrich, C.I. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. **Annals of Botany**, v. 97: 883–893, 2006.
- Alves, S.M.; Arruda, M.S.P.; Souza Filho, A.P.S. Biossíntese e distribuição de substâncias alelopáticas. In: A.P.S. Souza Filho; S.M. Alves. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental: 79-110, 2002.
- Blancaflor, E.B.; Masson, P. H. Plant gravitropism. Unraveling the ups and downs of a complex process. **Plant Physiology**, v. 133: 1677–1690, 2003.
- Borghetti, F.; Silva, L.C.R.; Pinheiro, J.D.; Varella, B.B.; Ferreira, A.G. Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil. In: **Allelopathy: Establishing the scientific base.** Fourth World Congress. Charles Sturt University – NSW Austrália. 2005.
- Brito, M.A.; Pereira, E.B.C.; Pereira, A.V.; Ribeiro, J.F. **Cagaita: biologia e manejo.** Planaltina. DF: Embrapa Cerrados. 80p, 2003.
- Buer C. S.; Sukumar P.; Muday G. K. Ethylene modulates flavonoid accumulation and gravitropic responses in roots of arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 140: 1384–1396, 2006.
- Burgos, N.R.; Talbert, R.E.; Kim, K.S. Kuk, Y.I. Growth inhibition and root ultrastructure of cucumber seedlings exposed to allelochemicals from rye. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 3: 671-690, 2004.

- Chon, S. -UK.; Choi, S. -Kyu.; Jung, S.; Jang, H. -Gi.; Pyo, B. -Sik; Kim, S. -Min. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. **Crop Protection**, v. 21: 1077-1082, 2002.
- Cruz-Ortega, R.; Anaya, A.N.; Hernández-Bautista.; Laguna-Hernández, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n.12: 2039-2057, 1998.
- Dayan, F.E.; Romagni, J.G. & Duke, S.O. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9: 2079-2094, 2000.
- Einhellig, F.A. Interaction involving allelopathy in crop systems. **Agronomy Journal**, v. 88: 886-893, 1996.
- Ferreira, A.G. Interferência, competição e alelopatia. In: A.G. Ferreira & F. Borghetti. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 251-262, 2004.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** (Edição especial): 175-204, 2000.
- Fosket, D.E. The time course of xylem differentiation and its relation to deoxyribonucleic acid synthesis in cultured coleus stem segments. **Plant Physiology**, v. 46: 64–68, 1970.
- Giotto, A.C.; Oliveira, S.C.C.; Silva, J.P.G. Efeito alelopático de *Eugenia dysenterica* Mart. Ex DC. Berg. (Myrtaceae) na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). Nota Científica. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre. v. 5, supl. 2: 600-602, 2007.
- Goeschl, J.D.; Kays, S.J. Concentration dependencies of some effects of ethylene on etiolated pea, peanut, bean, and cotton seedlings. **Plant Physiology**, v. 55: 670–677, 1975.
- Hadacek, F. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 21. n. 4: 273-322. 2002.
- Hallak, A.M.G.; Davide, L.C.; Gavilanes, M.L.; Souza, I.F. Efeito de exsudatos de raiz de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) sobre características anatômicas do caule de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ciências e Agrotecnologia**. Lavras. v. 23, n. 2: 317-322, 1999.
- Helariutta, Y. Cell signalling during vascular morphogenesis. **Biochemical Society Transactions**, v. 35: 152–155, 2007.
- Inderjit. Plant phenolics in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 62: 186-202, 1996.
- Jackson, M. B. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. **Ann. Plant Physiology**, v. 36: 145-17, 1985.
- Jacobi, U.S. & Ferreira, A.G. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 7, n. 26: 935-943, 1991.

- Jerônimo, C.A. **Efeitos do extrato aquoso de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hil no desenvolvimento inicial e na síntese protéica de plântulas de *Sesamum indicum* L.** Dissertação para obtenção do título de mestre. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2006.
- Johansen, D.A. **Plant microtechnique.** McGraw-hill Book Company Inc., New York, 1940.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Editora Universidade Rural, Rio de Janeiro: 18-61, 1997.
- Lee, J.S.; Chang, W.K.; Evans, M.L. Effects of ethylene in the kinetics of curvature and auxin redistribution in gravistimulated roots of *Zea mays*. **Plant Physiology**, v. 94: 1770–1775, 1990.
- Lorteau, M.A.; Ferguson, B. J.; Guinel, F. C. Effects of cytokinin on ethylene production and nodulation in pea (*Pisum sativum*) cv. Sparkle. **Physiologia Plantarum**, v. 112: 421-428, 2001.
- Miyawaki, K., Matsumoto-Kitano, M.; Kakimoto, T. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in *Arabidopsis*: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. **Plant Journal**, v. 37: 128–138, 2004.
- Muller, W.H. & Hauge, R. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: Effect on seedling anatomy. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 94, n.3: 182-191, 1967.
- Oliveira, S.C.C. **Alelopatia em *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae).** Dissertação de mestrado. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica – UnB, 2003.
- Oliveira, S.C.C.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3: 401-406, 2004.
- Palhares, D. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae Jussieu). **Revista Lecta**. Bragança Paulista, v. 21, n. 1/2: 29-36, 2003.
- Pierik, R.; Verkerke, W.; Voeselek, R.A.C.J.; Blom, K.W.P.M.; Visser, E.J.W. Thick Root Syndrome in Cucumber (*Cucumis sativus* L.): A description of the phenomenon and an investigation of the role of ethylene. **Annals of Botany**, v. 84: 755-762, 1999.
- Piña-Rodrigues, F.C.M & Lopes, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1:130-136, 2001.
- Pires, N.M.; Souza, I.R.P.; Prates, H.T.; Faria, T.C.L.; Filho, I.A.P.; Magalhães, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1: 55-65, 2001.
- Rice, E.L. **Allelopathy.** 2ªed. Academic Press. New York, 1984.

- Saxena, A.; Sing, D.V.; Joshi, N.L. Autotoxic effects of pearl millet aqueous extratcts on seed germination and seedling growth. **Journal of Arids Environments**, v. 33: 255-260, 1995.
- Shaw, S. & Wilkins, M.B. The source and lateral transport of growth inhibitors in geotropically stimulated roots of *Zea mays* and *Pisum sativum*. **Planta**, v. 109: 11–26, 1973.
- Silva Júnior, M.C.; Santos, G.C.; Nogueira, P.E.; Munhoz, C.B.R.; Ramos, A.E. **100 Árvores do Cerrado. Guia de Campo**. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado. 278 p, 2005.
- Soares, G.L.G.; Scalon, V.R.; Pereira, T.O.; Vieira, D.A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 9, n. 1: 199-126, 2002.
- Souza, L.M.; Canini, G.B.; Aires, S.S.; Borghetti, F. Efeito alelopático de quatro espécies do Cerrado sobre crescimento do gergelim. Nota Científica. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 5, supl. 2: 540-542, 2007.
- Taiz, L. & Zeiger, E. **Fisiologia Vegetal**. Ed. Artmed. São Paulo- SP. 3ªed. 719p, 2004.
- Takei, K.; Ueda, N.; Aoki, K.; Kuromori, T.; Hirayama, T.; Shinozaki, K.; Yamaya, T.; Sakakibara, H. AtIPT3 is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis*. **Plant Cell Physiology**, v. 45: 1053–1062, 2004.
- Weir, T.L.; Park, S.; Vivanco, J.M. Biochemical and physiological mechanisms by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7: 472-479, 2004.
- Zhang, Y-J.; Lynch, J.P.; Brown, K. M. Ethylene and phosphorus availability have interacting yet distinct effects on root hair development. **Journal Experimental Botany**, v. 54: 2351-2361, 2003.

### Conteúdo de água das sementes

O teste realizado de determinação do teor de umidade foi: “Estufa a baixa temperatura constante” (Brasil, 1992). Como resultado, as sementes de gergelim perderam, aproximadamente, 90% de água e as sementes de rabanete, 88%. Assim, a porcentagem de água perdida foi bem próxima da descrita para sementes ortodoxas conforme a literatura. Os testes indicam que o teor de umidade das duas sementes é parecido, e podem ser classificadas como ortodoxas (Fonseca & Freire, 2003).

**Tabela 1.** Porcentagem de umidade das sementes de gergelim (G) e rabanete (R) para cada grupo amostral. Experimento foi realizado em duplicata.

	Placa 1 (G)	Placa 2 (G)	Placa 1 (R)	Placa 2 (R)
<b>% Umidade</b>	9,1%	9,5%	9,7%	10,9%

Sementes ortodoxas são aquelas que toleram dessecação até graus de umidade próximos de 2% a 5% ou mesmo abaixo desses níveis, ou seja, podem tolerar desidratação quase completa. Conforme (Castro *et al.*, 2004) esse tipo de semente tolera um grau de perda de água que varia entre 90 a 95%. Já as sementes recalcitrantes não toleram dessecação até graus de umidade entre 15% e 20% (Fonseca & Freire, 2003) e por isso, em geral, têm períodos de vida muito limitados em seu armazenamento (Castro *et al.*, 2004).

### Porcentagem de inibição

Porcentagem de inibição do crescimento para partes aéreas e radiculares das plântulas de *S. indicum* (gergelim) e *R. sativus* (rabanete) tratadas com extrato de *E. dysenterica* nas concentrações de 1% e 3%.

**Tabela 2.** Porcentagem de inibição (%) das plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações de extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3%.

Tratamentos	Gergelim	Rabanete
<b>Parte Aérea</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	17,3% a	-59,1% a
<b>3%</b>	53,0% b	23,5% b
<b>Parte Radicular</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	69,5% a	69,3% a
<b>3%</b>	81,7% a	86,8% b

Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes. Análise estatística segundo o teste de Tukey e Kruskal-Wallis para a parte radicular do rabanete com  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento).

**Tabela 3.** Porcentagem de inibição (%) das plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob efeito do extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) nas concentrações de 1% e 3% com ajuste para pH 4,7 e pH 7,0.

Tratamentos	Gergelim pH 4,7	Gergelim pH 7,0
<b>Parte Aérea</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	40,8% a	69,4% a
<b>3%</b>	60,8% a	71,1% a
<b>Parte Radicular</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	71,0% a	82,7% a
<b>3%</b>	89,0% b	87,7% a

Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes. Análise estatística segundo o teste de Tukey e  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento).

**Tabela 4.** Porcentagem de inibição (%) das plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob efeito do extrato aquoso foliar de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) nas concentrações de 1% e 3% com ajuste para pH 4,7 e pH 7,0.

Tratamentos	Rabanete pH 4,7	Rabanete pH 7,0
<b>Parte Aérea</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	-08,2% a	-26,8% a
<b>3%</b>	17,7% a	01,5% a
<b>Parte Radicular</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	76,3% a	73,7% a
<b>3%</b>	86,5% a	82,3% b

Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes. Análise estatística segundo o teste de Tukey e  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento).

**Tabela 5.** Porcentagem de inibição (%) das plântulas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob concentrações de extratos aquosos foliares de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas.

Tratamentos	Gergelim F. Seca	Gergelim F. Fresca
<b>Parte Aérea</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	14,0% a	01,2% a
<b>3%</b>	62,5% b	17,9% a
<b>Parte Radicular</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	59,4% a	35,8% a
<b>3%</b>	85,4% a	68,9% b

Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes. Análise estatística segundo o teste de Tukey e Kruskal-Wallis para a parte radicular do gergelim – folha fresca – com  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento).

**Tabela 6.** Porcentagem de inibição (%) das plântulas de rabanete (*Raphanus sativus* L.) sob concentrações de extratos aquosos foliares de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) a 1% e 3% provenientes de folhas secas e frescas.

Tratamentos	Rabanete F. Seca	Rabanete F. Fresca
<b>Parte Aérea</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	-05,6% a	18,2% a
<b>3%</b>	03,5% a	26,7% a
<b>Parte Radicular</b>		
<b>Controle</b>	0	0
<b>1%</b>	83,6% a	71,5% a
<b>3%</b>	86,5% a	80,3% a

Letras iguais significam valores estatisticamente semelhantes. Análise estatística segundo o teste de Tukey e  $\alpha = 0,05$  (n=30 sementes/tratamento).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV. 365p, 1992.

Castro, R.D.; Bradford, K.J.; Hilhorst, H.W.M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: A.G. Ferreira & F. Borghetti. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 251-262, 2004.

Fonseca, S.M.L. & Freire, H.B. Sementes recalcitrantes: problemas na pós-colheita. **Bragantia**. Campinas, v. 62, n. 2: 297-303, 2003.