

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Departamento de Fitotecnia
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Sementes



Tese

**AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO DESEMPENHO DE
SEMENTES E PLÂNTULAS DE ALFACE E ARROZ
VERMELHO**

Tiago Zanatta Aumonde

Pelotas, 2012

TIAGO ZANATTA AUMONDE

**AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO DESEMPENHO DE SEMENTES E
PLÂNTULAS DE ALFACE E ARROZ VERMELHO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dario Munt de Moraes, Dr.

Co-Orientadores: Prof. Francisco Amaral Villela, Dr.
Prof. Luciano do Amarante, Dr.

PELOTAS
Rio Grande do Sul - Brasil
Novembro de 2012

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

A925a Aumonde, Tiago Zanatta

Ação de extratos vegetais no desempenho de sementes e plântulas de alface e arroz vermelho / Tiago Zanatta Aumonde; orientador Dario Munt de Moraes; co-orientadores Francisco Amaral Villela e Luciano do Amarante - Pelotas, 2012.-67f.: il.- Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

1.Araceae 2.Alelopatia 3.Teores de clorofila
4.Enzimas antioxidantes I.Moraes, Dario Munt de
(orientador) II.Título.

CDD 584.64

TIAGO ZANATTA AUMONDE

**AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO DESEMPENHO DE SEMENTES E
PLÂNTULAS DE ALFACE E ARROZ VERMELHO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Dejalma Zimmer

Pesq. Dra. Caroline Jácome Costa

Prof.Dr. Luciano do Amarante
(Co-orientador)

Prof.Dr. Dario Munt de Moraes
(Orientador)

Prof. Dr. Francisco Amaral Villela
(Co-orientador)

“Talvez, meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, que mais nos valoriza e também o que mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros crêem em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem por crerem não apenas em nós, mas também no que cremos”.

Albert Einstein

“Aos meus pais **Iria e João**, pela vida, amor, exemplo de dedicação, por oportunizarem tudo de melhor em minha caminhada e constituírem o melhor de mim, *dedico*”.

“A minha irmã **Thaisy** e à **Emanuela** minha namorada, pelo carinho, *ofereço*”.

AGRADECIMENTOS

Ao **Ser superior**, por mostrar através da vida, dos fatos e das pessoas, que enquanto existe luta e vontade de vencer também existem grandes vitórias.

A **CAPES** pela concessão de bolsa.

Ao orientador **Prof. Dario**, pela orientação, amizade e momentos de descontração.

Ao **Prof. Villela**, pela co-orientação, conselhos e sobre tudo, pela amizade e incentivo.

Ao **Prof. Luciano do Amarante**, pela co-orientação e amizade.

A meus pais **Iria e João**, meus melhores livros...minha “base forte”...“meu refúgio”. Agradeço, por estarem ao meu lado em todos os momentos incentivando ou criticando construtivamente. Tenho tudo que preciso para ser feliz e minha vida só faz sentido porque tenho vocês. Minha eterna admiração e carinho.

A minha irmã **Thaisy**, por me receber com um sorriso tímido e um abraço aconchegante. Por mostrar que minha vida só é completa com você. O meu carinho.

A **Emanuela**, minha namorada, que ao longo do tempo demonstra nas coisas mais simples o quão grande é seu carinho. Que nossos passos estejam lado a lado.

Aos **meus avós**, em especial ao **Deonísio** pelo bom abraço na chegada e, ao **Gregório** pelo exemplo de simplicidade.

Ao grande amigo **Tiago Pedó** que ao decorrer do tempo continua firmando uma amizade verdadeira.

Ao estagiário **Marcelo Cappellari**, pelo auxílio durante a realização dos experimentos.

Ao amigo **Júnior Borella**, pelo auxílio e amizade.

Ao meu amigo **Prof. Nei Lopes**, por oportunizar sua amizade e bons momentos de convivência.

Ao Prof. **Marcos Antonio Bacarin**, pela amizade e por disponibilizar as dependências do laboratório de Metabolismo Vegetal.

A EPAGRI - estação Araranguá pelo fornecimento de sementes de arroz vermelho.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO GERAL	1
LITERATURA CITADA	6
ARTIGO I - Alterações fisiológicas em sementes e metabolismo antioxidativo de plântulas de alface expostas à ação do extrato de <i>Zantedeschia aethiopica</i> Spreng	10
Resumo	10
Abstract	11
Introdução	11
Material e métodos	12
Resultados e discussão	16
Conclusões	21
Referências bibliográficas	22
ARTIGO II - Respostas fisiológicas de sementes e plântulas de alface submetidas ao extrato de <i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott	29
Resumo	29
Abstract	30
Introdução	30
Material e métodos	32
Resultados e discussão	36

Conclusões.....	41
Referências bibliográficas	41
ARTIGO III - Desempenho fisiológico e metabolismo antioxidativo de plântulas de arroz vermelho sob ação do extrato de filodendro	48
Resumo.....	48
Abstract.....	49
Introdução.....	49
Material e métodos.....	50
Resultados e discussão	54
Conclusão.....	60
Referências.....	60
Considerações gerais.....	66

RESUMO

AUMONDE, Tiago Zanatta. Universidade Federal de Pelotas, Novembro de 2012. **Ação de extratos vegetais no desempenho de sementes e plântulas de alface e arroz vermelho.** Orientador: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes.

As plantas podem produzir compostos com potencial de inibição da germinação e do crescimento inicial de outras espécies vegetais. O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia de Sementes - UFPel, nos anos de 2010 a 2012 e objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de extratos vegetais sobre a fisiologia de sementes e plântulas de alface e arroz-vermelho. Nos artigos 1 e 2, foram utilizados extratos de folhas maduras de *Zantedeschia aethiopica* e *Philodendron bipinnatifidum* nas concentrações 0; 6; 12; 25 e 50%, estabelecidas a partir da diluição do extrato 100% concentrado em água destilada. Como espécie alvo utilizou-se sementes de alface. No artigo 3, a espécie alvo foi arroz vermelho e utilizou-se o extrato de folhas maduras de *P. bipinnatifidum* nas concentrações 0; 12; 25; 50 e 75%. Foram avaliados a germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e raiz primária, massa seca total de plântulas, condutividade elétrica, teores de clorofila, atividade das enzimas superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), peroxidação de lipídica, peróxido de hidrogênio e emergência de plântulas, comprimento de parte aérea e de raiz e massa seca total das plântulas emergidas. Em sementes e plântulas alface expostas a ação do extrato de folhas de *P. bipinnatifidum*, a atividade da enzima alfa-amilase foi alterada na semente, nas plântulas da primeira contagem e do teste de germinação. O aumento da concentração do extrato de *Z. aethiopica* e *P. bipinnatifidum* reduziu a emergência de plântulas, alterou os teores de clorofila e a atividade da SOD, CAT, APX e incrementou a peroxidação lipídica em plântulas. Os extratos afetaram negativamente o desempenho fisiológico das sementes de alface e arroz vermelho e proporcionaram acúmulo de peróxido de hidrogênio com o aumento da concentração, prejudicando a integridade de membranas celulares, colaborando para o estresse oxidativo e a redução da incidência de plântulas normais.

Palavras chave: Araceae, alelopatia, teores de clorofila, enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

AUMONDE, Tiago Zanatta. Federal University of Pelotas, in November 2012. **Action of extracts on the performance of seeds and seedlings of lettuce and red rice.**

Advisor: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes.

Plants can produce compounds with potential for inhibition of germination and initial growth of other plant species. The work was conducted at the Laboratory of Seed Physiology - UFPel in the years 2010 to 2012 and aimed to evaluate the effect of different concentrations of vegetable extracts on the physiology of lettuce and red rice seeds and seedlings. In Articles 1 and 2, we used extracts of leaves of *Zantedeschia aethiopica* e *Philodendron bipinnatifidum* at concentrations of 0, 6, 12, 25 and 50%, established from dilution of the 100% concentrated extract in distilled water. Target species as was used lettuce seeds. In the article 3, the red rice was a target species and used the leaves extract of *P. bipinnatifidum* at concentrations 0; 12; 25; 50 and 75%. Were evaluated the germination, first count germination, germination speed index, length of shoot and primary root, seedling total dry mass, electrical conductivity, chlorophyll content, activity of the enzymes, alfa-amylase, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbarto peroxidase (APX), lipid peroxidation, content of hydrogen peroxide and seedling emergence, length of organs and total dry mass of seedlings emerged. When lettuce seeds and seedlings were exposed to the action of the leaves extract of *P. bipinnatifidum*, the activity of the enzyme α -amylase changed in seed, first germination and germination test. The increasing of concentration the extract of *Z. aethiopica* and *P. bipinnatifidum* provided reduction of seedling emergence, changes in chlorophyll content and activity of the enzymes SOD, CAT, APX and lipid peroxidation in seedlings. The extracts negatively affected the physiological performance of lettuce and red rice seeds. Provided hydrogen peroxide accumulation with increasing concentration, damaging the integrity of cell membranes, contributing to oxidative stress and reducing the incidence of normal seedlings.

Key words: Araceae, allelopathy, chlorophyll content, antioxidant enzymes.

INTRODUÇÃO GERAL

O termo alelopatia foi proposto por Molish em 1937 para se referir a interações bioquímicas entre diferentes plantas e entre microorganismos. Posteriormente, foi redefinido, referindo-se a como sendo qualquer efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico, que uma planta exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados para o ambiente (RICE, 1984; WEIR et al., 2004).

As interações alelopáticas derivam de metabólitos secundários denominados aleloquímicos. Estes, por sua vez, são originados das rotas do acetato e/ou chiquimato e sua liberação para o meio é efetuada por volatilização, exsudação radicular, lixiviação ou decomposição de resíduos, que são fatores determinantes da sua ação (REIGOSA et al., 2005).

Os aleloquímicos são produzidos em diferentes órgãos do vegetal e a concentração e qualidade dos compostos é variável em função do local de síntese que, por sua vez, são determinados pelo estágio de desenvolvimento, sazonalidade, condição edafoclimática, de acordo com a espécie e dentro da própria espécie (DELACHIAVE et al., 1999; FERREIRA & ÁQUILA, 2000; GOBO-NETTO & LOPES, 2007).

A ação do aleloquímico é pouco específica e determinada substância pode desempenhar variadas funções de acordo com a concentração, translocação, detoxicação e composição química (ALMEIDA, 1988). Substâncias alelopáticas podem ocasionar alteração no padrão de germinação refletindo na modificação da permeabilidade de membranas, interferindo na dormência de sementes, transcrição e tradução do RNA, no funcionamento dos mensageiros secundários, na respiração por sequestro de oxigênio e na conformação de enzimas e receptores, ou ainda, pela ação combinada destes fatores. Também podem ser observadas alterações em nível celular, na fotossíntese e na síntese proteica, no metabolismo de lipídios e na atividade enzimática (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Segundo Rodrigues et al. (1999), o efeito alelopático é resultado da interação complexa entre fatores genéticos e ambientais de modo que interações

alelopáticas inibem e reduzem a porcentagem e a velocidade de germinação e causam diminuição do crescimento inicial, sendo estas, respostas secundárias de efeitos primários que ocorrem no processo metabólico das plantas (PEDROL et al., 2006; BLANCO, 2007). O efeito dos aleloquímicos, conforme Rezende et al. (2003), é relacionado a processos fisiológicos na planta e que seus mecanismos de ação não estão completamente esclarecidos.

A autotoxicidade e heterotoxicidade são diferentes mecanismos pelos quais o efeito alelopático se processa. Se determinada espécie produz compostos que inibem ou retardam a germinação e o crescimento próprios, caracteriza-se o mecanismo intraespecífico denominado autotoxicidade. Por outro lado, se esse mecanismo ocorre de maneira interespecífica é dito que o efeito alelopático é por heterotoxicidade (MILLER, 1996).

A avaliação da tolerância ou resistência aos extratos vegetais é realizada por meio de plantas indicadoras, dotadas de rápida e uniforme germinação e de determinado grau de sensibilidade, de maneira a permitir expressão dos resultados, mesmo sob baixas concentrações das substâncias alelopáticas. Usualmente são empregadas como indicadoras de atividade fitotóxica as espécies *Lactuca sativa* L., *Lycopersicon esculentum* Mill e *Cucumis sativus* L. (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Estudos buscam avaliar o efeito alelopático ocasionado por diferentes espécies. Ouesltati (2003) estudou o efeito de extratos de diferentes órgãos de *Triticum durum* L. sobre a germinação de sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.); Chon & Kim (2004) analisaram o potencial herbicida e quantificaram os aleloquímicos provenientes de extratos de diferentes gramíneas; Han et al. (2008) observaram o efeito negativo de extratos de gengibre (*Zingiber officinale* (Willd.) Roscoe) sobre a germinação e o crescimento de plântulas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill); Hoffman et al. (2007) verificaram o efeito de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott, por meio da porcentagem e do índice de velocidade de germinação; Barbosa et al. (2008) efetuaram trabalho para avaliar o efeito de extratos de *Brachiaria decumbens* Stapf. sobre a germinação de sementes de alface; Ferreira et al. (2008) investigaram o efeito alelopático de capim anoni (*Eragrostis plana* Nees) sobre a germinação de sementes de gramíneas nativas e exóticas; Manoel et al. (2009) estudaram o efeito das plantas barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link) na germinação e no desenvolvimento de plântulas de tomate; e Oliveira et al. (2009) buscaram

analisar o potencial alelopático do extrato aquoso da casca e polpa de frutos de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.).

Diversos trabalhos têm demonstrado o potencial alelopático proporcionado por compostos tóxicos presentes em extratos vegetais. Pires et al. (2001), afirmam que extrato de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) exerceu efeito fitotóxico em *Bidens pilosa* e *Amaranthus hybridus*; Kato-Noguchi (2003) obteve redução na germinação e crescimento de *Amaranthus caudatus*; Dayan et al (2010) verificaram inibição da germinação e do fotossistema I da fotossíntese em sorgo (*Sorghum bicolor* L.), ocasionados por uma quinona. Similarmente, foram observadas alterações na germinação e no crescimento por Periotto et al. (2004), ao aplicarem extratos de *Andira humilis* em rabanete (*Raphanus sativus* L.). Ao encontro desses, estudando o efeito de óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn.) e capim-citronela (*ymbopogum citratus* (DC) Stapf.), Alves et al. (2004), verificaram o potencial alelopático inibitório dessas espécies sobre sementes de alface; Ao avaliarem o potencial alelopático de *Tropaeolum majus* L., Formagio et al. (2012), observaram que a germinação e o crescimento de *Bidens pilosa* são mais afetados pelo extrato de folha comparativamente àqueles obtidos dos demais órgãos; Ao exporem sementes de diversas espécies cultivadas à extratos de *Eucalyptus globulus* e *Casearia sylvestris*, Yamagushi et al. (2011), obtiveram redução do índice de velocidade de germinação e plântulas com raízes atrofiadas; Ao avaliarem o potencial tóxico de *Azadirachta indica*, Rickli et al. (2011), verificaram que o tempo e a velocidade média de germinação de sementes de soja foram afetados negativamente pelo extrato. Rice (1984) considera a degradação da clorofila como sintoma do aleloquímico sobre a planta e a redução no teor desse pigmento pode ser devido à degradação ou inibição da síntese (YU et al., 2003);

De acordo com Gorla & Perez (1997), pesquisas alelopáticas oferecem ilimitadas oportunidades para resolver problemas práticos da agricultura, além de contribuir para o conhecimento de química e biologia de relações interespecíficas. Desse modo, o efeito benéfico dos compostos alelopáticos também é estudado, sendo obtidos resultados satisfatórios e favoráveis em relação à germinação e ao crescimento (VYVYAN, 2002; DE SOUZA et al., 2003; ALVES et al., 2004).

A qualidade da semente é definida por atributos genéticos, fisiológicos, físicos e sanitários. A germinação é uma das características que determina a qualidade fisiológica da semente, enquanto, o teste de germinação objetiva

determinar o potencial máximo de germinação do lote de sementes, podendo ser empregado para comparar a qualidade de diferentes lotes e estimar o valor de semeadura no campo (PESKE et al., 2012).

De acordo com Ferreira & Áquila (2000), o processo de germinação é menos sensível aos aleloquímicos se comparado ao crescimento da plântula. Nesse aspecto, afirmam que a incidência de plântulas anormais e a necrose da raiz primária, podem ser sintomas bastante frequentes e assim, a emergência da raiz, que é critério morfológico de germinação, deve ser avaliada, sendo posteriormente efetuados testes de germinação em solo ou areia. Rice (1984) afirma que existe grande diversidade de trabalhos avaliando o efeito alelopático sobre a germinação, por ser mais fácil a tomada de dados.

No processo germinativo, durante a embebição da semente, ocorre a ativação da enzima alfa-amilase pela forma ativa do fitormônio giberelina e de enzimas beta-amilases (FERREIRA & BORGHETTI, 2004). A partir de então, inicia-se a hidrólise das reservas de maneira a fornecer substrato para a respiração e assim, energia e esqueletos carbônicos para o crescimento e desenvolvimento do embrião (MARCOS FILHO, 2005).

As enzimas superóxido-dismutase, peroxidase e catalase promovem a remoção de radicais livres durante o processo de deterioração em sementes (MUNIZ et al., 2007). Neste contexto, Singh et al. (2002) afirmam que lactonas sesquiterpênicas são capazes de inibir a germinação e afetar proteínas hidrossolúveis, carboidratos e a atividade das enzimas alfa e beta amilase. Samaj et al. (2004) e Cruz-Ortega et al. (2007) relatam que a ação de determinados aleloquímicos aumenta a atividade de enzimas do metabolismo antioxidativo.

No que tange ao vigor, substâncias dotadas de potencial aleloquímico podem influenciar na velocidade, porcentagem de emergência de plântulas e no estado final, ou diretamente, no crescimento da planta. Marcos Filho et al. (1987) afirmam que o vigor é relacionado à integridade do sistema de membranas celulares e pode ser avaliado por meio da condutividade elétrica, medida quantitativa da presença de íons contidos na água de embebição, cuja intensidade é proporcional ao estado de desorganização das membranas celulares.

Segundo Neves & Moraes (2005), testes de qualidade fisiológica envolvendo germinação, condutividade elétrica e análises bioquímicas, como solubilização, degradação do amido e atividade das enzimas hidrolases, podem fornecer

parâmetros do vigor e viabilidade das sementes diante de agentes externos. Podendo estes, ser utilizados com a finalidade de avaliar o efeito de determinado extrato vegetal com potencial alelopático sobre a qualidade fisiológica da semente.

Algumas espécies ornamentais produzem óleos essenciais e pigmentos objetivando a atração de polinizadores, enquanto outras sintetizam taninos, lactonas e alcalóides com propriedades tóxicas a animais. Entre as espécies de interesse podem ser citadas *Zantedeschia aethiopica* (copo-de-leite) e a espécie *Philodendron bipinnatifidum* (filodendro ou banana-de-mico), ambas pertencentes à família Araceae e empregada com fins ornamentais. A primeira produz compostos aromáticos lignóides, flavonóides e drusas de oxalato de cálcio (GRECA et al., 1998), enquanto a segunda, apresenta em sua constituição limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, além de outros compostos (FEITOSA et al., 2007), que demonstram o possível potencial fitotóxico de seus extratos. Entre os principais compostos tóxicos identificados em tecidos de origem vegetal, estão os esteróides, fenóis e terpenos, os alcalóides e os taninos, as cumarinas e os flavonóides (PUTNAM & DUKE, 1978).

Estas espécies por sintetizarem compostos tóxicos, podem influenciar no desempenho fisiológico da semente e no crescimento de espécies cultivadas e daninhas. Além disso, devido ao manejo fitotécnico e à multiplicação conhecidos, estas ornamentais podem ser cultivadas em larga escala objetivando a extração de compostos para a síntese de produtos com vistas à melhoria da qualidade fisiológica de sementes, ou ainda, objetivando a inibição da germinação de espécies consideradas nocivas.

No Brasil, pesquisas referentes ao tema alelopatia são incipientes e na grande maioria, voltadas à avaliação rotineira de germinação e de crescimento inicial. Verifica-se carência de informações sobre os processos fisiológicos desencadeados ou bloqueados pela ação de extratos vegetais ou concentrações deste. Neste contexto, estudos relacionando atividade enzimática, pigmentos fotossintéticos, produção de radicais livres, peroxidação de lipídeos, integridade do sistema de membranas celulares e de outros testes empregados rotineiramente para a avaliação do vigor e germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas, constituem importante ferramenta na elucidação dos mecanismos de ação e resposta de determinado composto sobre o vegetal.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, F.S. **A alelopatia e as plantas**. Londrina: IAPAR, 1988. 62p.
- ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.; 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, p.1083-1086, 2004.
- BARBOSA, E.G.; PIVELLO, V.R.; MEIRELLES, S.T. Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n.6, p.825-831, 2008.
- BLANCO, J.A.; The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. **Ecological Modelling**, v.209, n.24, p.65-77, 2007.
- CHON, S.U.; KIM J Y. M. Herbicidal potential and quantification of suspected Allelochemicals from Four Grass Crop Extracts. **Agronomy & Crop Science**, v.190, n.2, p.145-150, 2004.
- CRUZ-ORTEGA, R.; NÚÑEZ-LARA, A.; ANAYA, A.L. Allelochemical stress can trigger oxidative damage in receptor plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.2, n.4, p.269-270, 2007.
- DAYAN, F.E.; RIMANDO, A.M.; PAN, Z.; BAERSON, S.R.B.; GIMSING, A.L.; DUKE, S.O. Sorgoleone. **Phytochemistry**, v.71, n.10, p. 1032-1039, 2010.
- DELACHIAVE, M.E.A.P.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Efeitos alelopáticos de grama seda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n.1, p. 194-1997, 1999.
- DE SOUZA, A.A.; BRUNO, R.L.A.; ARAÚJO, E.; BRUNO, B.G. Microflora e qualidade fisiológica de sementes do algodoeiro tratadas com fungicidas químicos e extrato de aroeira. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.56-64, 2003.
- FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 321 p.
- FERREIRA, G. F.; ÁQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, (edição especial), p.175-204, 2000.

- FEITOSA, C.M.; BEZERRA, M.Z.B.; CITÓ, A.M.G.L.; COSTA JUNIOR, J. S.; LOPES, J.A.D.; MIOTA Neto, J.M. Constituintes químicos de *Philodendron imbé* Schott. **Química Nova**, v.30, n.1, p.41-44, 2007.
- FERREIRA, N.R.; MEDEIROS, R.B.; SOARES, G.L.G. Potencial alelopático do capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.43-50, 2008.
- FORMAGIO, A.S.; MASETTO, T.E.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A.H.; COSTA, W.F.; TREVIZAN, L.N.F.; SARRAGIOTTO, M.H. Potencial alelopático de *Tropaeolum majus* L. na germinação e crescimento inicial de plântulas de picão-preto. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p. 83-89, 2012.
- GOBBO-NETTO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.
- GORLA, C.M.; PEREZ, C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans Triana*, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.260-265, 1997.
- GRECA, M.D.; FERRARA, M.; FIORENTINO, A.; MONACO, P.; PREVITERA, L. Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica*. **Phytochemistry**, v.49, n.5, p.1299-1304, 1998.
- HAN, C-M.; PAN, K-W.; WANG, J-C.; LI, W. Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. **Scientia Horticulturae**, v. 116, n.3, p.330-336, 2008.
- HOFFMAN, C.E.F.; NEVES, L.A.S.; BASTOS, C.F.; WALLAU, G.L. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.6, n.1, p.11-21, 2007.
- KATO-NOGUCHI, H. Assessment of allelopathic potential of shoot powder of lemon balm. **Scientia Horticulturae**, v.97, n.3-4, p.419-423, 2003.
- MANOEL, D.D.; DOICHE, C.F.R.; FERRARI, T.B.; FERREIRA, G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. **Semina. Ciências Agrárias**, v.30, n.1, p.63-70, 2009.

- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987, 230 p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.
- MILLER, D.A. Allelopathy in forage crop systems. **Agronomy Journal**, v.88, n.6, p.854-859, 1996.
- MUNIZ, F.R.; CARDOSO, M.G; VON PINHO, E.V.R.; VILLELA, M. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.195-204, 2007.
- NEVES, L.A.S.; MORAES, D.M. Análise de vigor e da atividade da α – amilase em sementes de cultivares de arroz submetidas a diferentes tratamentos com ácido acético. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.4, n.1, p.35-43, 2005.
- OLIVEIRA, A.K.; DIÓGENES, F. E.P.; COELHO, M.F.B.; MAIA, S.S.S. Alelopatia em extratos de frutos de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae). **Acta Botânica Brasílica**, v.23, n.4, p.1186-1189, 2009.
- OUESLATI, O. Allelopathy in two durum wheat (*Triticum durum* L.) varieties. **Agricultures, Ecosystems and Environment**, v.96, n.1-3, p.161-163, 2003.
- PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L.; REIGOSA, M. J. Allelopathy and abiotic stress. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds). **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Dordrecht: Springer, 2006, p.171-209.
- PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Allelopathy in agrossystems. **Annual Review Phytopathology**, v.16, p.43-451, 1978.
- SINGH, H.P.; BATISH, D.R., KOHLI, R.K.; SAXENA, D.B.; ARORA, V. Effect of parthenin – a sesquiterpene lactone from *Parthenium hysterophorus* – on early growth and physiology of *Aegilum conyzoides*. **Journal of Chemical Ecology**, v.28, n.11, p.2169-2179, 2002.
- 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 Botânica Brasílica**, v.3, n.18, p.425-430, 2004.
- PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. 3 ed. 573p. Pelotas: Editora Universitária/UFPel, 2012.
- PIRES, N.M.; PRATES, H.T.; PEREIRA FILHO, I.A.; OLIVEIRA JR, R.S.; FARIA, T.C.L. Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agricola**. v.58, n.1, p.61-65, 2001.

- REIGOSA, M.J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds.) **Allelopathy**: a physiological process with ecological implications. Dordrecht: Springer, 2005, 637p.
- REZENDE, C. P.; PINTO, J. C.; EVANGELISTA, A. R.; SANTOS, I. P. A. **Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens**. ed. UFLA, 2003, 55p.
- RODRIGUES, B.N.; PASSINI, T.; FERREIRA, A.G. Research on allelopathy in Brazil. In: NARWAL, S. S. (Eds.). **Allelopathy update**. New Hampshire: Science Publishers. 1999. 422 p.
- RICE, E. L. **Allelopathy**. New York: Academic Press, 1984. 422 p.
- RICKLI, H.C.; FORTES, A.M.T.; SILVA, P.S.S. ; PILATTI, D.M.; HUTT, D.R. Efeito alelopático de extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. em alface, soja, milho, feijão e picão-preto. **Semina. Ciências Agrárias** , v.32, n.2, p. 473-484, 2011.
- SAMAJ, J.; BALUSKA, F.; DIEDRIK, M. New signaling molecules regulating root hair tip growth. **Plant Science**, v.9, n.5, p.217-220 2004.
- VYVYAN, J.R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, v.50, n.9, p.1631-1646, 2002.
- WEIR, T.L.; PARK, S-W.; VIVIANCO, J.M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Plant Biology**, v.7, n.4, p.472-479, 2004.
- YAMAGUSHI, M.Q.; GUSMAN, G.S.; VESTENA, S. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* Labill. e de *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. **Semina. Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1361-1374, 2011.
- YU, J.Q.; YE, S.F.; ZHANG, M.F.; HU, W.H. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n.2, p.129-139, 2003.

ARTIGO I
ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM SEMENTES E METABOLISMO
ANTIOXIDATIVO DE PLÂNTULAS DE ALFACE EXPOSTAS À AÇÃO DO
EXTRATO DE *Zantedeschia aethiopica* Spreng*

Resumo: Este trabalho objetivou avaliar a influência de concentrações do extrato de *Zantedeschia aethiopica* Spreng. sobre o desempenho fisiológico da semente e a resposta do metabolismo antioxidativo de plântulas de alface. Os tratamentos consistiram em extratos de folhas de *Z. aethiopica* Spreng. nas concentrações 0; 6; 12; 25 e 50%. Foram avaliados germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e de raiz primária, massa seca total de plântulas, teores de clorofila, atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, peroxidação lipídica, quantificação de peróxido de hidrogênio e emergência de plântulas, comprimento de órgãos e massa seca total das plântulas emergidas. A porcentagem de germinação, o comprimento de parte aérea e de raiz primária de plântulas do teste de germinação e a massa seca total de plântulas emergidas em casa de vegetação foram reduzidos com a elevação da concentração do extrato. Houve aumento da condutividade elétrica, da atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e ascorbato-peroxidase e da quantidade de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica em plântulas com o incremento da concentração do extrato. O extrato reduziu o desempenho fisiológico das sementes de alface e induziu o aumento na produção de peróxido de hidrogênio em plântulas, o que elevou a atividade das enzimas antioxidativas que não foram eficientes na detoxificação dos tecidos, resultando em dano celular e aumento da incidência de plântulas anormais.

Palavras chave: *Lactuca sativa*, vigor, enzimas, teores de clorofila, crescimento inicial

*Artigo sob normas da Revista Interciência (Caracas)

PHYSIOLOGICAL CHANGES IN SEEDS AND ANTIOXIDANT METABOLISM OF LETTUCE SEEDLINGS EXPOSED TO THE ACTION OF EXTRACT *Zantedeschia aethiopica* Spreng

Abstract: The work aimed to evaluate the influence of extract concentrations of *Zantedeschia aethiopica* Spreng. on the physiological performance of the seed and the response of antioxidant metabolism of lettuce seedlings. The treatments consisted of extracts from leaves of *Z. aethiopica* at concentrations of 0, 6, 12, 25 and 50%. Were evaluated the germination, first count germination, speed and germination speed index, length of shoot and primary root, seedling total dry mass, chlorophyll content, activity of the enzymes superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase, lipid peroxidation, quantification hydrogen peroxide and seedling emergence, length of organs and total dry mass of seedlings. The percentage of germination, the length of the shoot and primary root of seedlings and the total dry mass of seedlings emerged in the greenhouse were reduced with increasing concentration of the extract. There was an increase of electrical conductivity, of the enzymes superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase and the amount of hydrogen peroxide and lipid peroxidation in seedlings with increasing concentration of the extract. The extract reduced the physiological performance of seeds of lettuce and induced the increased production of hydrogen peroxide in seedlings, which increased the activity of antioxidant enzymes that were not effective in detoxification of the tissues, resulting in cellular damage and increased abnormal seedlings.

Key words: *Lactuca sativa*, vigor, enzymes, chlorophyll content, early growth

INTRODUÇÃO

A espécie *Zantedeschia aethiopica* Spreng., conhecida popularmente como copo-de-leite, pertence a família Araceae e é cultivada com fins ornamentais. Plantas deste gênero produzem compostos aromáticos lignóides, havendo conhecimento da presença de flavonóides do tipo flavonol e flavona, especificamente as substâncias pironesinol, quercetina e drusas de oxalato de cálcio (Greca *et al.*, 1998), substâncias que tornam a espécie potencialmente fitotóxica.

As plantas possuem, por meio do metabolismo secundário, capacidade de produzir compostos conhecidos como aleloquímicos, dotados de potencial de inibição ou estímulo da germinação e do crescimento inicial (Macías *et al.*, 2007). Estes sintomas constituem reflexos secundários da ação do aleloquímico, que ao inibir, danificar ou inativar vias do sistema metabólico da semente e da plântula, alterando a bicamada fosfolipídica e o sistema de membranas celulares, o comportamento celular, fitormonal ou o fotossintético (Rizvi *et al.*, 1992; Chou, 1999; Chou, 2006), processos nos quais estão envolvidas formas reativas de oxigênio.

Diversos trabalhos foram efetuados objetivando identificar compostos ou avaliar o efeito alelopático de extratos sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas. Estudos alelopáticos envolvendo a avaliação do desempenho fisiológico de sementes, teor de pigmentos fotossintéticos e comportamento do metabolismo antioxidativo em plântulas são escassos. As enzimas superóxido-dismutase, peroxidases e catalases estão envolvidas na remoção de radicais livres durante o processo de deterioração de sementes (Rosa *et al.*, 2005) e a condições de estresse em plantas. A elucidação do metabolismo antioxidativo conjuntamente à determinação de pigmentos fotossintéticos e atributos de qualidade fisiológica, torna-se importante ferramenta em estudos alelopáticos, pois permite a compreensão de respostas visuais da semente ou da plântula ao estresse imposto pelo extrato, fornecendo subsídios à descrição do seu mecanismo de ação. Conjuntamente, não há conhecimento sobre trabalhos envolvendo *Zantedeschia aethiopica* Spreng., sendo justificável tal tarefa pela importância dos compostos nela identificados, o cálcio envolvido na regulação de diversas vias metabólicas vegetais e os flavonóides, um dos principais aleloquímicos isolados (Kink e Ambika, 2002).

Neste contexto, este trabalho objetivou avaliar a influência de concentrações do extrato de *Zantedeschia aethiopica* Spreng. sobre o desempenho fisiológico de sementes e na resposta do metabolismo antioxidativo de plântulas de alface.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia de Sementes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, situada na latitude 31°52' S, longitude 52°21' W e altitude 13 m.

O extrato concentrado de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* Spreng.) foi obtido a partir de folhas maduras completamente expandidas, dotadas de pecíolo e provenientes de plantas de meia sombra. As folhas foram previamente lavadas em água destilada e secas com papel toalha. Em razão da elevada quantidade de água na constituição, as folhas foram trituradas sem adição de tal elemento e centrifugadas em aparelho centrífugo comercial, onerando o tempo de 30 minutos. O extrato obtido considerado 100% concentrado foi armazenado em recipiente âmbar a temperatura de 10 °C, em refrigerador. Após 24 horas, o extrato concentrado foi submetido à filtração simples e o filtrado armazenado em recipiente âmbar, sob refrigeração a 10 °C.

Foram utilizadas sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), espécie alvo sensível a substâncias tóxicas, aleloquímicos e tolerante à ampla faixa de variação de pH e potencial osmótico (Rice, 1984).

Os tratamentos foram compostos pelas concentrações 0; 6; 12; 25 e 50% de extrato de copo-de-leite, empregando-se a relação v/v entre extrato vegetal e água destilada. Os extratos das diferentes concentrações tiveram o pH aferido, atingindo $6,0 \pm 0,1$.

Para avaliar o efeito das concentrações do referido extrato sobre o desempenho fisiológico de sementes e no metabolismo antioxidativo de plântulas foram realizados os seguintes testes:

Teste de germinação (%): conduzido por meio de quatro amostras com quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em caixas tipo gerbox, sobre duas folhas de papel mata-borrão umedecidas na proporção de 2,5 vezes a massa do papel, com as diferentes concentrações do extrato. Após, as caixas foram transferidas para câmara de germinação tipo BOD a 20 °C e período luminoso de 12h, mantido por quatro lâmpadas brancas fluorescentes de 25 W, tipo luz do dia. As avaliações foram efetuadas aos sete dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

Primeira contagem da germinação (%): realizada aos quatro dias após a semeadura, conjuntamente ao teste de germinação. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG): obtido a partir de contagens diárias das sementes germinadas (protrusão radicular mínima de 3 a 4 mm). As

contagens foram realizadas até a estabilização da germinação. O IVG foi calculado segundo Nakagawa (1994).

Teor de clorofila a, b e total de plântulas: a quantificação do teor de clorofila foi efetuada por meio de quatro amostras de 0,2 gramas por tratamento, aos sete dias após a semeadura, a partir de plântulas provenientes do teste de germinação. O material vegetal fresco foi macerado em 10 mL de acetona, 80% em gral com pistilo, em sala com luz verde. O macerado foi submetido à filtração simples e o volume de acetona completado para 25 mL (Arnon, 1949). Os dados obtidos foram calculados segundo Lichtenthaler (1987) e expressos em mg de clorofila g⁻¹ massa fresca.

Condutividade elétrica: conduzida de acordo com metodologia de Krzyzanowski *et al.* (1991) em quatro subamostras de 50 sementes. As sementes tiveram sua massa previamente aferida e foram submetidas à embebição nos extratos nas diferentes concentrações, por uma hora. Decorrido o tempo, foram lavadas com água destilada, transferidas para recipientes contendo 80 mL de água deionizada e mantidas em BOD, a temperatura constante de 20 °C. A condutividade elétrica foi determinada após 3, 6 e 24 horas e os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de sementes.

Comprimento de parte aérea e de raiz primária de plântulas: foram utilizadas quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação e de emergência em casa de vegetação aos 21 dias. O comprimento de parte aérea foi obtido pela distância entre a inserção da porção basal da raiz primária ao ápice da parte aérea, enquanto, o comprimento da raiz primária foi mensurado pela distância entre sua parte apical e basal. Os resultados foram expressos em milímetros por plântula.

Massa seca total de plântulas: obtida a partir da massa de quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação e de emergência em casa de vegetação aos 21 dias. As plântulas foram acondicionadas em envelopes de papel pardo e submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada sob temperatura de 70 °C até massa constante (72 horas). Os resultados foram expressos em miligramas por plântula.

Emergência de plântulas em casa de vegetação: conduzido em quatro subamostras de 50 sementes. A semeadura foi efetuada em bandejas de poliestireno expandido de duzentas células, contendo como substrato areia lavada.

As sementes foram previamente colocadas entre três folhas de papel germitest umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel por cinco minutos, objetivando evitar dano por embebição. Decorrido o tempo, as sementes foram embebidas nos extratos de diferentes concentrações por uma hora e conduzidas à semeadura. Vinte e um dias após a semeadura foi realizada a contagem final do número de plântulas, sendo os resultados expressos em porcentagem.

Conteúdo de H₂O₂ e peroxidação lipídica: ao final do teste de germinação, amostras de plântulas foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1 %. O homogenato foi centrifugado a 13.000g, durante 20 min à 4 °C e o sobrenadante utilizado para determinar o conteúdo de H₂O₂ e malondialdeído (MDA). Os níveis de peróxido de hidrogênio foram determinados de acordo com Velikova *et al.* (2000). Em tubos de ensaio, contendo 0,7 mL de tampão fosfato de potássio 10mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1 M, foram adicionados 0,3 mL do sobrenadante, e incubado por 10 minutos a 30 °C. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 390nm e a concentração de H₂O₂ expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa fresca. A peroxidação lipídica foi obtida via acúmulo de malondialdeído (MDA) e determinada por metodologia descrita por Cakmak e Horst (1991). Em tubos de ensaio contendo 0,3 mL do sobrenadante foram adicionados 1,7 mL do meio de reação de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) em TCA 10% (p/v), em seguida incubado a 90 °C, por 20 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e após, centrifugadas novamente a 10.000g durante cinco minutos, a 4 °C e a absorbância do sobrenadante determinada em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de complexos MDA-TBA (pigmento vermelho) foi calculada a partir do coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 155 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Atividade enzimática: ao final do teste de germinação, a determinação da atividade das enzimas antioxidantes foi efetuada por meio de amostras de matéria fresca de plântulas maceradas em gral e pistilo com nitrogênio líquido, contendo polivinilpirrolidona (PVPP) 20 % e homogeneizados em 1,8 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8) contendo EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 20 mM. O extrato foi centrifugado a 13.000g por 20 min à 4 °C e o sobrenadante utilizado para mensurar a atividade enzimática.

Superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1): a atividade foi avaliada pela capacidade da enzima inibir a fotoredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) a 560 nm em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 μ M, NBT 75 μ M e riboflavina 2 μ M conforme Giannopolitis e Ries (1997). Uma unidade de atividade da SOD foi definida como a quantidade de enzima que produz uma inibição de 50% da redução fotoquímica do NBT.

Catalase (CAT - EC 1.11.1.6): determinada pela decomposição do H_2O_2 conforme descrito por Azevedo *et al.* (1998). A atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm ($\epsilon = 39.4 \times 10^3 M^{-1} cm^{-1}$), durante dois minutos em meio de reação de 4 mL incubado a 30 °C, contendo extrato enzimático, tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e peróxido de hidrogênio 12,5 mM.

Ascorbato peroxidase (APX - EC 1.11.1.11): determinada por metodologia proposta por Nakano e Asada (1981) pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato (ASA) por 2 min a 290 nm ($\epsilon = 2.80 \times 10^3 M^{-1} cm^{-1}$). O meio de reação foi incubado a 30 °C e composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) ácido ascórbico 0,5 mM, H_2O_2 0,1 mM e extrato enzimático.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e, havendo significância a 5%, ajustados por polinômios ortogonais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de germinação de sementes de alface submetidas à ação do extrato de *Z. aethiopica* permitiu verificar similaridade nas porcentagens de germinação de submetidas aos tratamentos 0; 6 e 12% (Figura 1a). Entretanto, o número de plântulas normais foi reduzido drasticamente a partir da concentração 25% que provocou redução de cerca de 60% no número de plântulas normais, enquanto, a concentração 50% do extrato inibiu totalmente a germinação. A provável explicação para tal ocorrência está relacionada à presença de flavonóides já isolados em *Z. aethiopica* (Greca *et al.*, 1998), classe de compostos fenólicos cuja atuação inibe a germinação de sementes (Ducca e Zonetti, 2008). Além disso, o sistema antioxidativo das plântulas de alface mostrou não ter sido suficientemente eficiente na eliminação de formas reativas de oxigênio que se acumularam nos tecidos da semente frente ao estresse imposto, resultando em dano celular e aumento do número de plântulas anormais nas maiores concentrações do extrato, conforme

evidenciado pela peroxidação lipídica em plântulas (Figura 2b). Han *et al.* (2008) verificaram que extratos de maior concentração de rizoma e de folha de gengibre reduziram pela metade a porcentagem de germinação de sementes de soja e de cebolinha. Enquanto, Zhang *et al.* (2010) obtiveram redução da germinação de sementes de rabanete ao aumentarem a concentração do extrato aquoso de eucalipto e Coelho *et al.* (2011) constataram a ocorrência de menos de 10% de plântulas normais ao submeterem sementes de alface à concentração de 50% do extrato de juazeiro.

A primeira contagem de germinação apresentou similaridade até a concentração 12%, o que pode estar relacionado à tentativa de aclimatação e sobrevivência da espécie (Hong *et al.*, 2004). Houve posterior declínio acentuado da primeira contagem de germinação nas concentrações 25% e 50%, sendo o número de plântulas normais próximo de zero, na maior concentração do extrato (Figura 1a). Tal ocorrência evidencia que baixas concentrações do extrato não foram eficientes em causar fitotoxicidez à semente no início do processo germinativo. Esta ocorrência pode ser atribuída à menor sensibilidade da germinação ao efeito dos aleloquímicos comparativamente ao crescimento inicial (Ferreira e Àquila, 2000).

O índice de velocidade de germinação teve tendência de redução drástica ao aumentar a concentração do extrato (Figura 1b). Tal processo aconteceu a partir da concentração 6%, o que demonstra retardamento no processo germinativo com reflexos na redução do número de sementes germinadas por dia, efeito ocasionado pelo extrato. Assim, é possível considerar que baixas concentrações do extrato, mesmo não aumentando a atividade das enzimas do metabolismo antioxidativo (Figura 2c, 2d e 2e), atuaram negativamente sobre alguma via do metabolismo germinativo da semente, talvez sobre a capacidade de hidrólise e mobilização de reservas com vistas à formação de esqueletos carbônicos voltados ao crescimento do embrião (Muniz *et al.*, 2007). Singh *et al.* (2009) verificaram que o aumento da concentração do extrato aquoso de *Nicotiana plumbaginifolia* proporcionou redução do número de sementes de milho germinadas por dia, assim como Lima *et al.* (2011) ao submeterem sementes de alface a fração clorofórmio do extrato etanólico de *Euterpe edulis*.

Os teores de clorofila *a*, *b* e *total* apresentaram níveis distintos (Figura 1c), não sendo possível avaliar o efeito da concentração 50%, pela ausência de material vegetal suficiente para análise. A clorofila *a* mostrou tendência ao aumento até a

concentração 14,6% com posterior redução até a maior concentração do extrato avaliada, similarmente ao ocorrido com o teor de clorofila *b*, fato que colaborou para a redução do teor de clorofila *total*. O aumento no teor de clorofila *a* pode estar relacionado à reação de conversão da clorofila *b* em clorofila *a* por meio da enzima oxigenase, que catalisa a conversão do grupo metil a um grupo aldeído (Streit *et al.*, 2005). Entretanto, embora tenha ocorrido elevação no teor de clorofila *a*, em tese, não há garantia de maior eficiência na captação de energia radiante em tal processo, o qual também possui estreita relação ao teor de clorofila *b*, cujo incremento foi menos marcante. A clorofila *b* além de estar envolvida na absorção de energia luminosa possui função fotoprotetora (Marenco e Lopes, 2007), o que pode explicar sua suave elevação frente ao estresse imposto pelas menores concentrações do extrato. Cabe salientar que aleloquímicos interferem na fotossíntese por modificações no conteúdo de clorofila envolvendo enzimas clorofilases (Chou, 1999), sendo conhecido que flavonóides, ácidos fenólicos, cumarinas e polifenóis estão entre os principais aleloquímicos que alteram o transporte de elétrons e a fosforilação nos fotossistemas, inibindo a fotossíntese (Rizvi *et al.*, 1992). Aliado, como maiores concentrações do extrato proporcionaram redução quanti-qualitativa dos teores de clorofila é possível verificar o seu efeito negativo sobre o aparato fotossintético da plântula, o que permite evidenciar o efeito estressor proporcionado pelo extrato, conforme evidenciado pelo aumento da peroxidação lipídica e atividade das enzimas superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (Figura 2c, 2d e 2e).

A condutividade elétrica aumentou com a concentração do extrato nos três tempos de incubação indicando que indiferentemente ao tempo, houve em relação à concentração zero, tendência ao aumento na liberação de eletrólitos ao aumentar a concentração do extrato (Figura 1d). A liberação exacerbada de eletrólitos para o meio pode ser explicada pela redução da capacidade de reorganização da bicamada fosfolipídica e conseqüente perda da capacidade seletiva. Este fato aliado ao aumento na quantidade de peróxido de hidrogênio e da peroxidação lipídica verificados nas plântulas de alface (Figura 2a e 2b) é indicativo que o efeito fitotóxico do extrato possui ação no sistema de membranas celulares da semente e da plântula, que por sua vez, reflete-se no elevado número de plântulas anormais em concentrações mais elevadas do extrato.

O comprimento da parte aérea e raiz primária apresentou relação dose-resposta em laboratório e em casa de vegetação, com elevado nível de significância (Figura 1e e 2b). Houve tendência de redução do comprimento em ambas as características de crescimento ao aumentar a concentração do extrato. As plântulas sofreram maior efeito prejudicial do extrato sobre a raiz primária do que na parte aérea. Entretanto, em plântulas sob condições laboratoriais houve forte indício de oxidação da raiz primária nas concentrações 25 e 50% devido ao acúmulo de peróxido de hidrogênio (Figura 2a) e a ineficiência na detoxicação dos tecidos pelas enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, mesmo com a elevação acentuada da sua atividade (Figura 2c, 2d e 2e). Corroborando, a formação de anomalias na plântula pode ser resultado da presença de flavonóides que atuam alterando a permeabilidade das membranas celulares (Basilea *et al.*, 2003). O efeito mais pronunciado do extrato sobre a raiz primária pode ser atribuído à maior sensibilidade e pelo contato direto dos tecidos com o extrato (Chung *et al.*, 2001). Enquanto, a redução do comprimento de ambos os órgãos da plântula é devida à influência do extrato sobre o balanço hormonal da plântula (Alves e Santos, 2002). Cabe salientar que o comprimento de parte aérea não foi reduzido em detrimento da raiz primária, o que exclui o efeito de situações que simulam o déficit hídrico (Marenco e Lopes, 2007) e permite evidenciar o efeito tóxico do extrato sobre estes atributos de crescimento. Similarmente, Lima e Moraes (2008) obtiveram redução de raiz e de parte aérea ao testarem o efeito do extrato aquoso de *Ipomoea fistulosa* sobre a germinação e o crescimento inicial de alface e tomateiro. Enquanto, extratos de *Dicranopteris flexuosa* aumentam o crescimento da raiz de plântulas de alface e não alteram o comprimento de parte aérea (Silva *et al.*, 2011).

A massa seca total mostrou tendência ao aumento em plântulas obtidas em laboratório até a concentração 6% (Figura 1f), sendo o aumento do crescimento em menores concentrações do extrato, um mecanismo de defesa e sobrevivência vegetal (Hong *et al.*, 2004). A partir da concentração 12%, ocorreu decréscimo acentuado na massa seca total de maneira que plântulas submetidas à concentração 50% não obtiveram massa suficiente para aferição. Similarmente aos resultados obtidos em laboratório, o aumento na concentração do extrato de *Z. aethiopica* promoveu a redução da massa seca total nas plântulas em casa de vegetação, sendo as diferenças incrementadas a partir da concentração 6% (Figura 3c). Tal característica de crescimento reforça o fato de que o índice de velocidade de

germinação possa ter sido reduzido pela ação negativa do extrato sobre o sistema enzimático hidrolítico e de mobilização de reservas da semente, o que tem relação com a inibição da atividade da enzima α -amilase na presença de compostos fenólicos ou ainda, a inibição na síntese de ácido giberélico (Politycka e Gmerek, 2008). Ao avaliarem o efeito do extrato aquoso de leucena sobre sementes de milho, Pires *et al.* (2001) observaram redução da massa seca total das plântulas.

A emergência de plântulas foi reduzida com o aumento da concentração do extrato em uma relação dose-resposta (Figura 3a). Houve em sementes submetidas à concentração 6% do extrato a redução de 10% na emergência de plântulas, sendo esta variável, drasticamente reduzida em 55% na maior concentração do extrato comparativamente à concentração zero. Os resultados de emergência foram menos afetados em comparação aos dados de germinação obtidos em laboratório, o que se deve às condições favoráveis de laboratório, que além da germinação, podem ter favorecido a absorção e a translocação dos compostos presentes no extrato. A partir da avaliação da emergência, é possível inferir que o extrato de *Z. aethiopica* possui ação negativa sobre o vigor de sementes de alface, com estreita relação à danificação do sistema de membranas celulares, conforme evidenciado pelo aumento da condutividade elétrica com o incremento da concentração do extrato (Figura 1d). Além disso, é possível verificar a similaridade entre os resultados de germinação em laboratório, fato que discorda de Silva *et al.* (2011) que ao testarem o efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico de *Dicranopteris flexuosa* não verificaram diferenças na emergência de plântulas de alface, tomate e cebolinha.

A atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e ascorbato peroxidase foi altamente influenciada pela elevação na concentração do extrato de *Zantedeschia aethiopica* (Figura 2c, 2d e 2e). Houve tendência de acréscimo da atividade com a elevação da concentração do extrato. Entretanto, plântulas sob a ação das concentrações 0; 6 e 12% apresentaram respostas similares e menor atividade das enzimas SOD, CAT e APX aliado aos menores níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica (Figura 2a e 2b). Enquanto, plântulas expostas a concentrações 25 e 50% tiveram tendência de elevação acentuada na atividade das enzimas SOD, CAT e APX com o aumento da quantidade de peróxido de hidrogênio e da peroxidação lipídica, sendo mais drástico o efeito quanto maior concentração. A elevação da atividade antioxidante da enzima superóxido-dismutase ocorreu em

resposta ao estresse imposto pelo extrato aos tecidos das plântulas, provavelmente devido à elevação da quantidade de radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e visando promover a dismutação deste radical a peróxido de hidrogênio (Sinha e Saxena, 2006). A elevação no peróxido de hidrogênio ativou a enzima catalase que em conjunto com a enzima ascorbato-peroxidase foi responsável, até certo ponto, pela degradação do peróxido de hidrogênio e liberação de água pela APX e ainda, água e oxigênio molecular pela CAT (Barreiros *et al.*, 2006). Cabe salientar que, nas concentrações 6 e 12%, o dano ocasionado às plântulas foi menos acentuado, provavelmente devido ao sistema antioxidativo manter o equilíbrio entre a formação e a degradação de peróxido de hidrogênio (Matés, 2000). Por outro lado, as concentrações 25 e 50% promoveram severo estresse às plântulas, estimulando acentuadamente a elevação da atividade das enzimas SOD, CAT e APX.

Entretanto, é possível inferir que a elevação da atividade destas enzimas não foi suficiente para a eliminação dos radicais livres, com reflexos no aumento da concentração de peróxido de hidrogênio e consequente peroxidação lipídica, com danos ao sistema de membranas celulares, resultando no aumento da incidência de plântulas anormais. Ao submeterem plântulas de pepino a diferentes concentrações e extratos desta mesma espécie, Yu *et al.* (2003) obtiveram aumento da atividade enzima superóxido-dismutase e da peroxidação lipídica, enquanto Singh *et al.* (2009) observaram elevação na atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, ao expor plântulas de milho ao extrato aquoso da espécie *Nicotiana glumbaginifolia*.

Uma análise geral dos resultados obtidos permite verificar que concentrações entre 25% e 50% do extrato de *Zantedeschia aethiopica* influenciaram de forma prejudicial o desempenho fisiológico de sementes de alface, bem como os parâmetros de crescimento de plântulas.

CONCLUSÕES

O aumento da concentração do extrato de folhas de *Z. aethiopica* afeta negativamente a qualidade fisiológica de sementes de alface; o extrato, mesmo promovendo o aumento da atividade das enzimas do metabolismo antioxidativo, ocasiona fitotoxicidez em plântulas de alface, devido à provável ineficiência das enzimas envolvidas na detoxicação das plântulas de alface; a fitotoxicidez proporcionada pelo extrato possui relação com o acúmulo de formas reativas de

oxigênio e alterações fisiológicas em nível de membranas celulares, afetando negativamente o vigor da semente e refletindo em atributos de crescimento das plântulas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves SM, Santos LS (2002). Natureza química dos agentes alelopáticos. In: Souza Filho APS, Alves SM (Eds.). *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p.25-47.
- Arnon DI (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea PJ (1998). Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104: 280-292.
- Barreiros ALBS, David JM, David JP (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29: 113-123.
- Basilea A, Sorboa S, Lopez-Sáez JÁ, Cobianchi RC (2003). Effects of seven pure flavonoids from mosses on germination and growth of *Tortula muralis* HEDW (Bryophyta) and *Raphanus sativus* L. (Magnoliophyta). *Phytochemistry* 62: 1145–1151.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2009). *Regras para Análise de Sementes*. Brasília: SNDA/ACS, 399p.
- Cakmak I, Horst WJ (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83: 463-468.
- Chou CH (1999). Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 609-630.
- Chou CH (2006). Introduction to allelopathy. In: Reigosa MJ, Pedrol N, González L. (Eds). *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*. Dordrecht: Springer. 637p.
- Chung IM, Ahn JK, Yun SJ (2001). Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Crop Protection* 20: 921-928.
- Coelho MFB, Maia SSS, Oliveira AK, Diógenes FEP (2011). Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. *Horticultura Brasileira* 29: 108-111.

- Ducca F, Zonetti PC (2008). Efeito alelopático do extrato aquoso da aveia preta (*Avena strigosa* Schreb) na germinação e desenvolvimento de soja (*Glycine max* L. Merrill). *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente* 1: 101-109.
- Ferreira AG, Aquila MEA (2000). Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 175-204.
- Giannopolitis CN, Ries SK (1997). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Greca M, Ferrara M, Fiorentino A, Monaco P, Previtera L (1998). Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica*. *Phytochemistry* 49: 1299-1304.
- Han C, Pan K, Wu N, Wang J, Li W (2008). Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. *Scientia Horticulturae* 116: 330-336.
- Hong NH, Xuan TD, Eiji T, Khanh TD (2004). Paddy weed control by higher plants from Southeast Asia. *Crop Protection* 2: 255–261.
- King SR, Ambika R (2002). Allelopathic plants. 5. *Chromolaena odorata* (L.). *Allelopathy Journal* 9: 35-41.
- Krzyzanowski FC, França-Neto JB, Henning AA (1991). Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. *Informativo ABRATES* 1: 15-50.
- Lichtenthaler HK (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Lima JD, Moraes WS (2008) Potencial alelopático de *Ipomoea fistulosa* sobre a germinação de alface e tomate. *Acta Scientiarum. Agronomy* 30: 409- 413.
- Lima CP, Cunico MM, Trevisan RR, Philippsen AF, Miguel OG, Miguel MD (2011). Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. *Acta Botanica Brasílica* 25: 331-336.
- Macías FA, Molinillo JMG, Varela RM, Galindo JCG (2007). Allelopathy – a natural alternative for weed Control. *Pest Management Science* 63: 327-348.
- Marenco RA, Lopes NF (2007). *Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. 2. ed. Viçosa: UFV. 451p.
- Matés JM (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 153: 83-104.
- Muniz FR, Cardoso MG, Von Pinho EVR, Villela M (2007). Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. *Revista Brasileira de Sementes* 29: 195-204.

- Nakagawa J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: Vieira R.D, Carvalho M. (ed.) *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.49-85.
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Pires NM, Souza IRP, Prates HT, Faria TCL, Pereira Filho IA, Magalhães PC (2001). Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13: 55-65.
- Politycka B, Gmerek J (2008). Effect of ferulic and p-coumaric acids on the activity of hydrolytic enzymes and growth of radicals in germinating seeds of cucumber and pea. *Allelopathy Journal* 21: 227-238.
- Rosa SDVF, Rezende EVRVP, Vieira ESN, Veiga RD, Veiga AD (2005). Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *lea* associadas à tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. *Revista Brasileira de Sementes* 27: 91-101.
- Rice EL (1984). *Allelopathy*. 2 ed. Academic Press: New York. 422p.
- Rizvi SJH, Haque H, Singh VK, Rizvi V (1992). A discipline called allelopathy. In: Rizvi SJH, Rizvi, V. (Eds.). *Allelopathy: basic and applied aspects*. London: Chapman & Hall, 504p.
- Silva VS, Cândido ACS, Muller C, Laura VA, Faccenda O, Simionatto E, Hess SC, Peres MTLP (2011). Potencial fitotóxico de *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. (Gleicheniaceae). *Acta Botânica Brasílica* 25: 95-104.
- Sinha S, Saxena R (2006). Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymatic antioxidants and bacoside-a content in medicinal plant bacopa monnieri l. *Chemosphere* 62: 1340-1350.
- Singh A, Singh D, Singh NB (2009). Allelochemical stress produced by aqueous leachate of *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. *Plant Growth Regulation* 58: 163-171.
- Streit MN, Canterle LP, Canto MW, Hecktheuer LHH (2005). As clorofilas. *Ciência Rural* 35: 748-755.
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science* 151: 59-66.
- Yu JQ, Ye SF, Zhang MF, Wen HH (2003). Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 129-139.

Zhang D, Zhang J, Yang W, Wu F (2010). Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across a range of plantation ages. *Ecological Research* 25: 13-23.

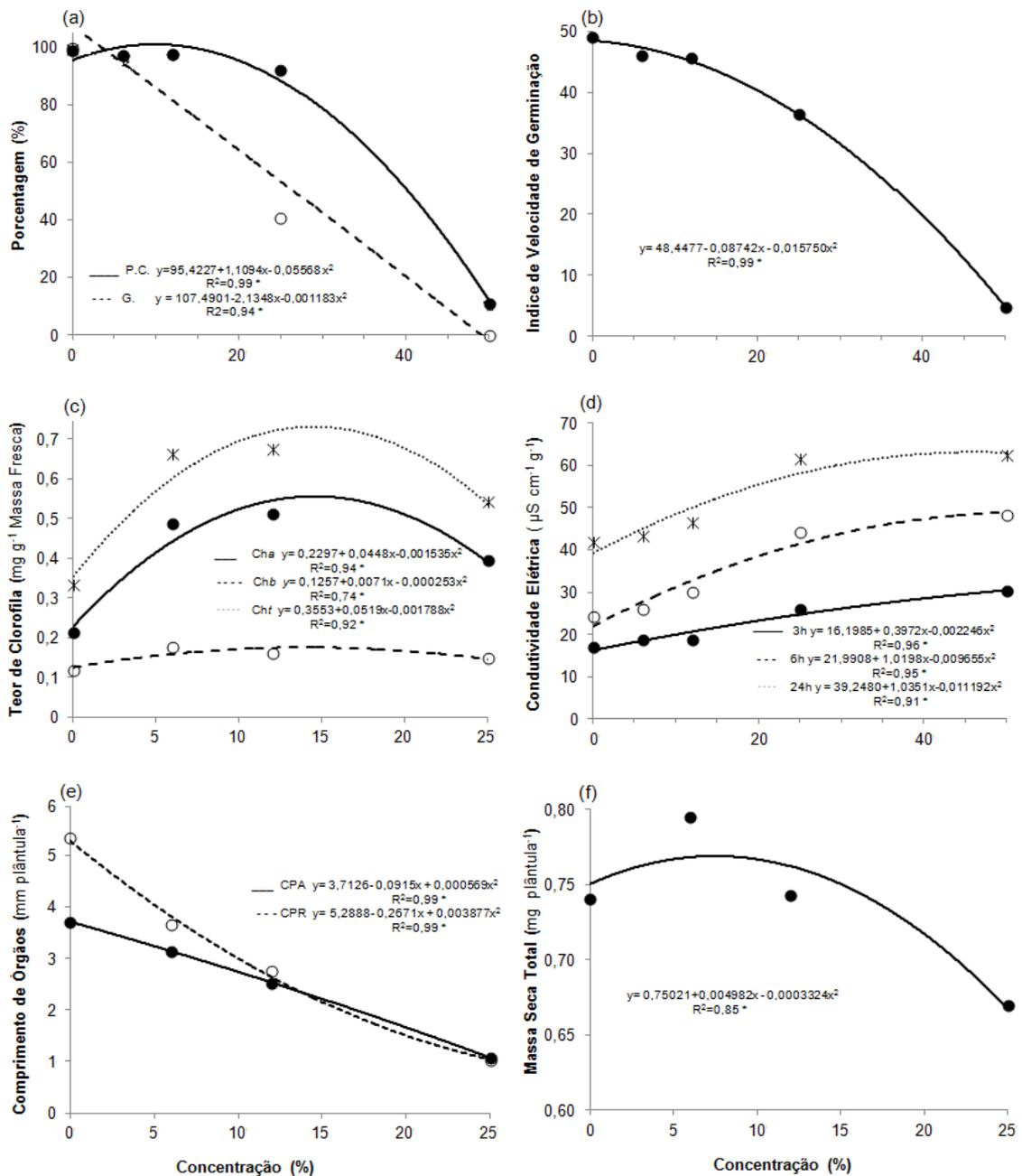


Figura 1. Germinação (G) e primeira contagem germinação (PC) – (a), índice de velocidade de germinação - (b), teor de clorofila a, b e total de plântulas do teste de germinação - (c), condutividade elétrica de sementes após 3, 6 e 24h - (d), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) - (e) e massa seca total - (f) de plântulas de alface sob ação de concentrações do extrato de *Z. aethiopic* (significativo a 5%*).

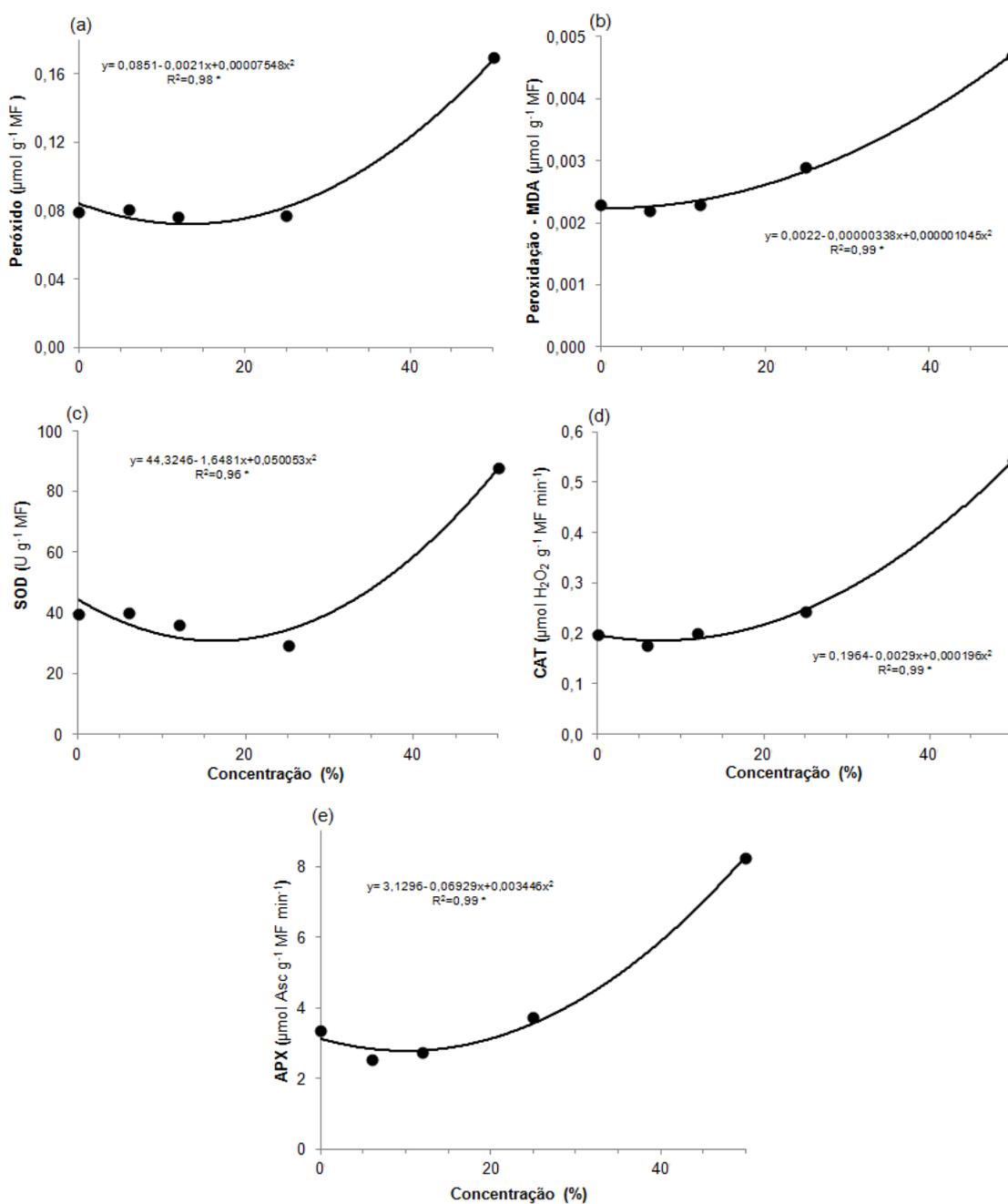


Figura 2. Peróxido de hidrogênio - **(a)**, peroxidação lipídica - **(b)**, atividade das enzimas: superóxido-dismutase (SOD) - **(c)**, catalase (CAT) - **(d)**, ascorbato-peroxidase (APX) - **(e)** em plântulas de alface provenientes do teste de germinação sob condições laboratoriais e ação de concentrações do extrato de *Z. aethiopica* (significativo a 5% *).

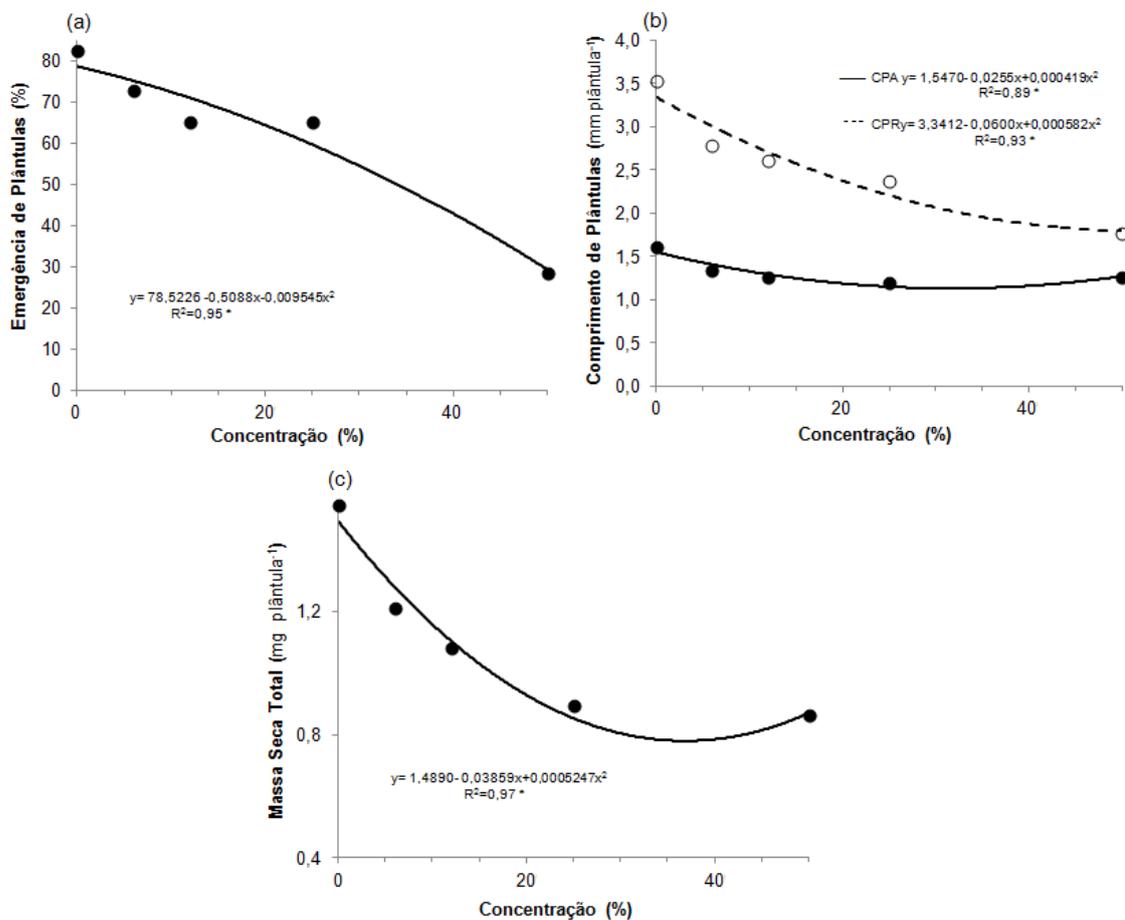


Figura 3. Emergência de plântulas em casa de vegetação - **(a)**, comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) – **(b)** e massa seca total - **(c)** de plântulas de alface emergidas em casa de vegetação sob ação de concentrações do extrato de *Z. aethiopica* (significativo a 5% *).

ARTIGO II

Respostas fisiológicas de sementes e plântulas de alface submetidas ao extrato de *Philodendron bipinnatifidum* Schott[†]

RESUMO: O trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações do extrato de *Philodendron bipinnatifidum* Schott. sobre a qualidade fisiológica e o metabolismo enzimático de sementes e plântulas de alface. Os tratamentos foram extratos de folhas maduras nas concentrações 0; 6; 12; 25 e 50%. Foram avaliados germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e raiz primária, massa seca total de plântulas, condutividade elétrica, teores de clorofila, atividade das enzimas alfa-amilase, superóxido-dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, peroxidação lipídica, teor de peróxido de hidrogênio e emergência de plântulas, comprimento de parte aérea e de raiz primária e massa seca total das plântulas emergidas. O extrato afetou negativamente o desempenho fisiológico das sementes e proporcionou acúmulo de peróxido de hidrogênio com o aumento da concentração, prejudicando a integridade de membranas celulares e colaborando para o estresse oxidativo e a redução da incidência de plântulas normais.

Termos para indexação: *Lactuca sativa*, α -amilase, SOD, CAT, APX.

[†] Artigo sob normas da Revista Semina. Ciências Agrárias (Londrina)

**Physiological responses of lettuce seeds and seedlings submitted to
Philodendron bipinnatifidum extract**

ABSTRACT: The work aimed to evaluate the effect of different *Philodendron bipinnatifidum* Schott. extract concentrations on the physiology and enzymatic metabolism of lettuce seeds and seedlings. The treatments extracts of mature leaves at concentrations of 0, 6, 12, 25 and 50%. Were evaluated the germination, first count germination, germination speed index, length of shoot and primary root, seedling total dry mass, electrical conductivity, chlorophyll content, activity of the enzymes α -amilase, superoxide dismutase, catalase and ascorbarto peroxidase, lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and seedling emergence, length of organs and total dry mass of emerged seedlings. The extract negatively affected the physiological quality of seeds and provided hydrogen peroxide accumulation with increasing concentration, impairing the integrity of cell membranes and contributing to oxidative stress and reducing the incidence of normal seedlings.

Index terms: *Lactuca sativa*, α -amylase, SOD, CAT, APX.

Introdução

A espécie *P. bipinnatifidum* é planta da família Araceae, empregada com fins ornamentais, cujo gênero apresenta na constituição limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, além de outros compostos (FEITOSA et al., 2007). Diferentes metabólitos com potencial fitotóxico foram identificados em tecidos de origem vegetal, entre os principais estão os esteróides, fenóis e terpenos, os alcalóides e os taninos, as cumarinas e os flavonóides (PUTNAM; DUKE, 1978).

Compostos químicos provenientes do metabolismo secundário vegetal, denominados aleloquímicos, apresentam síntese variável entre espécies, constituído-se reflexo da interação genótipo e ambiente. Os aleloquímicos ao serem liberados por determinado genótipo, envolvendo diferentes processos físicos podem resultar em efeito fitotóxico a outras espécies. O nível de fitotoxicidade proporcionado é incrementado pelo aumento do período de liberação e pelo montante de substâncias exsudadas (ALVES; SANTOS, 2002). Estas condições podem resultar na inibição da germinação, redução da velocidade de germinação e do crescimento

inicial em resposta ao dano celular devido a alterações na permeabilidade e seletividade de membranas celulares ou por modificações em nível hormonal e fotossintético (CHOU, 2006; ABU-ROMMAN; SHATNAW; SHIBLI, 2010; HUSSAIN; REIGOSA, 2011). Tais processos constituem resultados da ação dos aleloquímicos, que atuam diretamente ou na sinalização de processos de degradação celular, por meio da produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio, resultando em estresse oxidativo celular (BOGATEK; GNIASZDOWSKA, 2007; QIAN et al., 2009).

O emprego de espécies modelo, em estudos alelopáticos, constitui importante ferramenta para a identificação do potencial tóxico de extratos vegetais. Sementes e plântulas de alface são indicadores eficientes empregados para a detecção do efeito alelopático, pela sensibilidade a vários aleloquímicos e a resistência das sementes a ampla faixa de pH e potencial osmótico (RICE, 1984). Estudos pormenorizados com vistas à compreensão do efeito do aleloquímico sobre diferentes processos fisio-metabólicos decorrentes da ação do agente estressor sobre sementes e plântulas são escassos, sendo a resposta do mecanismo enzimático hidrolítico e antioxidativo de sementes e plântulas submetidas a extratos alelopáticos praticamente inexistentes. Enzimas hidrolíticas são responsáveis pela degradação e conversão do amido em esqueletos carbônicos voltados à retomada do crescimento do embrião (MARCOS FILHO, 2005), enquanto enzimas do metabolismo antioxidativo são responsáveis pela eliminação de radicais livres formados em tecidos vegetais, sob condições de estresse (GILL; TUTEJA, 2010).

Devido aos compostos identificados no gênero da espécie *P. bipinnatifidum* sua fitotoxicidade é provável sobre outros genótipos, sendo importante a busca pela elucidação do mecanismo de ação e das respostas fisiológicas da semente e da plântula frente ao estresse imposto. Tal fato pode ser esclarecido pela avaliação conjunta de diferentes parâmetros empregados rotineiramente na avaliação da qualidade fisiológica de sementes, quantificação da atividade de enzimas envolvidas na degradação do amido e de enzimas antioxidativas responsáveis pela eliminação do peróxido de hidrogênio, espécie reativa de oxigênio que pode atuar na peroxidação lipídica desencadeando severos danos celulares, paralelamente à quantificação de pigmentos fotossintéticos.

Neste contexto, o trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* sobre a qualidade fisiológica e o metabolismo enzimático de sementes e plântulas de alface.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia de Sementes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, situada na latitude 31°52' S, longitude 52°21' W e altitude 13 m.

O extrato concentrado de plantas de filodendro (*P. bipinnatifidum* Schott) foi obtido a partir de folhas maduras, completamente expandidas e provenientes de plantas de meia sombra. As folhas dotadas de pecíolo carnoso foram previamente lavadas em água destilada e secas com papel toalha. Em razão da elevada quantidade de água na constituição, as folhas foram trituradas sem adição de tal elemento e centrifugadas em aparelho centrífugo comercial, onerando o tempo de 30 minutos. O extrato obtido, considerado de concentração 100% foi armazenado em recipiente âmbar sob temperatura de 10 °C, em refrigerador. Após 24 horas, o extrato concentrado foi submetido à filtração simples e o filtrado armazenado em recipiente âmbar, sob refrigeração a 10 °C

Foram utilizadas sementes da espécie alvo alface (*Lactuca sativa* L.), cv. Mimosa Salad Bowl®. Os tratamentos foram compostos pelas concentrações 0; 6; 12; 25 e 50% de extrato de Filodendro, empregando-se a relação v/v entre extrato vegetal e água destilada. Os extratos das diferentes concentrações tiveram o pH aferido, atingindo $6,0 \pm 0,1$.

Para avaliar o efeito das concentrações do referido extrato sobre a qualidade fisiológica de sementes e no metabolismo antioxidativo de plântulas foram realizados os seguintes testes:

1 - Teste de germinação (%): conduzido em quatro amostras com quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em caixas tipo gerbox, sobre duas folhas de papel mata-borrão umedecidas na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, com as diferentes concentrações de extrato. As caixas foram transferidos para câmara de germinação tipo BOD a 20 °C e período luminoso de 12h. As avaliações foram efetuadas aos sete dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme indicado pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

2 - Primeira contagem da germinação (%): realizada conjuntamente ao teste de germinação, aos quatro dias após a semeadura, conforme indicado pelas Regras

de Análises de Sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

3 - Índice de velocidade de germinação (IVG): obtido a partir de contagens diárias das sementes germinadas (protrusão radicular mínima de 3 a 4 mm). As contagens foram realizadas até a estabilização da germinação. O IVG foi obtido de acordo com Nakagawa (1994).

4 - Teor de clorofila *a*, *b* e *total* de plântulas: para a quantificação do teor de clorofila foram empregadas quatro amostras de 0,2 g de plântula por tratamento, obtidas ao final do teste de germinação, aos sete dias após a semeadura. O material vegetal fresco foi macerado em 10 mL de acetona 80% em gral e sala escura, com luz verde. O macerado foi submetido à filtração simples e o volume de acetona completado para 25 mL, conforme metodologia de Arnon, adaptada de Falqueto et al. (2009). Os dados obtidos foram expressos em mg de clorofila g⁻¹ massa fresca.

5 - Condutividade elétrica (CE): conduzida de acordo com metodologia proposta por Krzyzanowski et al. (1991), em quatro subamostras de 50 sementes. As sementes tiveram sua massa previamente aferida e foram submetidas à embebição nos extratos das diferentes concentrações, por uma hora. Decorrido o tempo, foram lavadas com água destilada, transferidas para recipientes contendo 80 mL de água deionizada e mantidas em BOD à temperatura de 20°C. A condutividade elétrica foi determinada após 3, 6 e 24 horas. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de sementes.

6 - Comprimento de parte aérea e de raiz primária de plântulas: foram utilizadas quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação e de emergência em casa de vegetação, aos 7 e 21 dias, respectivamente. O comprimento de parte aérea foi obtido pela distância entre a inserção da porção basal da raiz primária ao ápice da parte aérea, enquanto, o comprimento de raiz foi mensurado pela distância entre sua parte apical e basal. Os resultados foram expressos em milímetros por plântula (mm plântula⁻¹).

7 - Massa seca total de plântulas: obtidas a partir da massa de quatro subamostras de 10 plântulas, coletadas ao final dos testes de germinação e de emergência em casa de vegetação aos 7 e 21 dias, respectivamente. As plântulas foram acondicionadas em envelopes de papel pardo e submetidas à secagem em estufa com ventilação forçada sob temperatura de 70 °C até massa constante (72 horas). Os resultados foram expressos em miligramas por plântula.

8 - Emergência de plântulas em casa de vegetação (%): conduzido em quatro subamostras de 50 sementes. A semeadura foi efetuada em bandejas de poliestireno expandido de duzentas células, contendo como substrato areia lavada. As sementes foram previamente colocadas entre três folhas de papel germitest umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel por 5 minutos, objetivando evitar o dano por embebição. Decorrido o tempo, as sementes foram embebidas nos extratos de diferentes concentrações por uma hora e conduzidas à semeadura. Vinte e um dias após a semeadura foi realizada a contagem final do número de plântulas normais emergidas, sendo os resultados expressos em porcentagem.

9 - Conteúdo de H_2O_2 e peroxidação lipídica: foram determinados ao final do teste de germinação, utilizando amostras de plântulas maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 13.000 g, durante 20 min à 4 °C, e o sobrenadante utilizado para determinar o conteúdo de H_2O_2 e malondialdeído (MDA). Os níveis de peróxido de hidrogênio foram determinados de acordo com Velikova; Yordanov; Edreva (2000). Em tubos de ensaio contendo 0,7 mL de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1 M, foram adicionados 0,3mL do sobrenadante, e incubado por 10 minutos a 30 °C. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 390 nm e a concentração de H_2O_2 expressa em $\mu\text{mol de } H_2O_2 \text{ g}^{-1}$ de massa fresca. A peroxidação lipídica foi obtida via acúmulo de malondialdeído (MDA) e determinada por metodologia descrita por Cakmak e Horst (1991). Em tubos de ensaio contendo 0,3 mL do sobrenadante foram adicionados a 1,7 mL do meio de reação de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) em TCA 10% (p/v), em seguida incubado a 90 °C, por 20 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e após, centrifugadas novamente a 10.000 g durante cinco minutos, a 4 °C e as absorbâncias do sobrenadante determinadas em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de complexos MDA-TBA (pigmento vermelho) foi calculado a partir do coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 155 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

10 - Determinação da enzima α -amilase: as extrações foram efetuadas a partir de sementes e também de plântulas provenientes da primeira e da última contagem de germinação (teste de germinação), conforme metodologia descrita pela AOAC, com modificações (SILVA et al., 2008). A maceração do material vegetal foi

em gral com auxílio de pistilo e com 20 mL de tampão acetato de potássio 0,1 M (pH 5,0). O macerado foi centrifugado a 10000 g por 20 minutos, a 4 °C. O extrato foi vertido para tubos de ensaio e encubado a 70 °C por 20 minutos, sendo realizada nova centrifugação por 15 minutos. Ao sobrenadante de cada tubo de ensaio adicionou-se 0,5 mL de extrato, 0,5 mL da solução tampão, 1 mL de solução de amido e 1 mL de I₂+KI. Os resultados foram expressos em µg de amido hidrolizado min⁻¹ g⁻¹ de massa fresca.

11 - Determinação da atividade das enzimas antioxidantes: foram determinadas ao final do teste de germinação, a partir de amostras de matéria fresca de plântulas maceradas em gral e pistilo com nitrogênio líquido, contendo polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20% e homogeneizados em 1,8 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8) contendo EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 20 mM. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 20 min a 4 °C e o sobrenadante utilizado para mensurar a atividade enzimática.

Superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1): a atividade foi avaliada pela capacidade da enzima inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) a 560 nm, em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM conforme Giannopolitis; Ries (1997). Uma unidade de atividade da SOD foi definida como a quantidade de enzima que produz uma inibição de 50% da redução fotoquímica do NBT.

Catalase (CAT - EC 1.11.1.6): determinada conforme descrito por Azevedo et al. (1998). A atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm ($\epsilon = 39.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), durante 2 min em meio de reação de 4 mL incubado a 30 °C, contendo extrato enzimático, tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e peróxido de hidrogênio 12,5 mM.

Ascorbato peroxidase (APX – EC 1.11.1.11): determinada por metodologia proposta por Nakano; Asada (1981), pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato (ASA) por 2 min, a 290 nm ($\epsilon = 2.80 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). O meio de reação foi incubado a 30 °C e composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 0,5 mM, H₂O₂ 0,1 mM e extrato enzimático.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e havendo significância a 5%, ajustados por polinômios ortogonais.

Resultados e Discussão

A germinação de sementes de alface apresentou tendência à redução com o aumento da concentração do extrato de *Philodendron bipinnatifidum* (Figura 1a). Houve similaridade entre a concentração zero e 6%, fato que pode ser explicado pela menor sensibilidade do processo germinativo aos aleloquímicos ou a toxidez de compostos, comparativamente ao crescimento inicial das plântulas (ZHANG et al., 2010). Reduções acentuadas foram observadas a partir da concentração 12%, sendo as concentrações 25 e 50% responsáveis pela diminuição do número de plântulas normais em mais de 80% e 90%, respectivamente. A diminuição da germinação, conferida pelo aumento do número de plântulas anormais, demonstra que o processo germinativo foi influenciado negativamente pelo aumento na concentração do extrato, o que pode ser explicado pelo acúmulo de formas reativas de oxigênio e aumento da peroxidação lipídica em plântulas (Figura 2b e 2c). Além disso, pode ser também evidenciado em sementes, pelo aumento da condutividade elétrica (Figura 3b). Estes processos, possivelmente, possuem estreita relação ao efeito tóxico dos limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, conforme relatado por Feitosa et al. (2007) para espécies do gênero *Philodendron*. Redução da germinação de sementes de *Parthenium hysterophorus* foi observada por Wakjira; Berecha; Bulti (2011), após submissão a extratos de *Albizia gummifera*, *Melia azedarach* e *Sesbania sesban*.

A primeira contagem de germinação decresceu ao incrementar a concentração do extrato (Figura 1a). Cabe salientar a semelhança entre os valores na primeira contagem de germinação de sementes nas concentrações 0 e 6% que mantiveram número de sementes germinadas similar às da germinação (Figura 1a). Por outro lado, a concentração 12% proporcionou redução de 10% na germinação e houve inibição drástica deste processo fisiológico nas concentrações 25 e 50%, de modo que o número total de plântulas atingiu valores 50 e 80% abaixo da concentração zero. É possível verificar que o teste de primeira contagem de germinação não provocou alterações no vigor de sementes submetidas a baixas concentrações, que apenas se manifestaram após a elevação da concentração do extrato. Desse modo, o efeito tóxico ou alelopático de determinado extrato vegetal depende da concentração dos compostos tóxicos, do tecido de extração e está diretamente relacionado à espécie do qual é extraído (WU et al., 2009), o que em

parte, explica a redução da germinação das sementes submetidas às maiores concentrações do extrato.

O índice de velocidade de germinação decresceu com o aumento da concentração do extrato e foi afetado de forma mais marcante a partir da concentração 12% (Figura 1b). O aumento da concentração do extrato reduziu o número de sementes germinadas por dia. Tal processo pode ser relacionado ao efeito negativo do extrato sobre a mobilização de reservas para o embrião, frente a exacerbada atividade da enzima α -amilase na semente e sua redução em plântulas submetidas a concentrações mais elevadas do extrato, provenientes da primeira contagem e do teste de germinação (Figura 2a). Fase na qual, a conversão de amido em açúcares passíveis de utilização pelo embrião deveria ser máxima, objetivando a retomada do seu crescimento. Neste contexto, é possível que tenha ocorrido a lixiviação e não absorção da grande maioria das moléculas sintetizadas a partir da hidrólise do amido pelo embrião, o que é explicado pela despolarização e redução da capacidade seletiva do sistema de membranas celulares (Figura 3b).

Os teores de clorofila foram alterados pelo incremento da concentração do extrato (Figura 3a). As clorofilas *a* e *b* aumentaram até a concentração 12%. O aumento da clorofila *b* pode ser relacionado à tentativa de aclimatação da espécie, devido à sua função fotoprotetora (MARENCO; LOPES, 2005). A partir da concentração 12%, houve decréscimo nos teores de clorofila *a* e *b*, sendo possível inferir que o aumento da concentração do extrato afetou quali-quantitativamente o teor de pigmentos fotossintéticos e colaborou para a redução do teor de clorofila *total*. Tal ocorrência mantém relação com o fato de compostos tóxicos ou aleloquímicos interferirem na fotossíntese, pela alteração no teor de clorofila em processos envolvendo enzimas clorofilases, por influenciar negativamente a eficiência do fotossistema II reduzindo a absorção de fótons pelo sistema antena (HUSSAIN; REIGOSA, 2011), ou ainda, inibindo a síntese de precursores da porfirina (RICE, 1984), um constituinte da clorofila. Ao estudarem o potencial alelopático do óleo volátil de *Eucalyptus tereticornis* sobre *Amaranthus viridis*, Kaur et al. (2011) obtiveram redução dos teores de clorofila *a* e *b*.

A condutividade elétrica aumentou nos três períodos de incubação avaliados, indicando que indiferentemente ao tempo, houve em relação à concentração zero, tendência ao aumento na liberação de eletrólitos com a elevação da concentração do extrato (Figura 3b). O processo de liberação acentuada de

eletrólitos é explicado pela danificação ao sistema de membranas celulares da semente e corrobora ao acúmulo de peróxido de hidrogênio e à elevação da peroxidação lipídica em plântulas de alface, frente ao estresse promovido pelo aumento da concentração do extrato (Figura 2b e 2c).

O comprimento de órgãos, em plântulas do teste de emergência, decresceu ao aumentar a concentração do extrato (Figura 3c e 3e). Houve redução superior a 90% no comprimento de raiz e a 74% no comprimento de parte aérea de plântulas provenientes do teste de germinação, enquanto, plântulas obtidas do teste de emergência obtiveram comprimento de raiz primária reduzido em cerca de 49% e o de parte aérea superior a 36%. Sob condições laboratoriais, o extrato proporcionou aos órgãos da plântula maior fitotoxicidade com o incremento da concentração do extrato, comparativamente àquelas emergidas. A diferença marcante na fitotoxicidade sobre o crescimento de parte aérea e raiz é devida ao fato do ambiente laboratorial favorecer a germinação e o crescimento. Esta condição, provavelmente, beneficiou a absorção e a translocação dos compostos presentes no extrato para os diferentes órgãos da plântula e resultou na redução acentuada de parte aérea e de raiz primária nestas circunstâncias.

Todavia, o maior período de contato e a exposição direta da raiz primária a ação do extrato, colaborou para a maior redução do comprimento deste órgão em relação ao hipocótilo (ALVES; SANTOS, 2002; DAILIRI et al., 2011). Tal ocorrência exclui o possível efeito de situações de simulação de déficit hídrico, as quais estimulam o crescimento do sistema de raízes e reduzem a parte aérea (MARENCO; LOPES, 2005), o que confirma o efeito fitotóxico do extrato sobre o crescimento de plântulas de alface. Além disso, segundo Alves; Santos (2002), a alteração no comprimento de órgãos da plântula está relacionada à alteração no balanço hormonal do vegetal, o que permite deduzir que o extrato empregado influenciou neste aspecto fisiológico. Ao estudarem o efeito de óleos voláteis de alecrim-pimenta, Alves et al. (2004) observaram redução proporcional da raiz primária ao aumentar a concentração do extrato. Por outro lado, Maraschin-Silva; Aquila (2006) observaram que extratos de *Psychotria leiocarpa* reduziram o tamanho de parte aérea de plântulas de alface. Manoel et al. (2009), verificaram que plântulas de tomateiro sob ação das concentrações 50 e 75% de extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens* sofrem a drástica redução no comprimento médio da raiz.

A massa seca total de plântulas obtidas em laboratório e do teste de emergência em casa de vegetação mostrou tendência dose-resposta, sendo reduzida com o incremento da concentração do extrato de *Philodendron bipinnatifidum* (Figura 3f). Houve redução superior a 39 e 21% na massa seca de plântulas obtidas em laboratório e em casa de vegetação na concentração 50%, comparativamente à concentração nula. A redução da massa seca das plântulas foi ocasionada em parte, pelo menor comprimento de órgãos (Figura 3c e 3e) e possivelmente esteja associada ao colapso do sistema hidrolítico (Figura 3a) e da rede interligada de membranas celulares (Figura 2b). Tais processos constituem reflexo da elevação na produção e acúmulo de radicais livres (Figura 2b), que indiretamente podem ter influenciado negativamente a translocação e alocação de assimilados para a plântula, por afetarem a atividade da enzima α -amilase. Tal hipótese corrobora as afirmações de Muniz et al. (2007) ao relatarem que a inibição da enzima α -amilase ocorre na presença de determinados compostos químicos vegetais, podendo ser efeito indireto da inibição na síntese de ácido giberélico (POLITYCKA; GMERREK, 2008).

A emergência de plântulas em casa de vegetação apresentou tendência ao decréscimo com o aumento da concentração do extrato, sendo os resultados mais expressivos a partir da concentração 12% (Figura 3d). Ao submeter sementes às concentrações 12; 25 e 50% houve, em relação à concentração zero, redução de 12; 26 e 36% no número de plântulas emergidas. Neste contexto, o extrato de *P. bipinnatifidum* afetou drasticamente o vigor de sementes de alface, processo que demonstra estreita relação com a danificação de membranas celulares e é evidenciado pelo aumento da condutividade elétrica em sementes (Figura 3b) e pela elevação da peroxidação lipídica em plântulas (Figura 2c). De maneira similar, Santos et al. (2002) obtiveram redução na emergência de plântulas de caruru-de-mancha frente ao aumento da concentração do extrato de casca de arroz.

O acúmulo de peróxido de hidrogênio apresentou tendência ao aumento, processo que colaborou para a elevação da peroxidação lipídica ao incrementar a concentração do extrato (Figura 3b e 3c) e para a redução do número de plântulas normais (Figura 1a). O aumento da concentração de peróxido de hidrogênio no meio extracelular pode induzir o acréscimo na permeabilidade dos canais de cálcio, conseqüentemente, elevar a concentração de cálcio livre no citosol (MORI;

SCHOROEDER, 2004), o que resulta na quebra da homeostase celular pela indução do processo de morte celular programada (LACHAUD et al., 2010).

A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato-peroxidase (APX) foi incrementada pelo aumento da concentração do extrato (Figura 2d, 2e e 2f) devido à elevação da quantidade de peróxido de hidrogênio (Figura 3b). A SOD aumentou sua atividade acentuadamente a partir da concentração 12% e as enzimas CAT e APX a partir da concentração 25%. Neste contexto, o incremento da atividade antioxidante da enzima superóxido-dismutase ocorreu provavelmente em resposta à elevação da quantidade de radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$) produzidos pelo bloqueio da cadeia de transporte de elétrons, conjuntamente à geração de elétrons livres ou pela reação de transferência de elétrons do NADPH para o oxigênio molecular. A conversão do radical $O_2^{\bullet-}$, mediada pela enzima SOD, proporcionou a formação de peróxido de hidrogênio (SINHA; SAXENA, 2006), composto que pode ocasionar estresse oxidativo. Frente à elevação dos níveis de peróxido de hidrogênio, a enzima catalase foi induzida e ao atuar em conjunto com a ascorbato-peroxidase possivelmente degradou, até certo ponto, o peróxido de hidrogênio em água oriundo da reação catalisada pela SOD e ainda, em água e oxigênio molecular naquela mediada pela APX (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Cabe salientar que, mesmo com a elevação acentuada na atividade das enzimas antioxidativas, ocorreu aumento da concentração do extrato, elevação na produção de peróxido de hidrogênio e da peroxidação lipídica afetando a integridade do sistema de membranas celulares, conforme evidenciado em sementes pelo aumento da condutividade elétrica (Figura 1d) e em plântulas pela redução do número de plântulas normais, diminuindo a germinação (Figura 1a). Tal ocorrência evidencia a ineficiência destas enzimas no processo de detoxificação dos tecidos da plântula ao ser submetida às maiores concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum*.

Uma análise conjunta dos resultados alcançados permite constatar que concentrações do extrato de folhas maduras de *Philodendron bipinnatifidum* compreendidas entre 25% até 50% afetaram de modo prejudicial à qualidade fisiológica de sementes de alface, inclusive os fatores de crescimento de plântulas. Além disso, houve alteração na atividade enzimática, indicativo do processo de deterioração de sementes de alface.

Conclusões

O extrato de folhas de *P. bipinnatifidum*, conforme a concentração, reduz a qualidade fisiológica de sementes de alface;

O aumento da concentração do extrato de folhas de *P. bipinnatifidum* afeta negativamente a atividade da enzima α -amilase e provoca elevação acentuada na atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase em plântulas de alface.

Referências Bibliográficas

- ABU-ROMMAN, S.; SHATNAWI, M.; SHIBLI, R. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, v.7, n.3, p.298-302, 2010.
- ALVES, S.M.; SANTOS, L.S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. (Eds.). *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002, p.25-47.
- ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.; 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, p.1083-1086, 2004.
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum*, v.104, n.2, p.280-292, 1998.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v.29, n.1, p.113-123, 2006.
- BOGATEK, R.; GNIAZDOWSKA, A. ROS and phytohormones in plant-plant allelopathic interaction. *Plant Signaling & Behavior*, v.2, n.4, p.317-318, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para Análise de Sementes*. Brasília: SNDA/ACS, 2009, 399p.
- CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*, v.83, n.3, p.463-468, 1991.

- CHOU, C.H. Introduction to allelopathy. In: REIGOSA, M.J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds). *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*. Dordrecht: Springer, 2006, 637p.
- DAILIRI, M.S.; MAZLOOM, P.; TOUDAR, S.; ABOLFATHI, H. Inhibitive effects of barley on germination and growth of seedling thorn-apple. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Enviromental Sciences*, v.10, n.6, p.10000-10005, 2011.
- FALQUETO, A.R.; CASSOL D.; MAGALHÃES JUNIOR, A.M.; OLIVEIRA, A.C.; BACARIN, M.A. Physiological analysis of leaf senescence of two rice cultivars with different yield potential. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, n.7, p.695-700, 2009.
- FEITOSA, C.M.; BEZERRA, M.Z.B.; CITÓ, A.M.G.L.; COSTA JUNIOR, J.S.; LOPES, J.A.D.; IOTA NETO, J.M. Constituintes químicos de *Philodendron imbé* Schott. *Química Nova*, v.30, n.1, p.41-44, 2007.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, v.59, n.2, p.309-314, 1977.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.48, n.12, p.909-930, 2010.
- HUSSAIN, M.I.; REIGOSA, M.J. Allelochemical stress inhibits growth, leaf water relations, PSII photochemistry, non-photochemical fluorescence quenching, and heat energy dissipation in three C3 perennial species. *Journal of Experimental Botany*, v.62, n.13, p.453-4545, 2011.
- KAUR, S.; SINGH, H.P.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Chemical characterization and allelopathic potential of volatile oil of *Eucalyptus tereticornis* against *Amaranthus viridis*. *Journal of Plant Interactions*, v.6, n.4, p.297-302, 2011.
- LACHAUD, C.; DA SILVA, D.; COTELLE, V.; THULEAI, P.; XIONG, T.C.; JAUNEUAU, A.; BRIÉRE, C.; GRAZIANA, A.; BELLEC, Y.; FAURE, J.D.; RANJEVA, R.; MAZZARS, C. Nuclear calcium controls the apoptotic-like cell death induced by d-erythro-sphinganine in tobacco cells. *Cell Calcium*, v.47, n.1, p.92-100, 2010.
- MANOEL, D.D.; DOICHE, C.F.R.; FERRARI, T.B.; FERREIRA, G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. *Semina: Ciências Agrárias*, v.30, n.1, p. 63-70, 2009.

- MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 2005, 495p.
- MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M.E.A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. *Acta Botânica Brasileira*, v.20, n.1, p.61-69, 2006.
- MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. *Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005, 451p.
- MORI, I.C.; SCHOROEDER, J.I. Reactive oxygen species activation of plant Ca²⁺ channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction. *Plant Physiology*, v.135, n.2, p.702-708, 2004.
- MUNIZ, F.R.; CARDOSO, M.G.; VON PINHO, E.V.R.; VILLELA, M. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. *Revista Brasileira de Sementes*, v.29, n.2, p.195-204, 2007.
- NAKAGAWA, J. Testes e vigor baseados na avaliação de plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1994, p.49-85.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, v.22, n.5, p.867-880, 1981.
- POLITYCKA, B.; GMEREK, J. Effect of ferulic and p-coumaric acidson the activity of hydrolytic enzymes and growth of radicals in germinating seeds of cucumber and pea. *Allelopathy Journal*, v.21, n.2, p.227-238, 2008.
- PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Allelopathy in Agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, v.16, n.1, p.431-451, 1978.
- QIAN, H.; XU, X.; CHEN, W.; JIANG, H.; JIN, Y.; LIU, W. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. *Chemosphere*, v.75, n.3, p.368-375, 2009.
- RICE, E.L. *Allelopathy*. 2 ed. Academic Press: New York, 1984, 422p.
- SANTOS, J.C.F.; SOUZA, I.F.; MENDES, A.N.G.; MORAIS, A.R.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; MARINHO, J.T.S. Efeito de extratos de cascas de café e de arroz na emergência e no crescimento do caruru-de-mancha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, n.6, p.783-790, 2002.

- SILVA, R.N.; DUARTE, G.L.; LOPES, N.F.; MORAES, D.M.; PEREIRA, A.L.A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a estresse salino na germinação. *Revista Brasileira de Sementes*, v.30, n.1, p.215-220, 2008.
- SINHA, S.; SAXENA, R. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymatic antioxidants and bacoside-a content in medicinal plant bacopa monnieri l. *Chemosphere*, v.62, n.8, p.1340-1350, 2006.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science*, v.151, n.1, p.59-66, 2000.
- WAKJIRA, M.; BERECHA, G.; BULTI, B. Phytotoxic effects of multi-purpose tree species on germination and growth *Parthenium hysterophorus* L. *International Journal of Agricultural Research*, v.6, n.2, p.149-162, 2011.
- ZHANG, D.; ZHANG, J.; YANG, W.; WU, F. Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across a range of plantation ages. *Ecological Research*, v.25, n.1, p.13-23, 2010.
- WU, A.P.; YU, H.; GAO, S.Q.; HUANG, Z.Y.; HE, W.M.; MIAO, S.L.; DONG, M. Differential belowground allelopathic effects of leaf and root of *Mikania micrantha*. *Trees Structure and Function*, v.23, n.1, p.11-17, 2009.

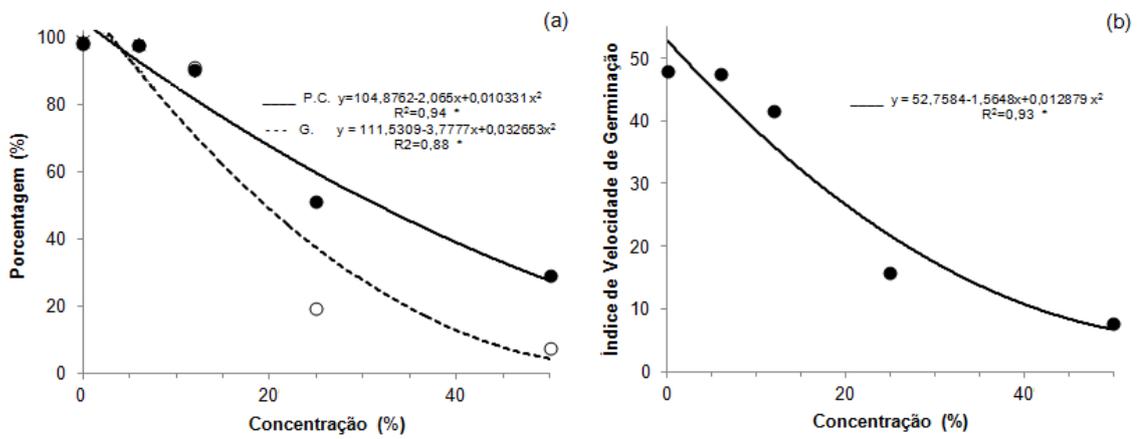


Figura 1. Germinação (G), primeira contagem (PC) **(a)**, índice de velocidade de germinação **(b)**, de sementes de alface sob ação de concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* (significativo a 5% *).

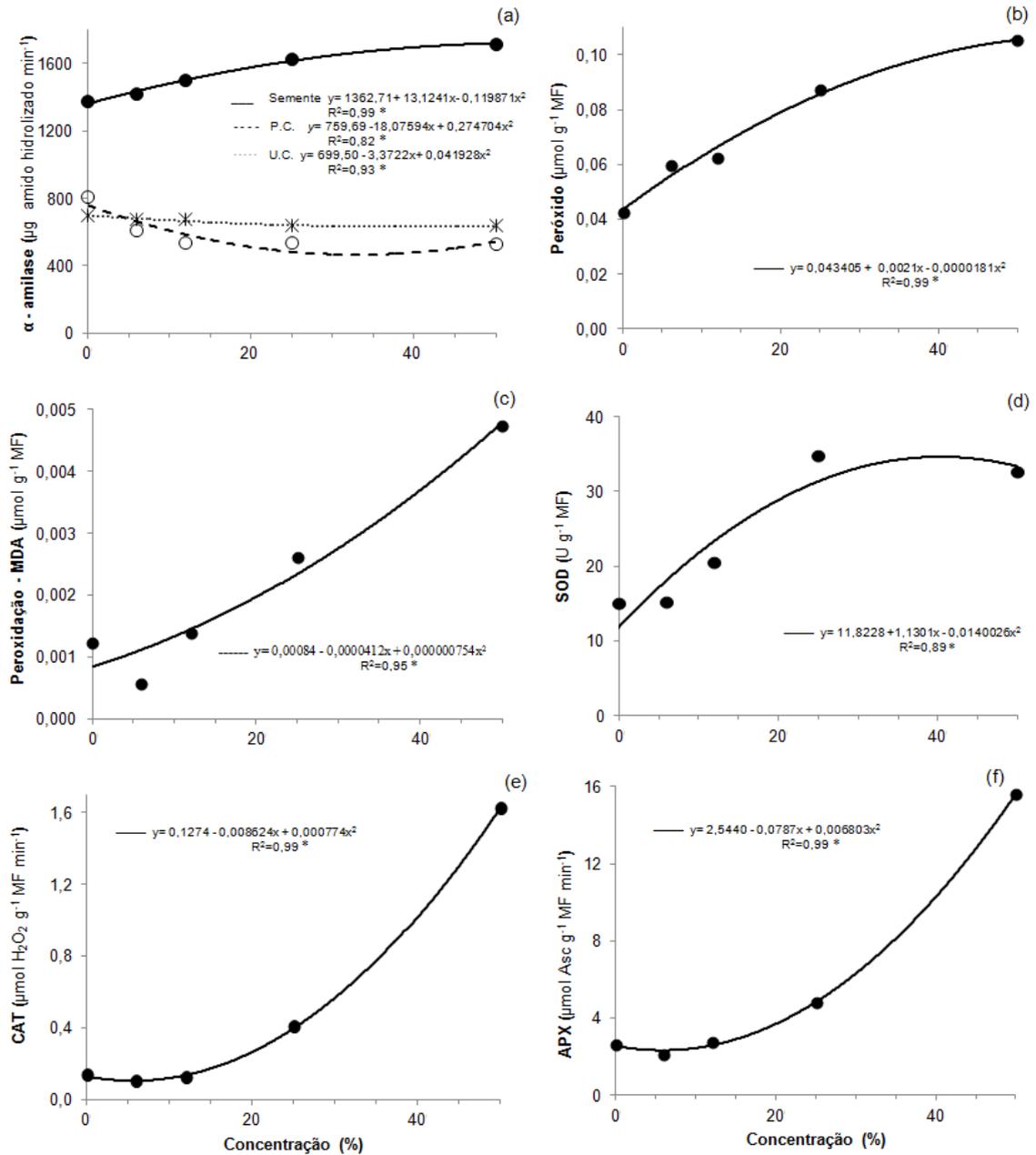


Figura 2. Atividade da enzima α -amilase: semente, primeira contagem (PC) e última contagem (UC) germinação (a), peróxido de hidrogênio (b), peroxidação lipídica (c), atividade das enzimas: superóxido-dismutase - SOD (d), catalase - CAT (e), ascorbato-peroxidase - APX (f), em plântulas de alface obtidas a partir do teste de germinação em laboratório sob ação de concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* (significativo a 5% *).

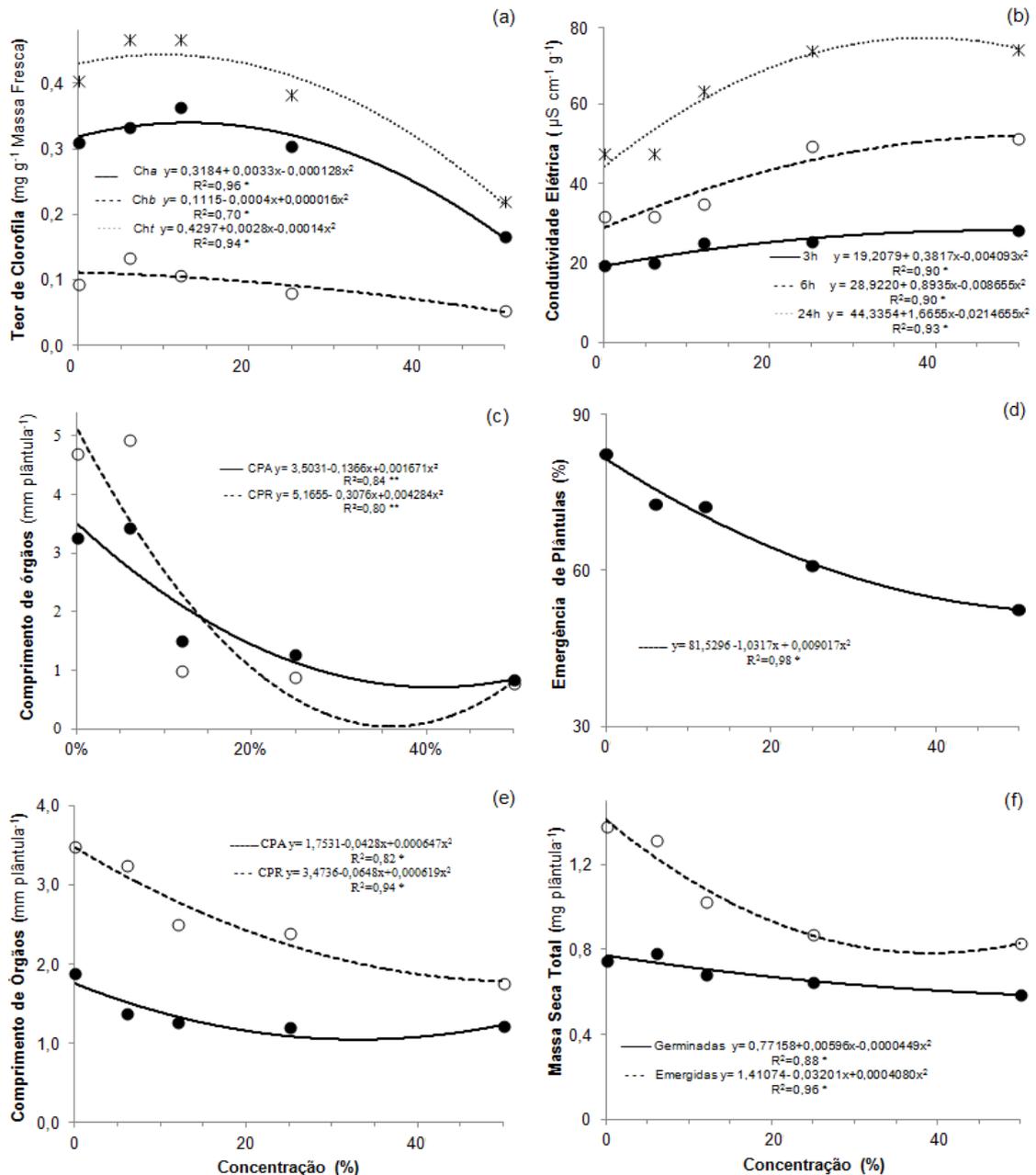


Figura 3. Teor de clorofila *a*, *b* e total de plântulas provenientes do teste de germinação (a), condutividade elétrica de sementes após 3, 6 e 24h (b), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) (c), emergência de plântulas em casa de vegetação (d), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) de plântulas emergidas (e) e massa seca total de plântulas de alface (f) sob ação de concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* (significativo a 5%*).

ARTIGO III

Desempenho fisiológico e metabolismo antioxidativo de plântulas de arroz vermelho sob ação do extrato de filodendro[‡]

Resumo: O trabalho objetivou avaliar a influência da concentração do extrato de folhas de *Philodendron bipinnatifidum* Schott sobre atributos fisiológicos de sementes e plântulas de arroz vermelho. Os tratamentos foram extratos nas concentrações 0; 12; 25; 50 e 75%. Foram avaliados germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e raiz primária, massa seca total de plântulas, condutividade elétrica, teores de clorofila *a*, *b* e *total*, atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, peroxidação lipídica e teor de peróxido de hidrogênio, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea e de raiz primária e massa seca total das plântulas emergidas. A germinação, a primeira contagem, o índice de velocidade de germinação, os teores de clorofila, a emergência de plântulas e o comprimento de raiz primária foram reduzidos com o aumento da concentração do extrato. Houve incremento na produção de peróxido de hidrogênio e na peroxidação lipídica, na atividade das enzimas superóxido-dismutase e ascorbato-peroxidase, com a concentração do extrato. A enzima catalase apresentou tendência a aumentar a atividade a partir da concentração 50%. O extrato de *P. bipinnatifidum* apresentou toxicidade a sementes e a plântulas de arroz vermelho, sendo resultado da ação do extrato sobre diferentes atributos e processos fisiológicos.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., *Philodendron bipinnatifidum*, clorofila, enzimas antioxidantes

[‡] Artigo sob normas da Revista de La Facultad de Agronomía (La Plata)

Physiological performance and antioxidant metabolism of red rice seedlings under action of *Philodendron* extract

Abstract: The work aimed to evaluate the leaves extract concentration influence of *Philodendron bipinnatifidum* Schott. on physiological attributes of red rice seeds and seedlings. Treatments were extracts at concentrations of 0; 12; 25; 50 and 75%. Were evaluated the germination, first count germination, speed and germination speed index, length of shoot and primary root, seedling total dry mass, chlorophyll content, electrical conductivity, activity of the enzymes superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase, lipid peroxidation, content of hydrogen peroxide and seedling emergence, length of organs and total dry mass of seedlings emerged. The germination, first count, speed index of germination, chlorophyll content, seedling emergence and length primary root were reduced with increasing concentration of the extract. There was an increase in the production of hydrogen peroxide and lipid peroxidation, in the activity of the enzymes superoxide dismutase and ascorbate peroxidase, with the concentration of the extract. The catalase activity increased from 50% concentration. The extract of *P. bipinnatifidum* showed toxicity in seeds and red rice seedlings, which resulted from the action of the extract on different attributes and physiological processes.

Keywords: *Oryza sativa* L., *Philodendron bipinnatifidum*, chlorophyll, antioxidants enzymes

INTRODUÇÃO

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.), planta daninha que apresenta elevado nível de degrane natural, é infestante de áreas cultivadas com arroz irrigado e, por ser dotado de elevada capacidade competitiva, influencia negativamente diversos atributos físicos e fisiológicos de genótipos cultivados, refletindo em redução da produtividade. Além disso, por ser de difícil controle, constitui a principal daninha do arroz comercial (Noldin et al., 2004).

Estudos envolvendo extratos e compostos de origem vegetal têm sido conduzidos com vistas a avaliar seu efeito sobre a germinação e o crescimento inicial de plantas cultivadas e daninhas. O favorecimento ou a inibição destes eventos fisiológicos são processos mediados por compostos tóxicos oriundos do

metabolismo secundário vegetal e conhecidos como aleloquímicos, cuja síntese e concentração são variáveis entre genótipos e órgãos, conforme a condição ambiental ou de acordo com o nível de estresse imposto (Rice, 1984).

Os aleloquímicos podem atuar diretamente sobre estruturas da semente e da plântula, ou como sinalizadores em processos de degradação celular, desencadeando a produção e o acúmulo de formas reativas de oxigênio, influenciando a permeabilidade e seletividade de membranas celulares, com reflexo na redução da velocidade e da porcentagem de germinação, ou ainda, promovendo modificações em nível hormonal e fotossintético (Rice, 1984; Carillo et al., 2010; Abugre et al., 2011), refletindo-se no crescimento inicial de plântulas.

Os esteróides, fenóis e terpenos, os alcalóides e os taninos, as cumarinas e os flavonóides estão entre os principais metabólitos com potencial fitotóxico identificados em tecidos vegetais (Putnam & Duke, 1978). A espécie *Philodendron bipinnatifidum* Schott, conhecida por banana-de-macaco ou filodendro, é planta cujo gênero apresenta na constituição limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, além de outros compostos (Feitosa et al., 2007) que a tornam potencialmente tóxica a sementes e a plântulas de arroz vermelho.

Enzimas do metabolismo antioxidativo estão envolvidas na remoção de radicais livres durante o processo de deterioração de sementes (Rosa et al., 2005) ou em plântulas sob condição de estresse. A determinação da atividade de enzimas do metabolismo antioxidativo concomitantemente à avaliação de pigmentos do sistema antena e atributos de qualidade fisiológica de sementes permite a melhor elucidação do nível de estresse e da toxicidade ocasionados pelo extrato sobre a semente ou plântula, fornecendo subsídios à compreensão do mecanismo de ação.

Neste contexto, o trabalho objetivou avaliar a influência da concentração do extrato de *P. bipinnatifidum* Schott sobre atributos fisiológicos de sementes e plântulas de arroz vermelho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fisiologia de Sementes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, situada na latitude 31°52' S, longitude 52°21' W e altitude 13 m.

Foram utilizadas sementes da espécie alvo arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) não dormentes, cujo estado fisiológico foi verificado previamente pela avaliação da germinação e pelo teste de tetrazólio. Os tratamentos foram compostos pelas concentrações 0; 12; 25; 50 e 75% de extrato de filodendro, empregando-se a relação v/v entre extrato vegetal e água destilada. Os extratos das diferentes concentrações tiveram o pH aferido, atingindo $6,0 \pm 0,2$.

O extrato concentrado de plantas de filodendro (*P. bipinnatifidum* Schott) foi obtido a partir de folhas maduras, completamente expandidas e provenientes de plantas de meia sombra. As folhas, dotadas de pecíolo carnoso foram previamente lavadas em água destilada e secas com papel toalha. Em razão da elevada quantidade de água na constituição, as folhas foram trituradas sem adição de tal elemento e centrifugadas em aparelho centrifugador comercial, onerando o tempo de 30 minutos. O extrato obtido, considerado de concentração 100%, foi armazenado em recipiente âmbar sob temperatura de 10 °C, em refrigerador. Após 24 horas, o extrato concentrado foi submetido à filtração simples e o filtrado armazenado nas mesmas condições.

Para avaliação da influência das concentrações do extrato sobre a qualidade fisiológica de sementes e no metabolismo antioxidativo de plântulas foram realizados os seguintes testes:

Teste de germinação: conduzido em quatro amostras com quatro subamostras de 50 sementes. As sementes foram previamente colocadas entre folhas de papel germitest umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco por 10 minutos, objetivando evitar dano por embebição. Posteriormente, as sementes foram embebidas nos extratos de diferentes concentrações por uma hora e semeadas em rolos formados por três folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada. Os rolos foram transferidos para câmara de germinação tipo BOD a 25 °C e período luminoso de 12h. As avaliações foram efetuadas aos quatorze dias após a semeadura e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme indicado pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Primeira contagem da germinação: realizada conjuntamente ao teste de germinação, aos cinco dias após a semeadura, conforme indicado pelas Regras de Análise de Sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas

normais, de acordo com o indicado pelas Regras para Análises de Sementes (Brasil, 2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG): obtido a partir de contagens diárias das sementes germinadas (protrusão radicular mínima de 3 a 4 mm), com contagens realizadas até a estabilização da germinação. O IVG foi obtido de acordo com Nakagawa (1994).

Teor de clorofila a, b e total de plântulas em BOD: a quantificação do teor de clorofila foi efetuada em plântulas ao final do teste de germinação, por meio de quatro amostras de 0,2 g de tecido vegetal por tratamento. O material vegetal fresco foi macerado em 10 mL de acetona 80% em gral e pistilo em sala escura, com luz verde. O macerado foi submetido à filtração simples e o volume de acetona completado para 25 mL (Arnon, 1949). Os dados obtidos foram calculados segundo Lichtenthaler (1987) e expressos em mg de clorofila g⁻¹ massa fresca.

Condutividade elétrica: conduzida de acordo com metodologia de Krzyzanowski et al. (1991), com quatro subamostras de 25 sementes. As sementes tiveram sua massa previamente aferida e foram submetidas à embebição nos extratos das diferentes concentrações, por uma hora. Posteriormente, foram lavadas com água destilada, transferidas para recipientes contendo 80 mL de água deionizada e mantidas em BOD à temperatura de 20°C. A condutividade elétrica foi determinada após 3, 6 e 24 horas. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de sementes.

Comprimento de parte aérea e de raiz primária de plântulas: foram utilizadas quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação e de emergência em casa de vegetação, aos 14 e 21 dias, respectivamente. O comprimento de parte aérea foi obtido pela medida da distância entre a inserção da porção basal da raiz primária ao ápice da parte aérea, enquanto, o comprimento de raiz foi mensurado pela medida da distância entre sua parte apical e basal. Os resultados foram expressos em milímetros por plântula (mm plântula^{-1}).

Massa seca total de plântulas: obtidas pela aferição da massa de quatro subamostras de 10 plântulas, ao final dos testes de germinação e de emergência em casa de vegetação aos 14 e 21 dias, respectivamente. As plântulas foram acondicionadas em envelopes de papel pardo e submetidas à secagem em estufa com ventilação forçada, sob temperatura de 70 °C (72 horas). Os resultados foram expressos em miligramas por plântula (mg plântula^{-1}).

Emergência de plântulas em casa de vegetação: conduzido em quatro subamostras de 50 sementes. A semeadura foi efetuada em bandejas de poliestireno expandido de duzentas células, contendo substrato areia lavada. As sementes foram previamente colocadas entre três folhas de papel germitest umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel por 5 minutos, objetivando evitar dano por embebição. Decorrido o tempo, as sementes foram embebidas nos extratos de diferentes concentrações por uma hora e semeadas. Vinte e um dias após a semeadura foi realizada a contagem final do número de plântulas emergidas, sendo os resultados expressos em porcentagem.

Conteúdo de H₂O₂ e peroxidação lipídica: amostras de plântulas obtidas ao final do teste de germinação foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 13.000 g, durante 20 min a 4 °C, e o sobrenadante utilizado para determinar o conteúdo de H₂O₂ e malondialdeído (MDA). Os níveis de peróxido de hidrogênio foram determinados de acordo com Velikova et al. (2000). Em tubos de ensaio contendo 0,7 mL de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1 M, foram adicionados 0,3 mL do sobrenadante, e incubado por 10 minutos a 30 °C. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 390nm e a concentração de H₂O₂ expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa fresca. A peroxidação lipídica foi obtida via acúmulo de malondialdeído (MDA) e determinada por metodologia descrita por Cakmak e Horst (1991). Em tubos de ensaio contendo 0,3 mL do sobrenadante foram adicionados a 1,7 mL do meio de reação de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) em TCA 10% (p/v), em seguida incubado a 90 °C, por 20 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e após, centrifugadas novamente a 10.000 g durante cinco minutos, a 4 °C e as absorbâncias do sobrenadante determinadas em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de complexos MDA-TBA (pigmento vermelho) foi calculado a partir do coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 155 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Determinação da atividade das enzimas antioxidantes: efetuada por meio de amostras de matéria fresca de plântulas obtidas ao final do teste de germinação, maceradas em gral e pistilo com nitrogênio líquido, contendo polivinilpirrolidona (PVPP) 20% e homogeneizados em 1,8 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8) contendo EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 20 mM. O extrato foi centrifugado

a 13.000 g por 20 min a 4 °C e o sobrenadante utilizado para mensuração da atividade enzimática.

Superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1): a atividade da enzima foi avaliada pela capacidade de inibição da fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) a 560 nm em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM, conforme Giannopolitis & Ries (1997). Uma unidade de atividade da SOD foi definida como a quantidade de enzima que produz uma inibição de 50% da redução fotoquímica do NBT.

Catalase (CAT - EC 1.11.1.6): determinada conforme descrito por Azevedo et al. (1998). A atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm ($\epsilon = 39.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), durante 2 min, em meio de reação de 4 mL incubado a 30 °C, contendo extrato enzimático, tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e peróxido de hidrogênio 12,5 mM.

Ascorbato peroxidase (APX – EC 1.15.1.1): determinada por metodologia proposta por Nakano e Asada (1981), pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato (ASA) por 2 min, a 290 nm ($\epsilon = 2.80 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). O meio de reação foi incubado a 30 °C e composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) ácido ascórbico 0,5 mM, H₂O₂ 0,1 mM e extrato enzimático.

O delineamento experimental foi blocos casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e havendo significância a 5%, ajustados por polinômios ortogonais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação de sementes de arroz vermelho foi afetada negativamente pelo incremento da concentração do extrato de folhas de *P. bipinnatifidum* (Figura 1a). Houve redução menos evidente neste processo fisiológico ao submeter as sementes à concentração 12%, o que pode ser explicado, em parte, pela maior tolerância do processo germinativo aos aleloquímicos em comparação ao crescimento inicial das plântulas (Ferreira & Aquila, 2000). Tal ocorrência também pode ser relacionada à elevada tolerância de plantas daninhas a agentes estressores e a condições adversas do meio (Aarestrup et al., 2008; Santos et al., 2008). Inibição mais expressiva ocorreu em sementes submetidas às concentrações 25; 50 e 75%, cuja germinação se reduziu em 29; 36 e 44% comparativamente à

concentração zero. A redução da germinação, por meio da inibição da retomada de crescimento adequado do embrião, foi intensificada pelo aumento do número de plântulas anormais (Figura 1a). Tal alteração morfológica pode apresentar relação com a desorganização do sistema de membranas, conforme evidenciado em sementes pelo aumento da condutividade elétrica das sementes (Figura 2b). Feitosa et al. (2007) relatam a presença de limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, além de outros compostos em espécies do gênero *Philodendron*. Desse modo, é possível que a redução do número de plântulas normais mantenha estreita relação ao efeito tóxico destes compostos sobre a semente e a plântula, por meio da elevação da peroxidação lipídica (Figura 3b).

A primeira contagem de germinação apresentou tendência ao decréscimo com o aumento da concentração do extrato (Figura 1a). Ocorreu similaridade entre a primeira contagem de germinação entre as concentrações 0; 12 e 25%, demonstrando que baixas concentrações do extrato, não foram eficientes em reduzir o vigor de sementes de arroz vermelho. Este efeito é devido à ampla tolerância do genótipo e provavelmente à manutenção do equilíbrio entre a produção e a degradação de radicais livres, conforme evidenciado pela elevada atividade da enzimas superóxido-dismutase e ascorbato-peroxidase, em plântulas sob tais concentrações (Figura 3c e 3d). As concentrações 50 e 75% reduziram o vigor das sementes em 18 e 26% e indicam que elevadas concentrações do extrato proporcionaram toxicidade às sementes no início do processo germinativo, o que tem relação com a elevada condutividade elétrica observada em sementes submetidas às duas concentrações mais altas do extrato (Figura 2b). Tal efeito pode ser atribuído ao aumento na concentração de compostos tóxicos (Wu et al., 2009), devido a elevação na concentração do extrato.

O índice de velocidade de germinação apresentou redução ao incrementar a concentração do extrato (Figura 1b). Ocorreram resultados mais expressivos em ambas as variáveis a partir da concentração 25%, o que permite inferir que, a elevação na concentração do extrato retardou o processo germinativo e refletiu na diminuição do número de sementes germinadas diariamente. Esta ocorrência pode ter sido causada, pela redução da velocidade ou capacidade de hidrólise e mobilização de reservas do endosperma ao embrião pelo efeito negativo gerado sobre a α -amilase (Muniz et al., 2007). Por outro lado, em sementes submetidas a baixas concentrações do extrato, supõe-se que o sistema antioxidativo foi eficiente

na detoxicação dos tecidos por meio da degradação de radicais livres, similarmente ao evidenciado em plântulas sob as mesmas condições de meio (Figura 3 c, 3d, 3e).

Os teores de clorofila foram alterados com o aumento da concentração do extrato (Figura 2a). Houve similaridade nos teores de clorofila *a* e *b* e *total* até a concentração 12%, enquanto que a partir de 25%, ocorreu redução dos teores de clorofila *a*, *b* e *total*. Tal modificação representa redução quali-quantitativa na síntese de pigmentos de captação de energia radiante, permitindo verificar em relação à concentração zero, menor investimento de assimilados para a formação do sistema antena da plântula. A redução nos teores de clorofila é processo relacionado à interferência de compostos tóxicos ou aleloquímicos na fotossíntese, por meio de modificações no conteúdo de clorofila (Abu-Romman et al., 2010) incluindo processos mediados por enzimas clorofilases, pela alteração no transporte de elétrons e inibição da fotossíntese pela redução da eficiência do fotossistema II (Carillo et al., 2010) ou ainda, pela inibição da síntese de precursores da porfirina (Rice, 1984), um constituinte da clorofila.

A condutividade elétrica, nos três períodos de incubação avaliados, mostrou tendência ao aumento com a concentração do extrato, indicando que, independentemente ao período, houve tendência de aumento na liberação de eletrólitos ao incrementar a concentração do extrato (Figura 2b). A elevação na liberação de eletrólitos é explicada pela danificação ou redução da capacidade de reorganização da bicamada fosfolipídica, constituinte de membranas celulares. Hipoteticamente, danos às membranas possuem relação com a produção de formas reativas de oxigênio, cuja formação neste caso foi desencadeada pela ação do extrato, podendo ser evidenciada em plântulas pelo aumento da produção de peróxido de hidrogênio conjuntamente à elevação da peroxidação lipídica (Figura 3a e 3b). A avaria destas estruturas resulta em perda da seletividade e na lixiviação exacerbada de compostos destinados à retomada do crescimento do embrião. Processo que reflete em redução do número de plântulas normais (Figura 1a) e na diminuição do vigor de sementes de arroz vermelho, conforme verificado na primeira contagem de germinação (Figura 1a).

O comprimento dos órgãos de plântulas formadas em laboratório e em casa de vegetação foi alterado pela concentração do extrato (Figura 2c, 2e). Em condições laboratoriais, o comprimento de parte aérea e de raiz primária aumentou até a concentração 50% e contribuiu para o aumento da massa seca total das

plântulas nas concentrações 0; 12; 25 e 50% (Figura 2f). Entretanto, o comprimento de órgãos apresentou tendência à redução em plântulas sob ação da concentração 75%, sendo os efeitos mais marcantes sobre a raiz comparativamente à parte aérea. Por outro lado, plântulas emergidas em casa de vegetação apresentaram similaridade no comprimento de parte aérea até a concentração 25%, com posterior tendência ao decréscimo, nas duas maiores concentrações do extrato (Figura 2e). A redução ou incremento nas dimensões de raiz e parte aérea podem ser explicados pela influência do extrato sobre o balanço hormonal da plântula (Alves & Santos, 2002).

O comprimento da raiz primária em plântulas foi afetado drasticamente pela concentração do extrato (Figura 2e). Houve, em relação à concentração zero, redução superior a 30% nas concentrações 12 e 25%, enquanto, nas concentrações 50 e 75% a ultrapassou a 57%. Os efeitos mais drásticos e negativos do extrato sobre a raiz são explicados pela maior sensibilidade dos tecidos deste órgão comparativamente à parte aérea (Labbafy et al., 2009). Além disso, em condições laboratoriais, é provável que o menor efeito do extrato sobre o comprimento de raiz primária mantenha relação ao favorecimento da plântula frente às condições ideais à germinação e ao crescimento inicial. Cabe salientar a ausência na redução de parte aérea em detrimento da raiz, fato que exclui situações de simulação de déficit hídrico ou estresse osmótico (Marenco & Lopes, 2005) e permite evidenciar o efeito tóxico do extrato sobre tais atributos de crescimento. Han et al. (2008) observaram redução no comprimento de parte aérea e de raiz em plântulas de cebola e soja ao aumentar a concentração do extrato de *Zingiber officinale* Rosc.

A emergência de plântulas apresentou relação dose-resposta com a elevação da concentração do extrato (Figura 2d). Resultados marcantes foram obtidos a partir da concentração 12%, responsável pela redução de 11% na emergência de plântulas de arroz vermelho, comparativamente à concentração zero. Tal processo fisiológico foi reduzido em 16% em sementes expostas à concentração do extrato igual a 25%, enquanto naquelas submetidas às concentrações 50 e 75%, houve diminuição de 15% na emergência de plântulas. Neste contexto, mesmo em baixas concentrações, o extrato apresentou potencial de reduzir o vigor de sementes de arroz vermelho. O efeito negativo do extrato sobre o vigor das sementes mantém estreita relação com a perda da seletividade do sistema de membranas, conforme evidenciado pelo aumento da condutividade elétrica em sementes (Figura 2b) e pela

elevação da peroxidação lipídica em plântulas ao incrementar a concentração do extrato (Figura 3b).

A massa seca total de plântulas obtidas em laboratório foi crescente até a concentração 25% e apresentou similaridade àquela de plântulas sob ação da concentração 50% (Figura 2f). Tais concentrações induziram, em relação à concentração zero, aumento de 10% na massa seca total de plântula. Similarmente, plântulas emergidas em casa de vegetação apresentaram tendência a incrementar a massa seca total até concentração 25% quando a quantidade de carbono alocada na plântula foi menos expressiva, comparativamente a plântulas sob condições laboratoriais. O aumento na quantidade de carbono alocado na plântula via degradação e mobilização de reservas do endosperma tem relação à eficiência do sistema antioxidativo da plântula frente ao estresse ocasionado por baixas concentrações do extrato (Figura 3c, 3d e 3e) e ao similar teor de clorofila em relação a plântulas expostas à concentração zero (Figura 2a), indicativo da tolerância do genótipo de arroz vermelho. Houve a partir da concentração 50% tendência à redução na massa seca total, ocasionando diminuição de 9,5% em plântulas sob condições laboratoriais e de 23% em plântulas emergidas sob ação da concentração 75% (Figura 2f). Assim, há indicativo que concentrações mais elevadas do extrato resultam em toxicidez sobre plântulas de arroz vermelho, sendo possivelmente, resultado do efeito negativo do extrato sobre a atividade de enzimas hidrolíticas (Muniz et al., 2007) ou indireto, na inibição na síntese do ácido giberélico (Politycka & Gmerek, 2008).

A produção de peróxido de hidrogênio apresentou tendência à redução até a concentração do extrato igual a 25% (Figura 3a) e corrobora a reduzida peroxidação lipídica sob as mesmas concentrações do extrato (Figura 3b). Plântulas submetidas às concentrações 50 e 75% aumentaram acentuadamente a produção de peróxido de hidrogênio e colaboraram para o incremento na peroxidação lipídica. Esse processo confirma o efeito tóxico do extrato sobre a redução da capacidade seletiva das membranas celulares, evidenciado pelo aumento da condutividade elétrica em sementes (Figura 2b)

A atividade das enzimas antioxidativas foi alterada pelo aumento da concentração do extrato (Figura 3c, 3d e 3e). Observou-se aumento acentuado na atividade das enzimas superóxido-dismutase (SOD) e ascorbato-peroxidase (APX) a partir da concentração 12%, aliado, a redução na atividade da enzima catalase

(CAT) até a concentração 50% do extrato. A diminuição da atividade da CAT é explicada por sua baixa afinidade ao peróxido de hidrogênio (Carvalho et al., 2011). O incremento na atividade da enzima superóxido-dismutase ocorreu devido ao efeito do extrato sobre a provável elevação nos níveis de radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$) produzidos pelo bloqueio da cadeia de transporte de elétrons, conjuntamente à geração de elétrons livres ou, pela reação de transferência de elétrons do NADPH para o oxigênio molecular. Os radicais $O_2^{\bullet-}$, em um processo mediado pela enzima superóxido-dismutase, foram convertidos em peróxido de hidrogênio, composto potencialmente causador de dano celular (Sinha & Saxena, 2006). O incremento nos níveis deste radical livre resultou na elevação na atividade da enzima ascorbato-peroxidase, que até certo ponto, degradou o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular (Barreiros et al., 2006), corroborando aos baixos níveis de peróxido de hidrogênio até a concentração 25% do extrato (Figura 3a) e aos níveis mínimos de toxicidade proporcionados ao crescimento de plântulas sob condições de laboratório, até a referida concentração (Figura 2c e 2f). Entretanto, a partir da concentração 50%, a elevação da atividade das enzimas SOD e APX não foi suficiente para manter o equilíbrio entre a quantidade de radicais livres produzidos e degradados, resultando em exacerbado acúmulo de peróxido de hidrogênio em plântulas expostas a concentração 75%, agente indutor do pequeno aumento na atividade da enzima catalase (Carvalho et al., 2011).

A partir da análise conjunta das variáveis estudadas, é possível verificar que baixas concentrações do extrato influenciaram negativamente no processo germinativo, com reflexos na redução do vigor das sementes de arroz vermelho. Toxicidade elevada foi constatada sobre atributos de crescimento em plântulas submetidas às concentrações 50 e 75% do extrato. O teor de pigmentos fotossintéticos de plântulas obtidas em laboratório e o comprimento da raiz primária de plântulas emergidas em casa de vegetação foram reduzidos pelo incremento da concentração do extrato. Aliado a isso, houve elevação dos níveis de peróxido de hidrogênio e na peroxidação lipídica, alterações na atividade das enzimas antioxidativas que demonstraram ineficiência na detoxicação dos tecidos de plântulas sob as duas maiores concentrações do extrato.

CONCLUSÃO

O extrato de *P. bipinnatifidum* apresentou toxicidade a sementes e a plântulas de arroz vermelho, sendo resultado da ação do extrato sobre diferentes atributos e processos fisiológicos.

REFERÊNCIAS

- Aarestrup, J.R., D. Karam, E.J.A. Correa & G.W. Fernandes.** 2008. Análise da viabilidade de sementes de *Euphorbia heterophylla*. *Planta Daninha* 26: 515-519.
- Abu-Romman, S., M. Shatnawi & R. Shibli.** 2010. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 7: 298-302.
- Abugre, S., A.K. Apetorgbor, A. Antwiwaa & M.M. Apetorgbor.** 2011. Allelopathic effects of ten tree species on germination and growth of four traditional food crops in Ghana. *Journal of Agricultural Technology* 7: 825-834.
- Alves, S.M. & L.S. Santos.** 2002. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: Souza Filho, A.P.S. & S.M. Alves (Ed.). *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p.25-47.
- Arnon, D.I.** 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Azevedo, R.A., R.M. Alas, R.J. Smith & P.J. Lea.** 1998. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104: 280-292.
- Barreiros, A.L.B.S., J.M. David & J.P. David.** 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29: 113-123.
- Brasil.** 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Brasília: SNDA/ACS, 399p.
- Cakmak, I. & W.J. Horst.** 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83: 463-468.
- Carillo, P., C. Cozzolino, B. D'Abrosca, F. Nacca, M. Della Greca, A. Fiorentino & A. Fuggi.** 2010. Effects of the allelochemicals dihydrodiconiferyl alcohol and lariciresinol on metabolism of *Lactuca sativa*. *The Open Bioactive Compounds Journal* 3: 18-24.

- Carvalho, F.E.L., A.K.M. Lobo, A. Bonifacio, M.O. Martins, M.C. Lima Neto & J.A.G. Silveira.** 2011. Acimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15: 416-423.
- Feitosa, C.M., M.Z.B. Bezerra, A.M.G.L. Citó, J.S. Costa Júnior, J.A.D. Lopes & J.M. Moita Neto.** 2007. Constituintes químicos de *Philodendron imbé* Schott. *Química Nova* 30: 41-44.
- Ferreira, A.G. & M.E.A. Aquila.** 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 175-204
- Giannopolitis, C.N. & S.K. Ries.** 1997. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Han, C., K. Pan, N. Wu, J. Wang & W. Li.** 2008. Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. *Scientia Horticulturae* 116: 330-336.
- Krzyzanowski, F.C., J.B. França-Neto, A.A. Henning.** 1991. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. *Informativo ABRATES* 1: 15-50.
- Labbafy, F., F. Maighany, A. Hejazy, H. Khalaj, A.M. Baghestany, I. Allahdady & A. Mehrafarin.** 2009. Study of allelopathic interaction of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereal* L.) using equal-compartment-agar method. *Asian Journal of Agricultural Sciences* 1: 25-28.
- Lichtenthaler, H.K.** 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Marengo, R.A. & N.F. Lopes.** 2005. *Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. 2. ed. Viçosa: UFV, 451p.
- Muniz, F.R., M.G. Cardoso, E.V.R. Von Pinho & M. Villela.** 2007. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. *Revista Brasileira de Sementes* 29: 195-204.
- Nakagawa, J.** 1994. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Vieira, R.D. & N.M. CARVALHO (Ed.). *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, p.49-85.
- Nakano, Y. & K. Asada.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Noldin, J.A., S. Yokoyama, H. Stuker, F.T. Rampelotti, M.I.F. Gonçalves, D.S. Eberhardt, A. Abreu, P. Antunes & J. Vieira.** 2004. Desempenho de populações

híbridas F2 de arroz vermelho (*Oryza sativa*) com arroz transgênico (*O. sativa*) resistentes ao herbicida amônio-glufosinate. *Planta Daninha* 22: 381-395.

Politycka, B. & J. Gmerek. 2008. Effect of ferulic and p-coumaric acids on the activity of hydrolytic enzymes and growth of radicals in germinating seeds of cucumber and pea. *Allelopathy Journal* 21: 227-238.

Putnam, A.R. & W.B. Duke. 1978. Allelopathy in Agroecosystems. *Annual Review Phytopathology* 16: 43-451.

Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2 ed. Academic Press: New York, 422p.

Rosa, S.D.V.F., E.V.R.V.P. Rezende, E.S.N. Vieira, R.D. Veiga & A.D. Veiga. 2005. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *lea* associadas à tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. *Revista Brasileira de Sementes* 27: 91-101.

Santos, J.B., T.M. Lázari, G.N. Camelo, T.A. Oliveira & J.L.A. Figueiredo. 2008. Competição entre soja resistente ao glyphosate e plantas daninhas em solo compactado. *Planta Daninha* 26: 123-130.

Sinha, S. & R. Saxena. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymatic antioxidants and bacoside-a content in medicinal plant bacopa monnieri l. *Chemosphere* 62: 1340-1350.

Velikova, V., I. Yordanov & A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science* 151: 59-66.

Wu, A.P., H. Yu, S.Q. Gao, Z.Y. Huang, W.M. He, S.L. Miao & M. Dong. 2009. Differential belowground allelopathic effects of leaf and root of *Mikania micrantha*. *Trees Structure and Function* 23: 11-17.

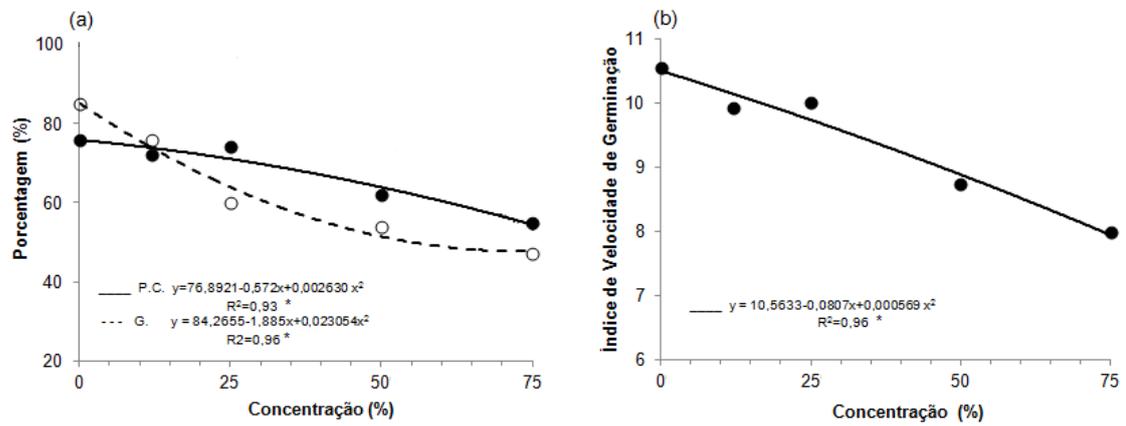


Figura 1. Germinação (G) e primeira contagem (PC) (a), índice de velocidade de germinação (b) de sementes de arroz vermelho sob ação de concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* (significativo a 5% *).

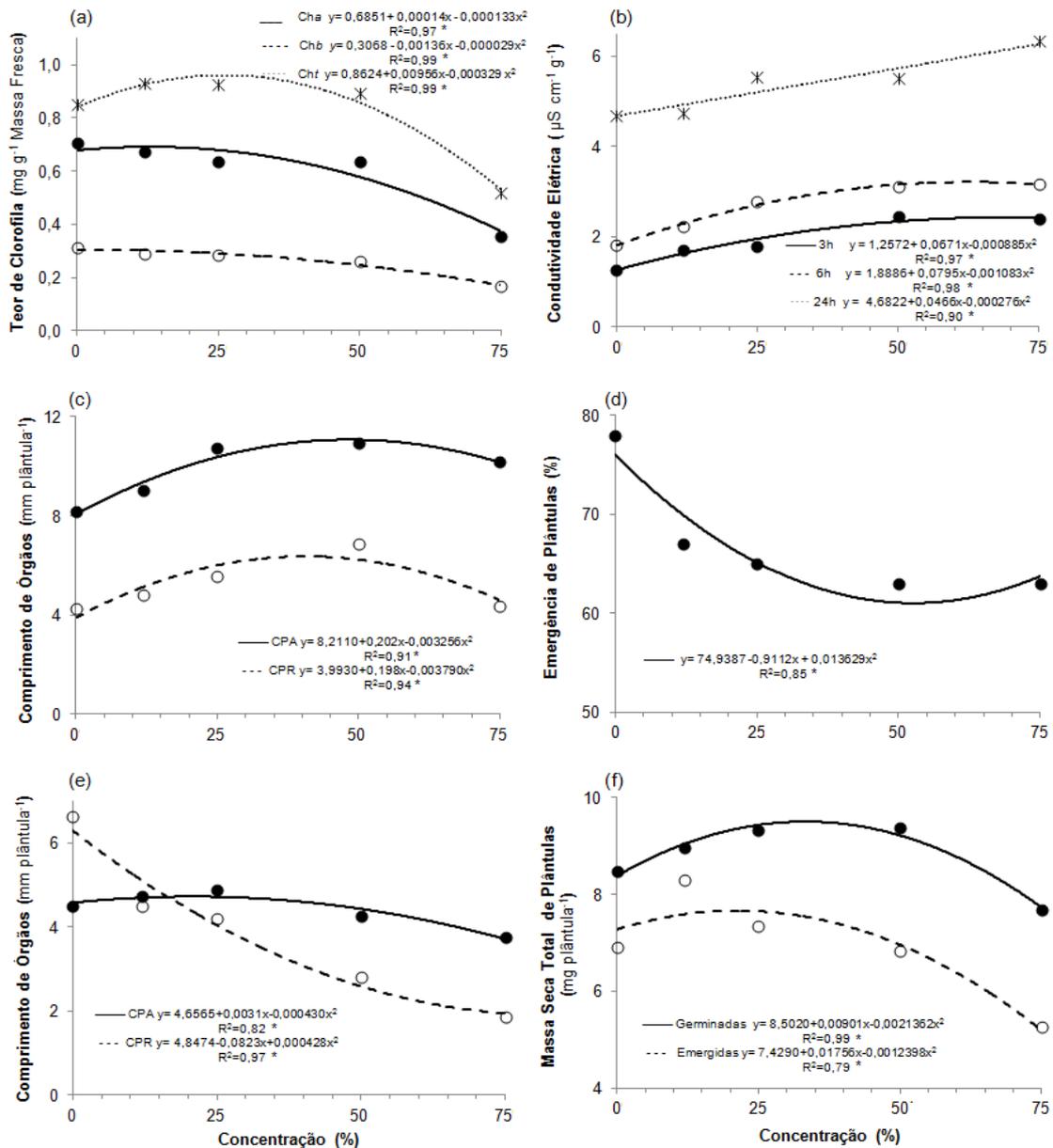


Figura 2. Teor de clorofila *a*, *b* e *total* de plântulas provenientes do teste de germinação (a), condutividade elétrica de sementes após 3, 6 e 24h (b), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) de plântulas do teste de germinação (c), emergência de plântulas em casa de vegetação (d), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) de plântulas emergidas em casa de vegetação (e) e massa seca total de arroz vermelho (f) sob ação de concentrações do extrato e *P. bipinnatifidum* (significativo a 5%*).

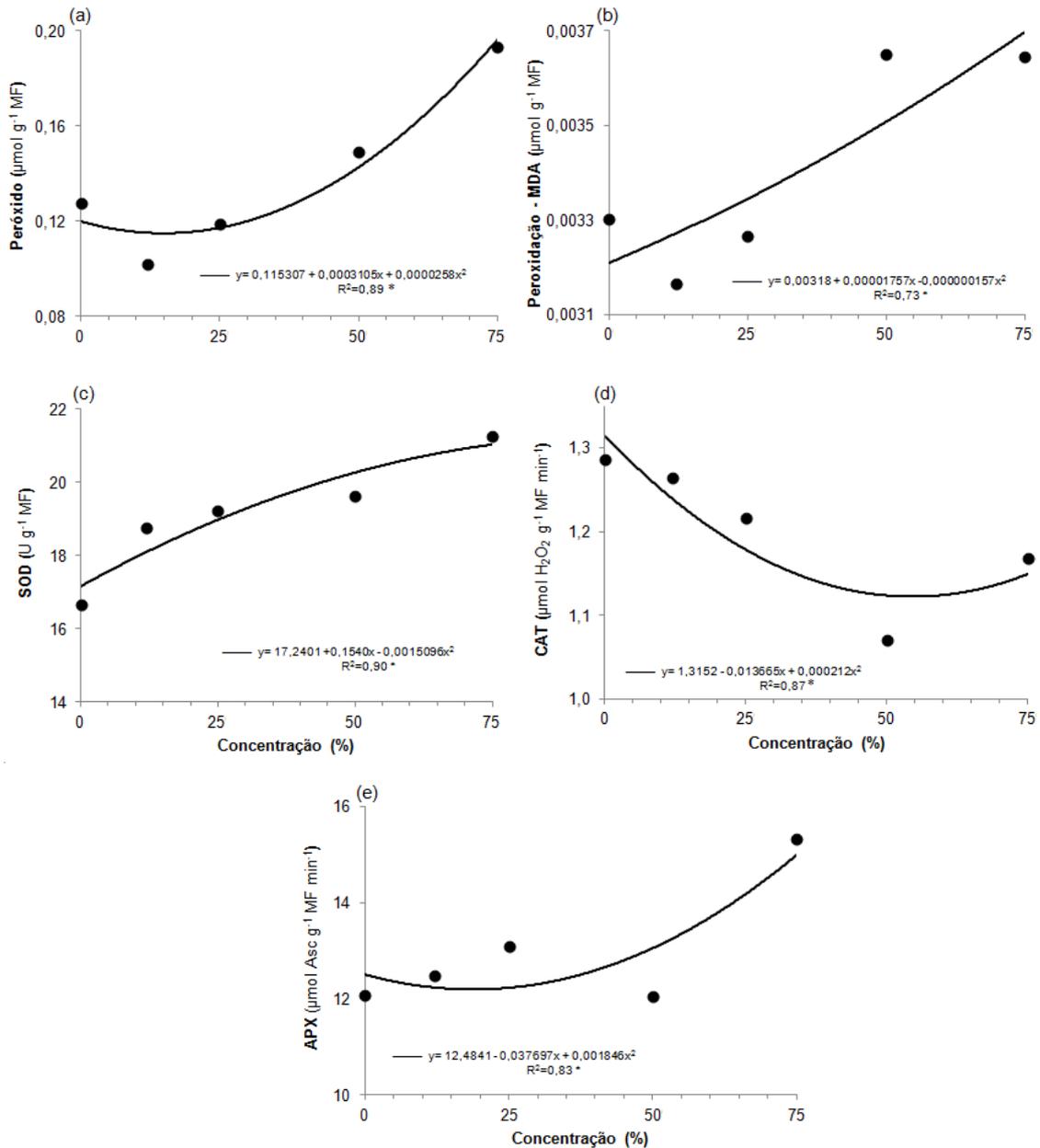


Figura 3. Peróxido de hidrogênio (a), peroxidação lipídica - MDA (b), atividade das enzimas: superóxido-dismutase - SOD (c), catalase - CAT (d), ascorbato-peroxidase - APX (e) em plântulas arroz vermelho obtidas a partir do teste de germinação em laboratório sob ação de concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* (significativo a 5% *).

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os extratos de *Zantedeschia aethiopica* e *Philodendron bipinnatifidum* foram testados em sementes e plântulas de alface; enquanto, sementes e plântulas de arroz vermelho foram expostas à ação do extrato de *Philodendron bipinnatifidum*.

O extrato de *Z. aethiopica* reduz o desempenho fisiológico de sementes de alface; O extrato de *P. bipinnatifidum* afeta negativamente o desempenho de sementes de alface e arroz vermelho, em condições laboratoriais;

O vigor de sementes e o crescimento inicial de plântulas de alface e arroz vermelho são afetados negativamente pelos extratos empregados, possivelmente, por afetar mecanismos hidrolíticos;

Os extratos de *Z. aethiopica* e *P. bipinnatifidum* alteram a morfologia de plântulas de alface e arroz vermelho, resultando no aumento de plântulas anormais (Figura 1a, 1b e 1c);

O conteúdo de clorofila em plântulas de alface e arroz vermelho é alterado quali-quantitativamente pelo extrato de *P. bipinnatifidum*;

O incremento da concentração dos extratos utilizados reflete na elevação da produção de peróxido de hidrogênio e induz ao aumento da atividade das enzimas superóxido-dismutase, ascorbato-peroxidase e catalase, buscando a eliminação deste radical livre;

O aumento na peroxidação de lipídeos em plântulas sob ação dos extratos corrobora o aumento da condutividade elétrica em sementes, sendo o efeito do extrato mais intenso em plântulas de alface comparativamente às de arroz vermelho;

O aumento da peroxidação de lipídeos em plântulas submetidas aos extratos evidencia o acúmulo de radicais livres, possivelmente, devido à ineficiência do metabolismo antioxidativo;

Os extratos de *Z. aethiopica* apresentam efeito tóxico em sementes e plântulas de alface; o extrato de *P. bipinnatifidum* apresentaram toxicidez a sementes e a plântulas de alface e arroz vermelho, sendo resultado da ação do extrato sobre diferentes atributos e processos fisiológicos.



Figura 1. Plântulas de alface provenientes do teste de germinação e expostas à ação do extrato de *Z. aethiopica* (A); plântulas de alface e arroz-vermelho provenientes do teste de emergência em casa de vegetação, sob ação do extrato de *P. bipinnatifidum* (B e C).