

INFLUÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS LIBERADAS PELAS RAÍZES DE *Heteranthera reniformis* SOBRE *Bipolares oryzae* E SEMENTES DE ALFACE E CAPIM-ARROZ

RICHARD EDÉLCIO RODRIGUES QUEVEDO¹; LAIS TESSARI PERBONI²;
RENAN RICARDO ZANDONA²; CÂNDIDA RENATA JACOBSEN DE FARIAS;
DIRCEU AGOSTINETTO³

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL – richardquevedo357@gmail.com

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL - laliperboni@hotmail.com

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL - renan_zandona@hotmail.com

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL – agostinnetto.d@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Heteranthera reniformis, cujos nomes populares são agrião-do-brejo ou aguapé-mirim, é uma espécie hidrófita de água doce pertencente à família Pontederiaceae que se comporta como perene em ambientes alagados (FARIA; AMARAL, 2005). A multiplicação de *H. reniformis* pode ser tanto vegetativa como por sementes e seu desenvolvimento depende de contínuo fornecimento de água.

Ao longo do crescimento e desenvolvimento, as plantas utilizam estratégias para sobressair-se, as quais incluem a liberação de compostos no meio ambiente com a finalidade de inibir o crescimento de outras plantas ou até mesmo para se protegerem de patógenos. A dinâmica de liberação de compostos por plantas e ação destes em outros organismos é denominada de alelopatia (EINHELLIG, 1996).

As hipóteses desta pesquisa foram de que as substâncias liberadas por raízes de *H. reniformis* apresentam efeitos negativos sobre o desenvolvimento de patógenos e plantas daninhas. Os objetivos foram avaliar o efeito das substâncias liberadas pelas raízes de *H. reniformis* sobre o desenvolvimento de *B. oryzae* e de sementes de alface e capim-arroz.

2. METODOLOGIA

Foram realizados os experimentos em laboratório e na casa de vegetação, pertencentes à Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL. Para avaliar o efeito das substâncias liberadas pelas raízes de *H. reniformis* sobre *B. oryzae*, 20 hastes com uma folha foram coletadas, de plantas cultivadas em casa de vegetação, desinfestadas com hipoclorito 1% durante 1 min, lavadas com água destilada autoclavada e inoculadas em potes de vidro contendo meio Murashige e Skoog 50%, previamente autoclavado. Após 21 dias de crescimento, as plantas foram removidas e o meio de crescimento foi utilizado para a extração dos compostos com o solvente acetato de etila na proporção 1:10 de material: solvente (m/v). A extração foi realizada com auxílio do banho de ultrassom durante 30 min e, posteriormente, foi realizada a filtração com papel filtro qualitativo Whatman Nº 1. O solvente foi evaporado em rota evaporador modelo Buchi, e o resíduo remanescente, após a evaporação do solvente, foi pesado e ressuspenso com dimetilsulfóxido (DMSO), na proporção

de 5 μL por mL^{-1} de água destilada autoclavada buscando-se uma concentração de 0,8 mg mL^{-1} (800 ppm).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, contendo 6 repetições. As unidades experimentais consistiram de placas de Petri contendo 10 mL de meio de crescimento. Os tratamentos consistiram de extratos acetato de etila na concentração de 0,4 mg mL^{-1} (400 ppm), e, os controles: BDA, BDA+DMSO. No centro de cada placa de Petri contendo meio BDA+tratamento solidificado, adicionou-se disco de 5 mm de *B. oryzae* isolado de agressividade intermediária.

As placas de Petri foram seladas com Parafilm e levadas à câmara de crescimento com temperatura de 25 °C e 12 horas/luz/dia. As avaliações consistiram de medições do crescimento da colônia diariamente, com auxílio de régua milimétrica, levando-se em consideração a média de dois diâmetros ortogonais das colônias em desenvolvimento e do cálculo do índice de crescimento micelial (ICM) (REY et al., 2005).

A determinação do número de esporos mL^{-1} foi realizada quando as colônias fúngicas atingiram as bordas das placas. Para isso, quatro discos de cada placa foram removidos e colocados em tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada autoclavada e uma gota de Tween 80. Os tubos de ensaio contendo os discos de crescimento foram agitados em agitador tipo vortex e alíquotas foram pipetadas sobre os dois quadrantes da câmara de Neubauer para a realização de duas contagens de esporos por repetição.

Para os experimentos relativos a germinação de sementes de alface cultivar Grandes Lagos (experimento 2) e capim-arroz (experimentos 3 e 4) em meio contendo substâncias liberadas pelas raízes de *H. reniformis*, hastes da espécie foram crescidas conforme descrito acima e, após 21 dias, a parte aérea foi removida com auxílio de bisturi esterilizado em câmara de fluxo. Anteriormente à inoculação das sementes de alface e capim-arroz no meio, estas foram previamente esterilizadas com hipoclorito 1% durante dois minutos, lavadas com água destilada e mantidas sobre papel filtro esterilizado até a secagem.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, contendo 5 repetições. Os tratamentos consistiram em meio sem (controle) e contendo substância liberada por raízes de *H. reniformis*. Foram depositadas 20 sementes de alface ou capim-arroz de forma equidistante em potes de vidro, sobre o meio de crescimento de *H. reniformis*, e as unidades experimentais tampadas com papel alumínio para evitar contaminações por microrganismos.

As variáveis analisadas foram primeira e segunda contagem de germinação (%), crescimento da raiz e da parte aérea (mm). Nos experimentos 2 e 4 foi realizada a contagem do número de raízes necrosadas e os valores expressos em porcentagem.

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Hartley, para avaliação da normalidade e homocedasticidade, respectivamente, e posteriormente à análise da variância ($p \leq 0,05$). Havendo significância, a média do tratamento do primeiro experimento foi comparada com os controles através de contrastes de médias (Tabela 1); e, para os demais experimentos procedeu-se a comparação do controle com o tratamento através do teste de Dunnett ($p \leq 0,05$).

Tabela 1- Tratamentos e contrastes utilizados nos experimentos de crescimento de *B. oryzae*. FAEM/UFPEL, 2017

Tratamentos	C1	C2	C3
1- BDA	+		+
2- BDA+DMSO	-	+	+

3- BDA+DMSO+ ResíduoSolvente	-	+
4- BDA+DMSO+ResíduoSolvente+Extrato 0,4 mg mL ⁻¹	-	-

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve significância estatística apenas para a variável número de esporos mL⁻¹ (Tabela 2). De acordo com a análise de contrastes, a adição de DMSO e o resíduo do solvente após a evaporação não interferiu no número de esporos mL⁻¹ (contrastos 1 e 2). As substâncias liberadas por raízes de *H. reniformis* reduziram o número de esporos produzidos por *B. oryzae* (contraste 3).

As respostas dos patógenos à liberação de aleloquímicos podem ser estimulatórias ou inibitórias (DIXON, 2001; HAO et al., 2010), e nestas pesquisas verificou-se efeito inibitório somente sobre a esporulação. Em outra pesquisa, foi verificado que exsudatos radiculares de plantas de arroz apresentaram efeitos antifúngicos no desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* (HAO et al., 2010).

Tabela 2- Esporulação de *B. oryzae* em meio contendo substâncias liberadas por *H. reniformis*. FAEM/UFPEL, 2018

Tratamento	Esporos mL ⁻¹
(1)x(2)	(1800) ^{ns1} x (1750)
(2)x(3)	(1750) ^{ns} x (2250)
(1+2+3)x(4)	(1933) [*] x (562)
CV(%)	43,4

^{1*} ou ^{ns} contrastes significativos e não significativos ($p \leq 0,05$)

Na avaliação de alface e capim-arroz não foi observada significância estatística para as variáveis primeira e segunda contagem de germinação, indicando que as substâncias liberadas por *H. reniformis* não alteram o processo germinativo das sementes de alface e capim-arroz (dados não apresentados). Ainda, para o capim-arroz não houve significância estatística para a variável comprimento da raiz de capim-arroz (dados não apresentados).

Quando as sementes de alface cresceram em meio contendo substâncias liberadas por raízes de *H. reniformis*, observou-se porcentagem elevada de raízes necrosadas, sendo que isto pode ter influenciado o crescimento das raízes e da parte aérea das plantas analisadas (Tabela 3). De acordo com os dados de comprimento da raiz e da parte aérea observou-se que no tratamento com substâncias houve redução de 43% e 45% em relação ao controle, respectivamente.

Tabela 3- Raízes necrosadas, comprimento da raiz e parte aérea de alface em meio contendo substâncias liberadas por raízes de *H. reniformis*. FAEM/UFPEL, 2018

Tratamento	Raiz necrosada (%)	Raiz (mm)	Parte aérea (mm)
Sem substâncias	0,0 ^{*1}	13,9 [*]	11,6 [*]
Com substâncias	77,5	7,8	6,4
CV(%)	5,5	19,2	15,5

^{1*} ou ^{ns} médias significativas ou não pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$).

Verificou-se que o comprimento da raiz e da parte aérea de capim-arroz foram reduzidos no tratamento contendo as substâncias liberadas por raízes de

H. reniformis (Tabela 4). As reduções da raiz e parte aérea de capim-arroz alcançaram 28% e 40% em relação aos comprimentos no tratamento sem substâncias, respectivamente.

Tabela 4- Comprimento da raiz e parte aérea de capim-arroz em meio contendo substâncias liberadas por raízes de *H. reniformis*. FAEM/UFPEL, 2017

Tratamento	Raiz (mm)	Parte aérea (mm)
Sem substâncias	50,4 ^{*1}	60,4 [*]
Com substâncias	36,0	36,0
CV(%)	23,4	10,8

^{1*} ou ^{ns} médiassignificativas ou não, pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$).

No experimento 4, incluiu-se a contagem de raízes necrosadas para a espécie capim-arroz e verificou-se que 53% das plantas apresentaram as raízes necrosadas (Tabela 5). Da mesma forma que no experimento anterior, verificou-se efeito do meio de crescimento sobre a parte aérea de *H. reniformis*, no entanto a redução foi apenas de 18% em relação ao controle.

Tabela 5- Raízes necrosadas, comprimento da raiz e parte aérea de capim-arroz em meio contendo substâncias liberadas por raízes de *H. reniformis*. FAEM/UFPEL, 2018

Tratamento	Raiz necrosada (%)	Parte aérea (mm)
Sem substâncias	0,00 ^{*1}	40,37 [*]
Com substâncias	53,00	33,08
CV(%)	41,76	5,24

^{1*} ou ^{ns} médiassignificativas ou não, pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$).

As raízes liberam compostos através de dois mecanismos potenciais (BAIS et al., 2006). O primeiro está relacionado ao transporte dos aleloquímicos através das membranas celulares e liberação na rizosfera; e, o segundo inclui a liberação dos compostos a partir das células da borda das raízes ou com as células que se despreendem da raiz à medida que as plantas crescem (BAIS et al., 2006).

4. CONCLUSÕES

As substâncias exsudadas por raízes de *H. reniformis* no meio de crescimento apresentam efeitos negativos sobre a esporulação de *B. oryzae*.

As substâncias exsudadas por raízes de *H. reniformis* em meio de crescimento reduzem as variáveis comprimento da parte aérea e da raiz de alface e capim-arroz.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIS, H.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S.; VIVANCO, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Reviews of Plant Biology**, v.57, p. 233-266, 2006.
- DIXON, R.A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v.411, p.843–847, 2001.
- EINHELLIG, F.A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, v.88, p.886-893, 1996.
- FARIA, A.D.; AMARAL, M.C. Pontederiaceae. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; MELHEM, T.S.; MARTINS, S.E.; KIRIZAWA, M.; GIULIETTI.