

# EFEITOS ALELOPÁTICOS DA ERVILHACA (*VICIA SATIVA* L.) SOBRE A ALFACE EM TESTES DE LABORATÓRIO<sup>1</sup>

ANTONIO ROBERTO M. DE MEDEIROS<sup>2</sup> e ANTONIO AUGUSTO LUCCHESI<sup>3</sup>

**RESUMO** - Determinou-se a potencialidade da ervilhaca através de testes de laboratório, utilizando-se caixas de plástico transparente Gerbox contendo como substrato uma folha de papel mata-borrão (tipo Germibox) umedecido. O parâmetro para determinação dos efeitos do extrato aquoso no substrato foi a influência na germinação das sementes, no comprimento da raiz primária, e no peso da matéria seca das plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.). Observaram-se os efeitos do substrato contendo diferentes concentrações do extrato aquoso sobre a formação de pêlos absorventes nas raízes primárias. A ervilhaca mostrou forte influência sobre a alface, destacando-se o fato de que, nas concentrações mais elevadas do extrato aquoso (75% e 100%), as sementes de alface morreram, oxidando-se, e os seus tecidos decompondo-se rapidamente.

Termos para indexação: inibidores de germinação, extrato aquoso.

## ALLELOPATHIC EFFECTS OF COMMON VETCH (*VICIA SATIVA* L.) ON LETTUCE IN LABORATORY TESTS

**ABSTRACT** - The allelopathic potential of *Vicia sativa* L. was determined by laboratory tests. Transparent plastic boxes containing humidified absorbent paper as a substrate were used. The laboratory parameter for determining the effects of the aqueous extracts on the substrate was the influence on the seeds, germination, on the length of the primary root and on the weight of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings. Effects of the different concentrations of aqueous extracts on the absorbent hairs formation were evaluated. *Vicia sativa* L. showed great influence on lettuce. In the highest concentrations of the aqueous extract (75% and 100%), seeds died and decayed rapidly.

Index terms: germination inhibitors, aqueous extracts.

## INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos sobre a capacidade, que certas espécies de plantas possuem, de interferir na fisiologia de plantas de outras espécies, foram feitos por Theophrastus (300 A.C.). Seguiram-se os trabalhos de Plínio (1 D.C.), Culpeper (1633), Browne (1658), Young (1804), De Candolle (1832), Beobachter (1845), Stickney & Hoy (1881), citados por Rice (1984).

Recentemente, muitos produtos secundários, oriundos de plantas, com ação fitotóxica, têm sido isolados e identificados. A liberação destes compostos num agroecossistema pode ocorrer: a) por volatilização de substâncias provenientes de plantas em estado vegetativo; b) por lixiviação, através da chuva ou sereno, de toxinas solúveis em água, da parte aérea ou de tecidos subterrâneos; c) de tecidos vegetais em decomposição; d) por exsudação do sistema radicular. Vários autores têm sugerido a exploração deste fenômeno como um adicional no controle das plantas invasoras, (Altieri & Doll 1978, Putnam & Duke 1978 e Putnam & De Frank 1981). Uma vez determinada a potencialidade alelopática de uma espécie, através de testes de laboratório, os resultados poderão ser levados ao campo, servindo como uma opção a mais a ser utilizada no controle racional das plantas invasoras.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 18 de maio de 1992.

Extraído da Tese de Doutorado apresentada a USP/ESALQ, pelo primeiro autor.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., M.Sc., D.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Fruteiras de Clima Temperado (CNPFT), Caixa Postal 403, CEP 96001 Pelotas, RS.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., Prof. - Titular - Dep. de Botânica USP/ESALQ, Caixa Postal 9, CEP 13400 Piracicaba, SP.

As leguminosas de inverno podem ser consorciadas a fruteiras de clima temperado, as quais apresentam uma fase de repouso hibernar, período em que a cultura consorciada está em plena vegetação, não competindo com a planta frutífera, melhorando as condições físicas e químicas do solo, além de protegê-lo da erosão.

Desde a criação do termo alelopatia, em 1937, por Molisch, ao longo dos anos a palavra tem sido redefinida. Putnam & Duke (1978) utilizaram-na para se referirem aos efeitos danosos de plantas superiores de uma espécie (doadora), na germinação, crescimento ou desenvolvimento de plantas de outras espécies (receptoras). Esta definição é diferente da estabelecida por Molisch, o qual se referiu à alelopatia para descrever interações bioquímicas benéficas e prejudiciais entre microorganismos e plantas.

Plínio (1 D.C.), também citado por Rice (1984), relatou que *Cicer arietinum* L., *Hordeum vulgare* L., *Trigonella foenum-graceum* L., *Vicia ervilia* Willd. e uma espécie de noqueira europeia, provavelmente *Juglans regia* L., foram a causa de muita preocupação para os homens e danos para as plantas.

De Candolle, em 1832, afirmava que o cansaço das terras, decorrente da monocultura durante anos seguidos, era ocasionado pelo acúmulo de alguma substância exsudada pela cultura, a qual passava a afetar o próprio desenvolvimento (Rice 1984).

Bonasera et al. (1979), estudando o potencial alelopático de quatro espécies em três tipos de solos de pântanos do Estado de New Jersey, E.U., sugeriram a possibilidade de solos encharcados serem um local para se manifestarem interações alelopáticas. Esses autores obtiveram extratos de diferentes partes dos vegetais que foram testados na germinação de sementes de alface, tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.).

Extrato de folhas de *Ambrosia trifida* L. e de folhas e pecíolos de *Peltandra virginica* Kunth., diminuíram a germinação e o crescimento do sistema radicular de alface, tomate, rabanete e pepino. Observaram que os extratos de hastes

inibiam o desenvolvimento mas não a germinação. Já o extrato de folhas de *Bidens laevis*, foi, em geral, inibidor, enquanto que o extrato de hastes da citada espécie impediu somente a germinação e o desenvolvimento da alface.

Os testes com extratos de folhas de *Typha latifolia* L. mostraram ser responsáveis pela inibição do desenvolvimento e da germinação de sementes de rabanete por um período de 24 horas. Os extratos que apresentaram menor poder inibidor foram os obtidos de raízes e rizomas de *Typha latifolia* L.

Bokhari (1978) estudou o efeito de quatro tipos de liteira e três extratos de material fresco de *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag., *Agropyron smithii* Rydb. e *Buchloë dactyloides* (Nutt.) Engelm., sobre a germinação das sementes das três espécies estudadas como fonte de extrato de material fresco. Os quatro tipos de liteira foram compostos por: testemunha, liteira fertilizada, liteira irrigada e parcelas fertilizadas e irrigadas. Os resultados indicaram que os extratos de material vegetativo colhidos nos primeiros estádios fenológicos mostraram maior fitotoxicidade do que os coletados em estádios fenológicos avançados. A composição química da liteira e do material vegetativo indicou que este último continha, comparativamente, mais substâncias fenólicas do que a liteira.

Resíduos de *Lepidium virginicum* L. foram incorporados ao solo dez semanas antes da semeadura de *Coronilla varia* L., mostrando-se tóxicos à germinação das sementes. Já os resíduos de *Lespedeza striata* (Thunb) H. & A. incorporados ao solo, não afetaram a germinação, mas diminuíram o desenvolvimento das plantas.

A germinação das sementes de *Festuca arundinacea* Schre. e de *Lespedeza striata* (Thunb) H. & A. incorporados ao solo não afetaram a germinação, mas diminuíram o desenvolvimento das plantas.

A germinação das sementes de *Festuca arundinacea* Schreb., e de *Lespedeza striata* (Thunb) H. & A. e *Lespedeza cuneata* (Dumond) G. Don. foi inibida pelo extrato de *Lepidium virginicum* L. A substância tóxica ocorreu em todas as partes da planta e não foi afetada por baixas temperaturas.

O extrato de *Lepidium virginicum* L. foi tóxico a cinco fungos. A fito e fungitoxicidade pode ser significativa na competição com outras espécies de plantas.

Com o objetivo de determinar a potencialidade alelopática, testou-se a influência do extrato aquoso de ervilhaca na germinação, crescimento, desenvolvimento e características organográficas de plântulas de alface em condições de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Botânica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, Campus de Piracicaba.

Testou-se a influência do extrato aquoso de ervilhaca na germinação, crescimento e desenvolvimento da alface.

O teste de germinação das sementes foi realizado num germinador, regulado a 20°C, com luz constante.

Utilizou-se como planta teste a alface, cv. Branca de Boston. Para germinação das sementes, foram utilizadas caixas de plástico transparentes Gerbox contendo uma folha de papel mata-borrão (tipo Germinibox) umedecido com 7 ml de extrato aquoso. A manutenção da umidade foi controlada através de uma bandeja com água na parte inferior do germinador.

Decorridas 24 horas da colocação das Gerbox contendo as sementes e o substrato no germinador, foi acrescido 1 ml de extrato aquoso em cada caixa.

O extrato aquoso foi obtido da parte aérea (caules, ramos e folhas). Este material foi triturado com auxílio de um liquidificador.

Para viabilizar o processo de trituração, houve necessidade de se adicionar água destilada. A quantidade de água dependeu da relação entre o peso da matéria fresca e o peso da matéria seca do material em estudo.

### Determinação da quantidade de água a ser adicionada no processo de trituração

Coletou-se uma amostra do material a ser testado e determinou-se o peso da matéria fresca (PMF). O material foi posto em estufa à temperatura de 75°C, por um período de 72 horas. Após este intervalo, foi determinado o peso da matéria seca (PMS).

Da relação PMF/PMS obteve-se um índice que, multiplicado pelo peso da matéria fresca, resultou na

quantidade, em mililitros de água, a ser utilizada no processo de trituração.

### Filtragem e centrifugação

Após triturados, foram separados os fragmentos mais grosseiros, utilizando-se um funil de vidro contendo algodão.

O líquido resultante da filtragem foi centrifugado a 3.000 rpm, durante um período de dez minutos. Utilizou-se uma centrífuga Fanem Modelo 208 N.

### Diluições

Em comparação com os efeitos da água destilada, foram estudados os efeitos de quatro concentrações de extrato aquoso da ervilhaca sobre a germinação, crescimento e desenvolvimento das plântulas de alface. Considerou-se como concentrado 100% o extrato aquoso obtido após a centrifugação. Foram preparadas diluições com 75%, 50% e 25% do extrato aquoso.

### Semeadura

As sementes foram distribuídas na Gerbox, em lotes de cinquenta unidades, sem obedecer a um espaçamento uniforme porém suficiente para facilitar a avaliação individual.

As caixas transparentes Gerbox foram mudadas de lugar no germinador, a cada 24 horas, durante a condução do experimento.

### Levantamento dos dados

As avaliações foram feitas em intervalos de 24 horas, contadas a partir da colocação das Gerbox no germinador.

Pelas regras de análise de sementes, as plântulas que apresentam: raiz primária curta ou engrossada, raiz primária sem pêlos absorventes, e raiz primária de cor marrom não são consideradas germinadas e normais. Consideraram-se germinadas as sementes que apresentaram o comprimento da raiz primária igual ou superior ao menor diâmetro da semente.

Os percentuais de germinação foram levantados 24, 48, 72 e 96 horas após as sementes terem sido postas no germinador. Como em nenhum dos testes ocorreu a germinação no período das 24 horas iniciais, este dado foi omitido das Tabelas.

Os dados referentes ao comprimento da raiz primária foram obtidos após decorridas 48, 72 e 96 horas da colocação da Gerbox no germinador. As raízes primárias formaram um entrelaçado a partir do

quinto dia. Por este motivo, a tomada da medida do comprimento das raízes primárias foi feita até o quarto dia.

Do total de 50 sementes em cada caixa (parcela), foram avaliadas 30 sementes para obtenção das médias referentes à percentagem de germinação e ao comprimento da raiz primária. O peso médio da matéria seca foi obtido de lotes de 30 plântulas com quatro dias (96 horas), retiradas das Gerbox e postas em placa de vidro e em estufa a 75°C até peso constante.

#### Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada parcela foi composta de 50 sementes por caixa. A análise estatística foi feita com a transformação dos dados em arc sen  $\sqrt{x/100}$ . A comparação das médias foi feita através do Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Quantidade de água a ser adicionada à matéria fresca para obtenção do extrato aquoso

Para a determinação do peso da matéria fresca (PMF) e o peso da matéria seca (PMS), foram utilizados 50 gramas de material vegetal (exceto raízes), o qual foi posto em estufa a 75°C, durante um período de 96 horas. O peso da matéria seca foi de 30 g, e a relação PMF/PMS foi 1,67. Utilizaram-se 60 gramas de matéria fresca para obtenção do extrato aquoso, aos quais foram adicionados 100 ml de água destilada.

#### Efeitos do extrato aquoso de ervilhaca na germinação de sementes de alface

Conforme os dados da Tabela 1, observou-se que as sementes colocadas em substratos contendo concentrações de extrato aquoso acima de 25% foram bastante afetadas.

No tratamento água (destilada), as plântulas foram afetadas provavelmente por gases liberados dos substratos dos demais tratamentos. As plântulas apresentaram 100% das coifas oxidadas e as raízes primárias sem pêlos absorventes. O experimento foi repetido, pondo-se as Ger-

box deste tratamento numa prateleira abaixo das demais. Não ocorreram assim, os sintomas observados.

Observou-se que no tratamento com 25% de concentração do extrato as folhas cotiledonares das plântulas apresentavam uma coloração verde-escuro, contrastando com as dos demais tratamentos. As raízes primárias não formaram pêlos absorventes, e as coifas não foram oxidadas. Houve uma diminuição no diâmetro da raiz primária próximo da coifa.

No tratamento com 100% do extrato aquoso, as sementes ficaram apenas entumecidas e adquiriram uma coloração cinza-escuro, e não ocorreu a emissão da radícula.

No tratamento com 75% de concentração do extrato, houve apenas a emissão da radícula, porém esta não chegou a atingir 1 milímetro, apresentando-se totalmente escurecida.

Decorridas 96 horas após a colocação das Gerbox no germinador, observou-se que as sementes não germinaram nos tratamentos em que foram usadas concentrações mais altas (75 e 100%) de extrato aquoso, o que mostra a potencialidade alelopática que a ervilhaca possui. Embora tenha ocorrido a degradação parcial do substrato, o contato inicial das sementes afe-

**TABELA 1.** Percentagem de germinação de sementes de alface sob o efeito de diferentes concentrações do extrato aquoso de ervilhaca.

Concentração do extrato aquoso (%)	Período no germinador		
	48 horas	72 horas	96 horas
100	00,000b	00,000b	00,000b
75	00,000c	00,000c	00,000c
50	00,000b	00,000b	27,868b
25	69,839a	72,672a	82,390a
Água	72,609a	75,057a	75,057a
CV (%)	9,57	7,53	9,61

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, ao nível de significância de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

tou-as a ponto de, além de impedir a germinação, iniciar um processo de decomposição dos tecidos, em decorrência da morte das sementes:

As sementes submetidas ao tratamento com 5% de concentração do extrato apresentaram uma coloração escura. Passadas 96 horas desde a colocação das Gerbox no germinador, 27% delas emitiram a radícula; porém, em contato com o substrato, ocorreu a oxidação das coifas, o que causou a incapacidade das sementes de continuarem seu desenvolvimento, deteriorando-se logo após.

#### Efeitos do extrato aquoso da ervilhaca no comprimento da raiz primária da alface

As raízes primárias das plântulas do tratamento água (destilada) apresentaram um desenvolvimento normal. Já no tratamento com 25% de concentração do extrato aquoso, as raízes primárias foram danificadas: houve deformação do hipocótilo e não se desenvolveram pelos absorventes (Tabela 2).

No tratamento com 50% de concentração do extrato, os danos foram bem mais severos: as raízes primárias só foram observadas a partir de 72 horas da colocação das caixas Gerbox no germinador, e não se desenvolveram, porque ocorreu a deterioração dos tecidos das sementes, com conseqüente morte.

#### Efeito da concentração do extrato aquoso de ervilhaca no peso da matéria seca de plântulas de alface

Nos tratamentos em que foram usadas concentrações mais elevadas do extrato aquoso, observaram-se anomalias nas plântulas, como provável resultado do contato com substâncias tóxicas. Essas anomalias manifestaram-se, em alguns tratamentos, por uma atrofia da raiz primária, aumento do diâmetro do hipocótilo, aumento e espessamento das folhas cotiledonares e ausência de pelos absorventes.

Não foram verificadas influências no peso da matéria seca (Tabela 3) quando se estudou o comprimento da raiz primária.

#### Considerações gerais

Embora no presente trabalho não se tenha objetivado a identificação dos aleloquímicos responsáveis pelos efeitos causados através dos substratos nas sementes e plântulas de alface, a metodologia adotada mostra a potencialidade alelopática da espécie testada.

É possível que substâncias com propriedades

**TABELA 2.** Comprimento da raiz primária da alface sob o efeito de diferentes concentrações do extrato aquoso de ervilhaca.

Concentração do extrato aquoso (%)	Comprimento da raiz primária (mm) a 20°C e luz constante 96 horas
100	0,00d
75	0,00d
50	1,21c
25	3,78b
Água	4,84a
CV (%)	4,59

Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

**TABELA 3.** Influência da concentração do extrato aquoso de ervilhaca no peso da matéria seca de plântulas de alface.

Concentração do extrato aquoso (%)	Peso da matéria seca (mg)
100	0,029a
75	0,029a
50	0,031a
25	0,030a
Água	0,029a
CV (%)	3,58

Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

reguladoras de crescimento das plantas - substâncias, essas, que atuam em pequenas quantidades -, possam ter sido liberadas das plantas durante o processo de obtenção do extrato aquoso. Este fato é de considerável importância: tem sido demonstrado por Tukey Junior (1969) que substâncias como as giberelinas podem ser lixiviadas pela chuva ou pelo sereno, e que a quantidade está, aparentemente, em função do estágio de desenvolvimento, das condições fisiológicas e das condições de crescimento das plantas. O mesmo autor afirma que nem todas as substâncias liberadas pelas plantas são inibidoras, e podem, ao contrário, ser estimulantes, citando como exemplos os nutrientes minerais, aminoácidos e ácidos orgânicos, carboidratos e reguladores de crescimento.

Observou-se que, mesmo com o passar do tempo, não ocorreu a recuperação do poder germinativo das sementes submetidas às maiores concentrações do extrato aquoso. As sementes foram drasticamente afetadas pelo extrato, observando-se uma rápida degradação dos tecidos, os quais se apresentavam amolecidos.

Rice (1984) cita que existem muitos casos nos quais os mecanismos alelopáticos são conhecidos, mas em muitos deles não se conhecem as toxinas envolvidas.

Não há dúvidas sobre a importância da identificação dos inibidores/promotores, como também das espécies em que foram encontrados. Geralmente, os aleloquímicos que têm sido identificados são os que, como os compostos fenólicos, são facilmente detectados em cromatogramas.

O aumento do uso da cromatografia gasosa em conjunto com a espectrofotometria de massa está tornando possível a identificação de muitos tipos de aleloquímicos. O conhecimento destes compostos é muito importante nos métodos de determinação de vias de liberação, de quantidades presentes no ambiente e de quantidades absorvidas pelos organismos afetados.

## CONCLUSÕES

1. O extrato aquoso de ervilhaca nas concentrações de 50%, 75% e 100% impediu a germinação das sementes de alface, desenvolvendo plântulas defeituosas, causando-lhes a morte com a rápida oxidação e degradação dos tecidos.

2. O peso da matéria seca das plântulas não foi um bom indicativo para avaliar a potencialidade alelopática; ao contrário, o comprimento da raiz primária e o percentual de sementes germinadas foram bons parâmetros para a referida avaliação.

## REFERÊNCIAS

- ALTIERI, M.A., DOLL, J.D. The potential of allelopathy as a tool for weed management in crop fields. *Pans*, v.24, n.4, p.495-502, 1978.
- BOKHARI, U.G. Allelopathy among prairie grasses and its possible ecological significance. *Annals of Botany*, v.42, p.308-313, 1978.
- BONASERA, J., LYNCH, J.; LECK, M.A. Comparison of the allelopathic potential of four march species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, v.106, n.3, p.27-222, 1979.
- PUTNAM, A.R.; DeFRANK, J. Use of Allelopathic Cover Crops to inhibit weeds. In: SYM. INT. CONGR. PLANT PROT, 1981 Mineapolis, Minn. *Proceedings...* Mineapolis, Minn: [s.n.], 1981. p.580-582.
- PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Allelopathy in agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, v.16, p.431-451, 1978.
- RICE, E.L. *Allelopathy*. London: Academic Press Inc., 1984.
- TUKEY JUNIOR, H.B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. *Botanical Review*, v.35, p.1-16, 1969.