



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DA PLANTA DANINHA *Ipomoea grandifolia* NA PRESENÇA DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DA ESPÉCIE GMP29

Letycia Lopes Ricardo¹; Gislaine Cristiane Mantovanelli²; Beatriz Pereira Moreno³; Rubem Silvério de Oliveira Jr.⁴; Emy Luiza Ishii-Iwamoto⁵; Debora Cristina Baldoqui⁶.

¹Doutoranda no Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista BASF
lelrfiorucci@gmail.com

²Doutoranda no Programa de Pós Graduação em Ciência Biológicas, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista Capes
laine_mantovanelli@hotmail.com

³Doutoranda no Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista Capes
pereira.moreno@hotmail.com

⁴Professor, Doutor, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá-UEM
rubem.oliveirajr@gmail.com

⁵Co-orientadora, Doutora, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá-UEM
eliwamoto@uem.br

⁶Orientadora, Doutora, Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá-UEM
dcbaldoqui@uem.br

RESUMO

O uso de espécies forrageiras no campo tem mostrado uma significativa redução de plantas daninhas, levando a um menor gasto com uso de herbicidas e a consequente minimização dos impactos ambientais, além de que a palhada seca sobre o solo melhora as características físicas, químicas e biológicas do mesmo. A presença de invasoras leva a perdas significativas nas culturas de interesse econômico. Estudos revelam que as substâncias (aleloquímicos) liberadas pela cobertura morta, agem estimulando ou inibindo a germinação e o crescimento de espécies invasoras. Dessa forma, a identificação da natureza química dos compostos ativos presentes nessas plantas fornecem subsídios para obtenção de possíveis herbicidas naturais. Todavia, o objetivo deste trabalho consistiu em analisar o efeito da fração acetato de etila da palhada codificada por GMP29 sobre a germinação e crescimento da planta daninha *Ipomoea grandifolia*, popularmente conhecida como corda-de-viola, uma invasora altamente prejudicial às culturas anuais. A espécie GMP29 foi plantada na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, após coletada, seca e triturada foi realizada a partição líquido-líquido no Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais da UEM para obtenção das frações e a avaliação do potencial alelopático foi conduzida no Laboratório de Oxidações Biológicas também da UEM.

PALAVRAS-CHAVE: Herbicida, aleloquímicos, palhada.

1 INTRODUÇÃO

Pesquisas realizadas com espécies forrageiras ou cobertura morta têm mostrado uma significativa redução de populações de plantas daninhas possibilitando assim à cultura de interesse um desenvolvimento sob efeito de menor competição inicial. Os compostos químicos naturais metabolizados por essas plantas chamados de aleloquímicos podem atuar como estimuladores ou inibidores da germinação e do crescimento de algumas espécies (ERASMO, et al., 2004; RIZZARDI, et al., 2004). Tais compostos geralmente são derivados do metabolismo secundário e podem interferir interespecificamente entre plantas, reduzindo o estabelecimento de espécies competidoras. Tokura e Nóbrega (2006) relata uma significativa redução da planta daninha *Brachiaria plantaginea* sobre a cobertura de trigo, aveia preta, milho e nabo forrageiro. Trezzi e Vidal (2004) verificaram num estudo a campo que a palha de milho na proporção de 4 t ha⁻¹ foi efetiva em reduzir em 91, 96 e 59% a população total de *Sida rhombifolia*, *Brachiaria plantaginea* e *Bidens pilosa*, respectivamente. Já as palhadas de *Mucuna aterrima* e *Crotalaria juncea* proporcionaram redução das plantas daninhas *Digitaria insularis*, *Bidens pilosa* e *Commelina erecta* (QUEIROZ, et al., 2010).

As plantas daninhas são de grande importância econômica por prejudicarem diretamente as produções de lavouras, através do aumento do custo de produção e maior investimento em manejo. Devido a sua rusticidade, podem germinar, desenvolver e reproduzir em condições ambientais



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

pouco favoráveis, tais como em estresse hídrico, umidade excessiva, temperaturas inadequadas, fertilidade desfavorável, elevada salinidade, acidez ou alcalinidade (EMBRAPA, 2003).

Outro fator importante a ser considerado é que o uso abusivo de agrotóxicos pode ocasionar a seleção de genótipos resistentes na população de plantas daninhas. A resistência é o marco na mudança da composição genética de uma determinada população em resposta à pressão de seleção, assim, para cada novo agrotóxico desenvolvido pelo homem, as pragas respondem com um rápido processo de evolução seletiva que os torna mais resistente. A resistência a agrotóxicos pode levar ao aumento das doses aplicadas nas plantações, o que por consequência leva a uma maior contaminação dos alimentos, meio ambiente e trabalhadores, trata-se, portanto de um círculo vicioso.

Sendo assim, a busca por novas substâncias que possam ser empregadas como agrotóxicos e que sejam atóxicas, ou de baixa toxicidade, além de apresentar uma alta seletividade às pragas alvo, tem despertado o interesse de pesquisadores e empresas que comercializam este tipo de produtos e se intensificado nos últimos anos, com o intuito de diminuir a utilização de herbicidas sintéticos. O estudo sobre os efeitos alelopáticos entre plantas na agricultura pode ser uma ferramenta muito importante na descoberta de novas substâncias com potencial herbicida. O termo alelopátia significa prejuízos mútuos e expressa o fenômeno natural de uma planta liberando substâncias inibitórias para o crescimento de outras plantas em uma mesma comunidade.

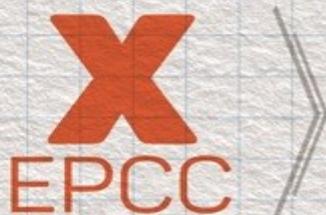
A planta daninha avaliada no projeto foi a *Ipomoea grandifolia*, conhecida popularmente como corda-de-viola, é uma planta apreciada como ornamental, por apresentar flores vistosas e intensamente coloridas, e, pelo fato de crescer sobre obstáculos. É uma planta trepadeira, se emaranha sobre as plantas vizinhas, sendo considerada uma planta invasora altamente prejudicial em culturas anuais de verão nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, pois o seu ciclo é maior do que o das culturas e seus ramos, por serem muito extensos, interferem no momento da colheita (ARALDI et al., 2012).

Diante deste contexto a espécie forrageira denominada GMP29 (devido às cláusulas de um convênio firmado entre a UEM e uma empresa privada os dados são confidenciais e, portanto, neste trabalho, a espécie de cobertura estudada não pôde ser nomeada) foi plantada, tiveram suas partes aéreas coletadas e após seca foram trituradas e então submetidas a uma partição líquido-líquido a fim de se obter as frações com diferentes polaridades, destas, a fração acetato de etila (FAE) foi utilizada em diferentes concentrações na planta daninha *I. grandifolia* e o objetivo deste trabalho foi avaliar a FAE sobre a germinação e parâmetros biométricos do crescimento inicial e do crescimento de plantas em vasos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal da espécie GMP29 foi cultivado em campo aberto na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá (23° 21' 21,9" S e 52° 04' 18,9" O), distrito de Iguatemi, Estado do Paraná, sob orientação do Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. membro do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. A parte aérea da planta foi coletada do 90° ao 100° dias após a semeadura.



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

2.2 PREPARAÇÃO E FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO

O material seco e moído (5,0 kg) das partes aéreas de GMP29 foi submetido à extração com metanol, a frio, por maceração exaustiva. Após remoção do solvente sob vácuo em evaporador rotatório à temperatura de 33-35 °C houve formação do extrato bruto metanólico (205,60 g). O extrato bruto foi dissolvido em metanol-água 1:1(1,0 L) e submetido à partição com 3 x 150 mL de cada um dos solventes orgânicos: hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol. Após remoção dos solventes utilizando um evaporador rotativo, obtiveram-se as frações: hexânica (33,48 g), diclorometano (12,50 g), acetato de etila (FAE) (16,70 g), e as frações butanólica (52,33 g) e hidrometanólica (87,60 g). Essa preparação e fracionamento foram conduzidos no Laboratório de Síntese Orgânica e Produtos Naturais-GSPN da Universidade Estadual de Maringá sob orientação da Profa. Dra. Debora Cristina Baldoqui. Neste trabalho foi utilizada somente a FAE, que se mostrou mais ativa em *screening* realizado com o extrato bruto e as demais frações de GMP29.

2.3 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E CRESCIMENTO INICIAL DE *I. GRANDIFOLIA*

Estes experimentos foram realizados em colaboração com o Laboratório de Oxidações Biológicas do Departamento de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá, coordenado pela Profa. Dra. Emy Luiza Ishii-Iwamoto. Sementes de *I. grandifolia* foram compradas de um fornecedor comercial (Cosmos Agrícola Produtos e Serviços Rurais Ltda, Brasil) e armazenadas em dessecador, na geladeira.

As sementes selecionadas quanto ao tamanho e à forma foram submetidas a superação da dormência por escarificação química em ácido sulfúrico concentrado sob agitação durante 45 minutos, em seguida foram lavadas com água destilada. Para cada tratamento foram feitas cinco repetições, e cada repetição consistiu de 50 sementes distribuídas em caixa de germinação, sobre duas folhas de papel germitest, umedecida com 10 mL de água destilada (controle) ou com FAE nas concentrações de 100, 250, 500 e 1000 µg mL⁻¹. Após a semeadura, as sementes foram levadas para câmara de germinação, com fotoperíodo de 12 h, à temperatura constante de 30 °C.

Foram consideradas germinadas, aquelas sementes que emitiram radícula de 2 mm, ou maior. As raízes e os caules primários foram removidos, seus comprimentos medidos e imediatamente pesados em balança analítica, para obtenção da biomassa fresca. Para determinação da biomassa seca o material foi levado à estufa com temperatura de 80 °C, por 48 horas.

2.4 CRESCIMENTO DE *I. GRANDIFOLIA* EM VASOS

Sementes de *I. grandifolia* foram semeadas em vasos com capacidade de 200 mL contendo perlita como substrato (12g/vaso) e mantidas por 30 dias. Todos os dias as plantas foram irrigadas com 15 mL de solução nutritiva (controle), ou FAE nas concentrações de 250, 500 e 1000 µg mL⁻¹. Cada tratamento constituiu-se de dez plantas arranjadas 2 em cada vaso. Ao término do experimento, uma planta foi utilizada para as medidas de crescimento, número de folhas, biomassa fresca e seca, e área foliar. A solução nutritiva utilizada foi a de Clark (1975), diluída duas vezes, preparada com água deionizada e sais p.a., com a seguinte composição: Ca(NO₃)₂ 1,04 M, NH₄NO₃ 1 M, KNO₃ 0,8 M, KH₂PO₄ 0,069 M, KCl 0,931 M, MgSO₄.7H₂O 0,6 M, H₃BO₃ 19 mM, ZnSO₄.7H₂O 2 mM, CuSO₄.5H₂O 0,5 mM, MnCl₂.4H₂O 7 M, (NH₄)Mo₃O₂.4H₂O 0,26 mM, (Na₂)MoO₄.2H₂O 0,6 mM, Fe-EDTA, pH 6,0. Todos os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação climatizada com fotoperíodo de 12 horas claro / 12 horas escuro, temperatura de 30 °C, umidade relativa de 60% constante e fluxo de fótons de aproximadamente 600 µmol m⁻² s⁻¹.



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

Os resultados significativos entre os valores médios dos tratamentos e o valor do controle estão indicados por meio de asteriscos nos gráficos e foram discutidos abaixo. Esses resultados foram identificados através da análise de variância (ANOVA), realizado pelo software Statistica™, utilizando o teste de Duncan para identificar as diferenças significativas em um nível de 5%. Todos os dados foram comparados e discutidos em relação aos seus respectivos controles.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram avaliados a germinação e os parâmetros biométricos (comprimento radicular, comprimento do caule, biomassa fresca e seca) das plântulas de *I. grandifolia* submetidas ao tratamento com FAE de GMP29 nas concentrações de 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, crescidas por 96 horas. Pela análise do Gráfico 1 a germinação (A) não foi alterada por nenhuma das concentrações. Já o comprimento radicular (B) foi inibido de forma dose-dependente em 19,62%, 27,89%, 28,94% e 37,19% pelas concentrações de 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em relação ao controle, respectivamente. Os caules (C) foram alterados em -23,00%, -20,15%, -18,62% e -28,19%, pelas doses 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, em relação ao controle, respectivamente. As biomassas fresca (D) e seca (E) não foram modificadas por nenhuma das concentrações testadas.

Foram observados efeitos distintos quando *I. grandifolia* foi crescida por 30 dias em vasos e tratadas com as concentrações de 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados mostrados no Gráfico 2 revelam que a FAE exerceu um duplo efeito sobre o crescimento da *I. grandifolia*. Houve um estímulo no crescimento nas concentrações mais baixas, seguida de inibição na concentração mais alta. O comprimento da raiz foi 59,8% maior que o controle na planta tratada com FAE 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. (Gráfico 2-A), o comprimento da parte aérea (Gráfico 2-B) foi estimulado em 232,1% na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O Gráfico 2-C mostra que o número médio de folhas foi aumentado em 30,2% na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e inibido em 53,1% na concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Houve aumento da área foliar nas plantas tratadas com FAE na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 30,2%, em relação ao controle, seguido de inibição pela maior dose testada de 53,1% em relação ao controle, 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de FAE inibiu também 77,2% a área foliar quando comparada ao controle.

A biomassa fresca da raiz, folha e caule apresentou um estímulo de 126,9%, 42,8% e 89,5%, respectivamente na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em relação ao controle (Gráficos 3-A, B, C), já a biomassa seca da raiz e da folha apresentou uma inibição de 97,2% e 59,3% respectivamente na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e um estímulo de 56,4% na concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Gráfico 3-D, E, F).

Este fenômeno de estímulo da resposta biológica em baixas doses, seguido de inibição em doses mais elevadas é relativamente comum em estudos de avaliação de efeitos de aleloquímicos (STEBBING, 1982; SALGUEIRO et al., 2013). Elas podem ser decorrentes de efeitos em diferentes processos fisiológicos os quais são mais ou menos susceptíveis aos compostos, e portanto, dependentes da concentração do composto ativo nos sítios de ação (REIGOSA et al., 1999; GATTI et al., 2004). De qualquer forma, é evidente que nas concentrações mais altas os mecanismos de ação que determinam os efeitos estimulatórios ainda devem persistir, mas os efeitos inibitórios passam a predominar.



X
EPCC

Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

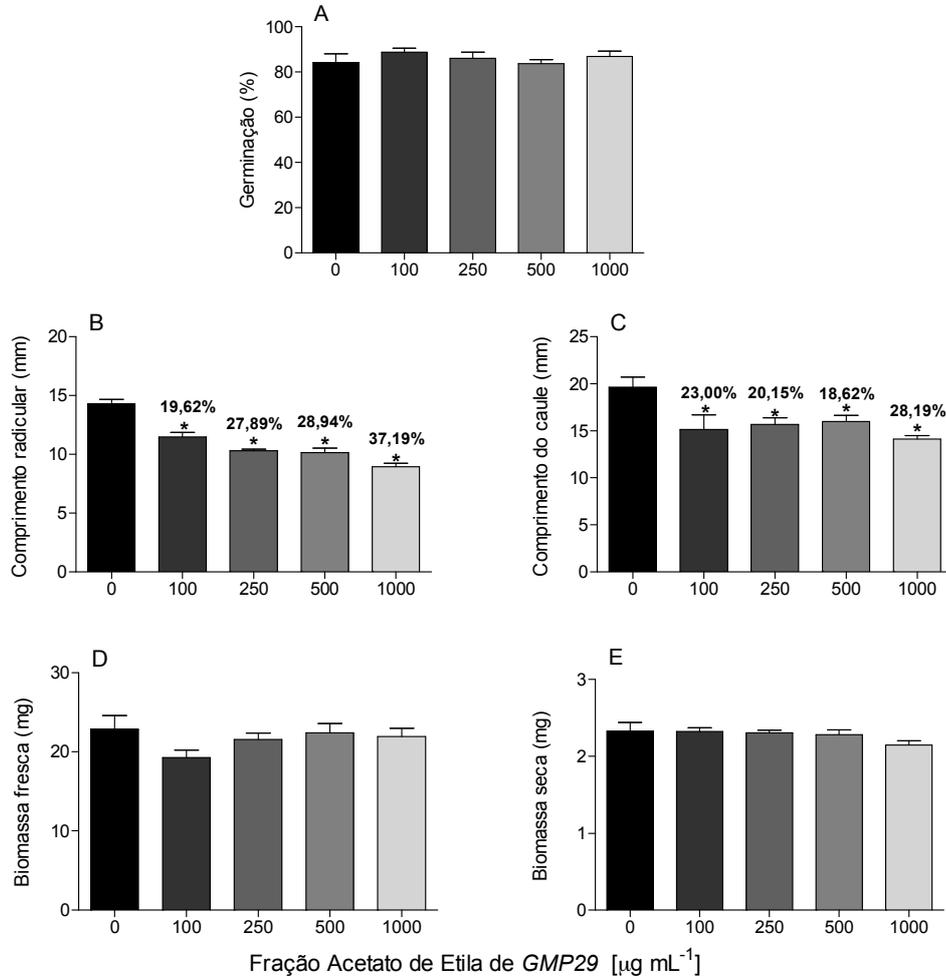
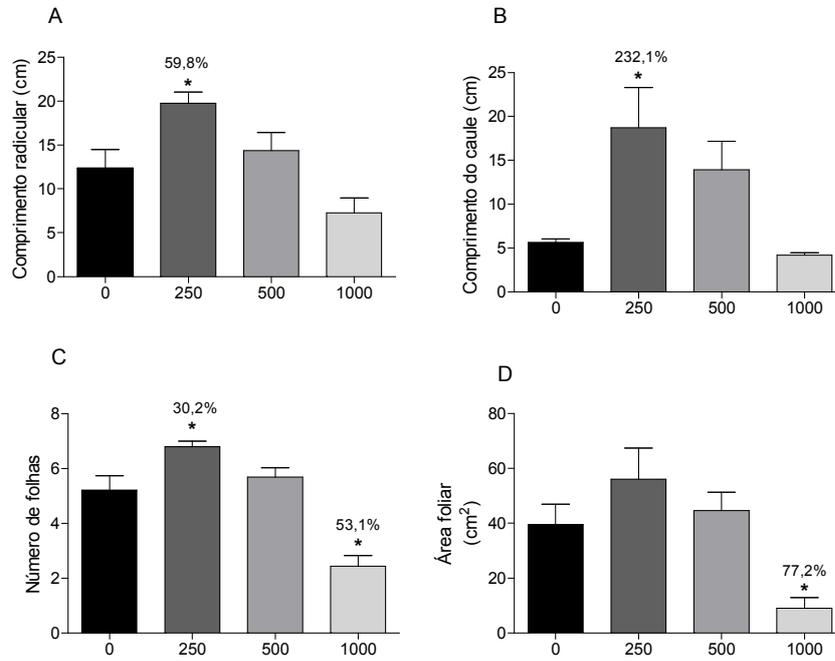


Gráfico 1: Efeitos das diferentes concentrações de FAE sobre (A) germinação, (B) comprimento das raízes primárias, (C) comprimento dos caules primários, (D) biomassa fresca e (E) biomassa seca de *Ipomoea grandifolia* incubadas por 96 h. Os valores são expressos como média \pm EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com ANOVA e teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa



Concentrações da fração acetato de etila ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

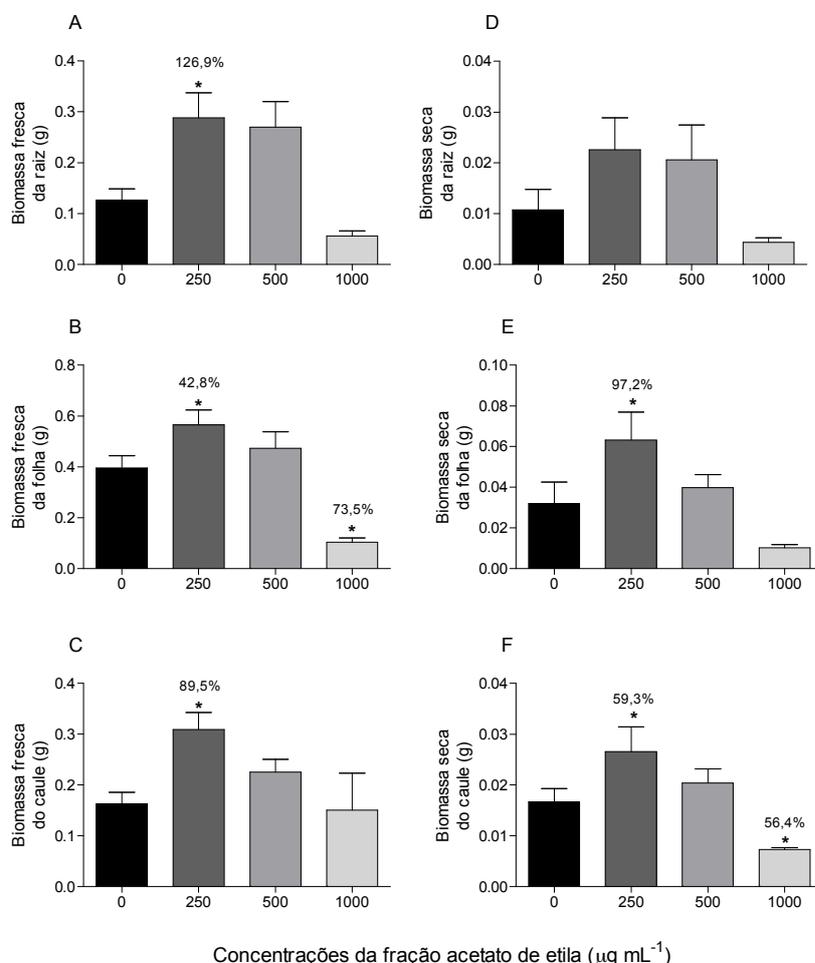
Gráfico 2: Efeitos das diferentes concentrações de FAE sobre (A) comprimento radicular, (B) comprimento do caule, (C) número de folhas e (D) área foliar, de *Ipomoea grandifolia* incubadas por 30 dias. Os valores são expressos como média \pm EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com ANOVA e teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa



X
EPCC

Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017



Concentrações da fração acetato de etila ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

Gráfico 3: Efeitos das diferentes concentrações de FAE sobre (A) biomassa fresca da raiz, (B) biomassa seca da raiz, (C) biomassa fresca das folhas (D) biomassa seca das folhas, (E) biomassa fresca do caule e (F) biomassa seca do caule de *Ipomoea grandifolia* incubadas por 30 dias. Os valores são expressos como média \pm EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com ANOVA e teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa

4 CONCLUSÃO

O presente estudo revelou que a FAE da palhada de GMP29 inibe os parâmetros de crescimento inicial de *I. grandifolia*, mas não a germinação. Efeitos distintos foram observados em plantas crescidas por 30 dias, onde as doses mais baixas estimularam os parâmetros biométricos enquanto doses mais altas inibiram. Portanto, FAE contém compostos com propriedades similares aos reguladores de crescimento conhecidos, os quais em baixas doses estimulam o desenvolvimento da planta e, em altas doses, exercem efeitos fitotóxicos. Assim, esses compostos podem ser responsáveis, ao menos em parte, pelo efeito herbicida da palhada de GMP29 sobre plantas daninhas observadas em estudos no campo. A identificação da natureza química desses compostos ativos pode revelar novos compostos com potencial de aplicação como estimulador de crescimento e/ou herbicida na agricultura.

REFERÊNCIAS



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

ARALDI, R.; GIROTTO, M.; VELINI, E.D.; GOMES, G. L. G. C.; JASPER, S.P.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. Eficiência fotossintética e consumo de água de *Ipomoea triloba* após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 517-524, 2012.

CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **J. Agric. Food Chem.**, v. 23, p.458-460, 1975.

EMBRAPA. Cultura de algodão no cerrado: Recomendações técnicas para o uso de herbicidas no controle de plantas daninhas na cultura do algodoeiro no cerrado, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoCerrado/plantasdaninhas.html>> Acesso em: 12/03/2013.

ERASMO, E. A. L.; AZEVEDO, W. R.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, A. M.; GARCIA, S. L. R. Potencial de espécies utilizadas como adubo verde no manejo integrado de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 22, p. 337–342, 2004.

GATTI, A. B., PEREZ, S. C. J. DE A. e LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochiaesperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanussativus* L. **Acta bot. bras.**, v.18, p.459-472, 2004.

QUEIROZ, L. R.; GALVÃO, J. C. C.; CRUZ, J. C.; OLIVEIRA, M. F.; TARDIN, F. D. Supressão de plantas daninhas e produção de milho- verde orgânico em Sistema de plantio direto. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 263-270, 2010.

REIGOSA, M. J., SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. e GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Crc. Cr. Rev. Plant Sci.**, v.18, p.577-608, 1999.

RIZZARDI, M. A.; ROMAN, E. S.; BOROWSKI, D. Z.; MARCON, R. Interferência de populações de *Euphorbia heterophyllae* *Ipomoea ramosissima* isoladas ou em misturas sobre a cultura de soja. **Planta Daninha**, v. 22, p. 29–34, 2004.

SALGUEIRO, P. DE C., COSTA, M. F. DA, MASSOCATTO, A. M., JUNIOR, A. L., FREI, F., KOLB, R. M. e SANTOS, C. DOS. Avaliação do potencial citotóxico, moluscicida e alelopático dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Stryphnodendronobovatum*Benth. **R. bras.Bioci.**, v.11, p.197-202, 2013.

STEBBING, A. R. D. Hermesis – The stimulation of growth by low levels of inhibitors, v. 22, p.213-234, 1982

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. H. P.; Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Sci. Agron.**, v. 28, n. 3, p. 379-384, 2006.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Potencial de utilização de cobertura vegetal de sorgo e milho na supressão de plantas daninhas em condições de campo: II – Efeitos da cobertura morta. **Planta Daninha**, v. 22, n. 1, p. 1–10, 2004.