

Taxa de peroxidase de parede em braquiária tratadas com extrato alcoólico de assa-peixe

Fábio José Baida¹ e Robson Michael Delai²

¹Faculdade Assis Gurgacz – FAG, Curso de Ciências Biológicas - Bacharelado, Rua Humberto de Campos n. 276, CEP: 85.807-470, Bairro Coqueiral, Cascavel, PR.

² - Biólogo, Mestre, Prof. do curso de Ciências Biológicas – Bacharelado, FAG, Cascavel, PR, Brasil.

fjbaida@yahoo.com.br, robson@fag.edu.br

Resumo. Alelopatia trata-se do efeito de metabólitos secundário liberados pelas plantas sobre o crescimento e desenvolvimento de outras plantas, liberados principalmente das folhas, raízes ou pela decomposição dos restos orgânicos das plantas. Avaliando-se o efeito alelopático das folhas da *Vernonia polyanthes* (assa-peixe) no desenvolvimento de plantas de *Brachiaria brizantha* Marandu (Braquiária), avaliando peroxidase. O desenvolvimento foi iniciado na casa de vegetação onde foram semeadas sementes de braquiária em uma caixa de madeira com lotossolo da região de Cascavel – PR, após as plantas atingirem 10 a 15 cm de altura elas foram transplantadas em copos plásticos de 300 cm³, que tiveram o tratamento iniciado com o extrato de asa-peixe, após cinco dias de tratamento foram coletadas e analisadas. Os resultados indicaram efeito alelopático, visuais e bioquímicos, esses efeitos são bons para a agricultura no controle de pragas e ervas – daninhas. Houve diminuição da taxa de crescimento das plantas em qualquer tratamento aplicado, observou-se que a produção de peroxidase foi ativada em concentrações baixas e acima de 150 g dm⁻³ houve redução drástica da produção de peroxidase chegando a ocorrer à necrose aguda das plantas. Conforme o resultado analisado observou que o extrato apresenta um grande potencial alelopático.

Palavras-chaves: Alelopatia; aleloquímicos; *Vernonia polyanthes*; *Brachiaria brizantha*.

Tax of peroxidase of wall in braquiária dealt with alcoholic extract to assa-peixe

Abstract. Allelopathy is the effect of secondary metabolites released by plants on growth and development of other plants, released mainly from the leaves, roots or by the decomposition of organic remains of plants. It assessed the allelopathic effect of the leaves of *Vernonia polyanthes* (assa-fish) in the development of plants of *Brachiaria brizantha* Marandu (Braquiária) assessing peroxidase. The development of the experiment was started in a greenhouse where they were sown seeds of brachiaria in a box of wood with lotossolo the region of Cascavel - PR, after the plants reach 10 to 15 cm in height they were transplanted into plastic cups of 300 cm³, Who had started treatment with the extract of assa-fish, after five days of treatment were collected and analyzed. The results indicated strong allelopathic effect, visual and biochemical, these effects are good for agriculture in the control of pests and weeds - weed and also for the human being in control of insects. There was a decrease in the rate of growth of plants in any process, it was observed that the production of peroxidase was activated in low concentrations and over 150 g dm⁻³ was the reduction in production of peroxidase reaching acute necrosis to occur in plants. As the result analysis noted that the extract has great potential allelopathic.

Key-words: Allelopathy; allelochemicals; *Vernonia polyanthes*; *Brachiaria brizantha*.

Introdução

O termo alelopatia foi criado em 1937, pelo pesquisador alemão Hans Molisch, com a reunião das palavras gregas "allélon" e "pathos", que significam respectivamente, mútuo e prejuízo. Segundo Molisch, alelopatia é a capacidade que as plantas, superiores ou inferiores, produzem substâncias químicas que, liberadas no ambiente de outras plantas, que influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento. O conceito engloba atualmente o reino animal, com o reconhecimento de que a alelopatia se processa entre eles e entre as plantas (Ferreira e Áquila, 2000).

As interferências alelopáticas raramente são provocadas por uma única substância, a forma de atuação dos compostos alelopáticos também não é específica, as funções prejudicadas com maior frequência são a assimilação de nutrientes, o crescimento, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteínas, a permeabilidade da membrana celular e a atividade enzimática (Sampietro, 2001 citado por Alves *et al.*, 2004; Maraschin-Silva, 2004).

Presentes em todos os seres vivos, as substâncias alelopáticas são encontradas em maior quantidade e diversidade nas plantas, distribuem-se por todos os seus órgãos de maneira não-uniforme, mas geralmente a concentração é maior na epiderme das folhas e nas raízes, entre outros lugares como caules aéreos, flores, frutos, sementes com menos concentração, podendo ser liberados a partir das folhas e raízes em processo de decomposição dos restos vegetais, ou por extratos aquoso ou hidroalcoólico (Rodrigues *et al.*, 1993 citado por Rezende *et al.*, 2003; Weston, 1996 citado por Rezende *et al.*, 2003; Sampietro, 2001 citado por Alves *et al.*, 2004; Maraschin-Silva, 2004).

A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário sendo atribuída a estas a função de defesa e/ou proteção, pois durante o processo de evolução destas plantas estas substâncias representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento das plantas (Souza Filho *et al.*, 2003; Almeida, 1991).

Na natureza, a alelopatia confunde-se com outras interferências existentes entre as plantas, como a competição e, por isso, alguns autores colocam sua existência em dúvida. Os dois conceitos, porém, são bastante distintos: enquanto a competição se dá pela retirada ou redução de fatores do meio ambiente, como água, nutrientes e luz, a alelopatia se caracteriza pela introdução de novos fatores como os compostos químicos no ambiente (Ferreira e Áquila, 2000).

A função principal das substâncias alelopáticas é a proteção dos organismos que as produzem, a condição natural dos seres vivos é a de serem saudáveis, os que é propiciado, em

grande parte, pela presença de produtos secundários que os defendem dos inimigos, a identificação dessas substâncias, em diversas culturas, auxilia os especialistas em melhoramento genético na criação de genótipos mais resistentes a bactérias, fungos e insetos (Almeida, 1991; Soares, 2000).

O emprego prático da alelopatia pode levar ao controle das espécies prejudiciais, sejam elas fungos, insetos ou ervas. A ação das substâncias químicas é essencialmente inibidora, reduzindo populações ou afetando o desenvolvimento e o vigor dos organismos atingidos (Souza Filho *et al.*, 2003; Almeida, 1991).

Os efeitos também podem ser variados quando se considera em qual órgão da planta eles estão atuando. Os aleloquímicos podem agir de diferentes maneiras dependendo das condições do ambiente e do estágio do ciclo vital em que a planta alvo se encontra os compostos alelopáticos liberados por uma planta poderão afetar o crescimento, prejudicar o desenvolvimento normal e até mesmo inibir a germinação das sementes de outras espécies vegetais (Áquila, *et al.*, 1999 citado por Maraschim-Silva *et al.*, 2005).

Normalmente, as plantas sob estresse biótico, como a competição, por exemplo, produzem os aleloquímicos para se defender. Contudo, há a hipótese de que mesmo antes de sentir o efeito do estresse, as plantas já se preparam para se defender. As plantas apresentam fitocromos, que são sensores de luz capazes de influenciar no metabolismo, é como se a planta fosse alertada fisicamente que algo diferente está acontecendo no ambiente, a partir do espectro luminoso (tipo de luz) a que ela está sendo exposta, isso desencadeia reações diferentes no seu organismo (Soares e Vieira, 2000).

A ação alelopática se dá através dos efeitos das substâncias aleloquímicas aliados às condições ambientais, que pode ser um fator determinante do sucesso ou insucesso no cultivo de plantas. A resistência ou tolerância a esses metabólitos secundários é uma característica espécie-específica, ou seja, cada planta, tanto viva quanto em decomposição exerce inibição apenas sobre determinadas espécies de plantas invasoras ou plantas cultivadas (Lorenzi, 1984 citado por Teixeira, 2004; Ferreira e Áquila, 2004).

Sendo assim, através deste mecanismo de autodefesa, os aleloquímicos passaram a ser estudados a fim de serem aplicados no melhoramento de plantas cultivadas sendo utilizados na formulação de bioherbicidas, ou então, ser modificado com vista a aumentar sua atividade biológica, ou ainda, utilizado como inseticidas aromatizantes e drogas de uso medicinal. Essa característica foi desenvolvida pelas plantas através de adaptações conseqüentes de seleção natural, mutações herdadas e principalmente da evolução, onde estas desenvolveram substâncias químicas de forma a minimizar ou eliminar ataques de bactérias, vírus, fungos,

insetos, nematóides, ácaros bem como animais herbívoros (Raven *et al.*, 2001; Souza Filho *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho é identificar os efeitos alelopáticos de extrato hidroalcoólico de assa-peixe, sobre o controle da braquiária, verificando as possíveis alterações no seu organismo.

Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos no laboratório de Botânica para análise de peroxidase, no CEDETEC- Centro de Desenvolvimento Tecnológico- da FAG Campus da Faculdade Assis Gurgacz (FAG), Cascavel – Paraná.

Adquiriu-se as sementes de braquiária, comercialmente. Semeou-se em caixa de madeira, modelo canteiro, de 1 m² com latossolo vermelho da região de Cascavel – PR, sem adubo, sendo regadas diariamente com água até atingirem aproximadamente de 10 cm a 15 cm de comprimento num período de 20 a 30 dias, as mesmas permaneceram sob temperatura, humidade e iluminação ambiente.

Transplantou-se 03 mudas para cada copo plástico de 300 cm³ cada um com o mesmo latossolo da região. Perfurou-se o fundo dos copos para drenagem de água.

Dividiu-se as plantas em 5 grupos distintos cada grupo com 40 copos, e um total de 600 plantas, individualizando 120 plantas para cada grupo. Os grupos foram estipulados conforme o nível de concentração do extrato, sendo o primeiro grupo controle, sem extrato o segundo grupo utilizando o extrato de 50 g dm⁻³, o terceiro grupo utilizando o extrato de 100 g dm⁻³, o quarto grupo utilizando o extrato de 150 g dm⁻³ e o quinto grupo utilizando o extrato de 200 g dm⁻³.

Produziu-se o extrato a partir de folhas da *Vernonia polyanthes* Less. Promoveu-se a desinfecção através de lavagem e posteriormente selecionou-se as folhas para serem trituradas no liquidificador, conforme as concentrações de 50 g dm⁻³ que foram utilizadas 200 g para 4.000 cm³ de solução hidroalcoólica, 100 g dm⁻³ que foram utilizadas 400 g para 4.000 cm³ de solução hidroalcoólica, 150 g dm⁻³ que foram utilizadas 600 g para 4.000 cm³ de solução hidroalcoólica, 200 g dm⁻³ que foram utilizadas 800 g para 4.000 cm³ de solução hidroalcoólica, em cada 1.000 cm³ de água destilada ¼ é de álcool a 92,80 g dm⁻³.

Adaptou-se as plantas transplantadas durante sete dias para posterior inserção dos extratos. Após este período de adaptação, onde a rega utilizada foi apenas água, ocorreu a aplicação diária 10 cm³ de extrato em cada copo com suas devidas concentrações, durante 5 dias.

Para análise de peroxidases de parede, acondicionou-se as plantas em sacos plásticos com isolamento. Para cada um dos tratamentos foram separadas as 120 plantas, somando um total de 120 repetições analisadas para cada tratamento.

A análise de peroxidase foi desenvolvida no seguinte método, primeiro foram preparados 500 cm³ de solução a 20 g dm⁻³, que continha água destilada, água oxigenada e guaiacol 10 g dm⁻³, depois da solução pronta foram mergulhadas as raízes das amostras de braquiária em 5 cm³ de solução a 20 g dm⁻³ por 60 s, assim que o tempo terminou, foram retiradas as amostras, em seguida foi retirada 2 cm³ da solução onde estavam alojadas as raízes e colocadas nas cubetas do espectrofotômetro para serem analisadas no comprimento de onda de 420nm.

Essas amostras foram numeradas e alojadas em pacotes de papel. Armazenou-se em estufa para secagem, após um período de quarenta e oito horas, numa temperatura permanente de 40 °C, executou-se a pesagem das mesmas para obter a massa seca das plantas. Utilizou-se este peso para estimar a atividade de peroxidases de parede por massa de peso seco.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SPSS (SPSS 10.1 Windows Student Version By: ISBN: 0072492163 Format: DB. 10 ed., 2001). A comparação entre as médias dos tratamentos foi realizada com a aplicação do teste “ANOVA”, e Duncan em nível de 0,5 de probabilidade.

Resultados e Discussão

Houve efeitos dos tratamentos do extrato das folhas de assa-peixe obtidos para a análise do presente estudo de alelopatia e foram verificados que ocorreram alterações a nível tecidual no desenvolvimento das plantas de braquiária quando submetido à comparação com o controle.

Verifica-se um aumento na atividade de peroxidase de apoplasto de parede em plantas dos diferentes tratamentos quando comparada ao controle. Essa atividade acentua com o aumento da concentração de extrato, sendo 150 g dm⁻³ o limite. Observa-se necrose aguda em plantas expostas ao extrato de 200 g dm⁻³ o que pode provocar a queda de atividade enzimática de peroxidase de apoplasto de parede nesta concentração, como mostra a Figura 1. Segundo Taiz e Zeiger (2004) as oxidases, tal como a peroxidase, podem catalisar ligações cruzadas entre grupos fenólicos (tirosina, fenilalanina, ácido ferúlico) em proteínas de parede, pectinas e outros polímeros de parede. Tal acoplamento fenólico é importante para a formação de ligações cruzadas de lignina e pode igualmente unir componentes diferentes da parede.

Pode existir uma relação entre peroxidase e o sistema de defesa neste caso, pois o controle apresenta mesma significância que os valores mais elevados do extrato de assa-peixe, alelopatia pode ser defendida com peroxidase?

Das análises que foram estudadas, observa-se que as porcentagens de 50 g dm⁻³ e a de 100 g dm⁻³ sejam pontos culminantes na resposta da peroxidase em relação ao extrato do assa-peixe, pois a diferença relacionando ao controle é significativa, estabelecendo-se o desativamento da peroxidase de apoplasto de parede nas próximas concentrações de 150 g dm⁻³ e a de 200 g dm⁻³, neste caso percebe-se que os tratamentos mais elevados estão praticamente ao mesmo nível do controle, assim não tendo ativado a peroxidase.

O mecanismo de peroxidase de apoplasto de parede pode estar sendo ativado somente em baixas concentrações do extrato onde possivelmente esteja envolvido no processo de defesa contra o efeito alelopático do assa-peixe, sendo assim a atividade da peroxidase de apoplasto de parede é afetada em concentrações baixas ou até inibida pelo extrato do assa-peixe.

Os efeitos claramente visíveis causados pelos aleloquímicos são alguns reflexos secundários de alterações que ocorreram a nível molecular (Rizvi, *et al.*, 1992 citado por Maraschin-Silva *et al.*, 2005) sendo alguns desses efeitos o bronzeamento da planta, diminuição da folha, diminuição da raiz e alguns casos de necrose da planta.

Na Figura 1 pode-se observar que a produção da peroxidase de apoplasto de parede foi afetada, sendo que a produção do extrato de 50 g dm⁻³ e 100 g dm⁻³ difere do controle, e a concentração de 150 g dm⁻³ é igual quando comparado ao controle, a concentração de 200 g dm⁻³ é igual ao controle e a concentração de 150 g dm⁻³. Observa-se que nos dois primeiros tratamentos a ação da peroxidase de apoplasto de parede foi parcialmente igual tendo em vista uma pequena produção da peroxidase de apoplasto de parede, nos próximos tratamentos sendo as duas maiores concentrações analisamos que o extrato inibe o mecanismo de defesa pelas substâncias alelopáticas presentes no assa-peixe.

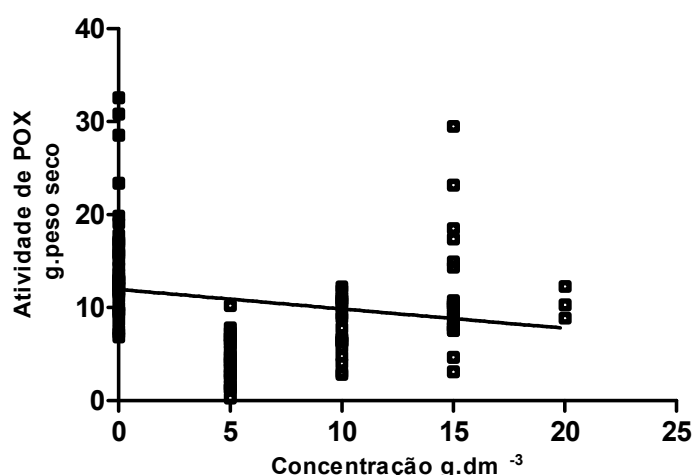


Figura 1 - Atividade de peroxidase de parede de raiz de plantas de Braquiária expostas 4 extratos de assa-peixe. A estimativa da atividade foi expressa por grama de peso seco de raiz.

As enzimas peroxidases de apoplasto de parede encontram-se amplamente distribuídas nos vegetais, exercendo várias funções importantes em seu crescimento e no processo de diferenciação e desenvolvimento celular, ou seja, ela está diretamente envolvida com o crescimento, mecanismo de defesa e alongamentos de tecidos (Aquad *et al.*, 1998 citado por Menezes *et al.*, 2004). Verifica-se na Figura 2 que a taxa de crescimento relativo é afetada, colaborando com a referência em questão.

O crescimento relativo nos tratamentos apresentado na Figura 2 também sofreram interferência alelopática com o tratamento do extrato do assa-peixe independentemente da porcentagem testada, todas as porcentagem de algum modo interferiram no crescimento das plantas da braquiária em relação às plantas controle, que foram possivelmente vista enquanto eram regadas com os extratos.

O mecanismo de defesa da peroxidase de apoplasto de parede da raiz da planta da braquiária, não serve de proteção contra extratos alelopáticos de assa-peixe, pois em todos os tratamentos houve a diminuição do comprimento da planta, espessura e volume da raiz.

Outros mecanismos internos das plantas da braquiária podem estar sendo ativados quando submetido ao tratamento com o extrato de assa-peixe, como a catalase que é formalmente denominada hidropoxidase que é uma enzima intracelular, encontrada na maioria dos organismos, que decompõe o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que pode ser diretamente tóxico ao patógeno e está envolvida com o fortalecimento da parede celular, esta enzima encontram-se nos peroxissomos em animais e plantas, também nos glioxissomas contido somente em plantas, portanto a catalase é uma peroxidase. E possivelmente a SOD –

superóxido dismutase, que catalisa o superóxido em peróxido de hidrogénio e oxigênio. Como tal é uma importante defesa antioxidante em quase todas as células expostas ao oxigênio.

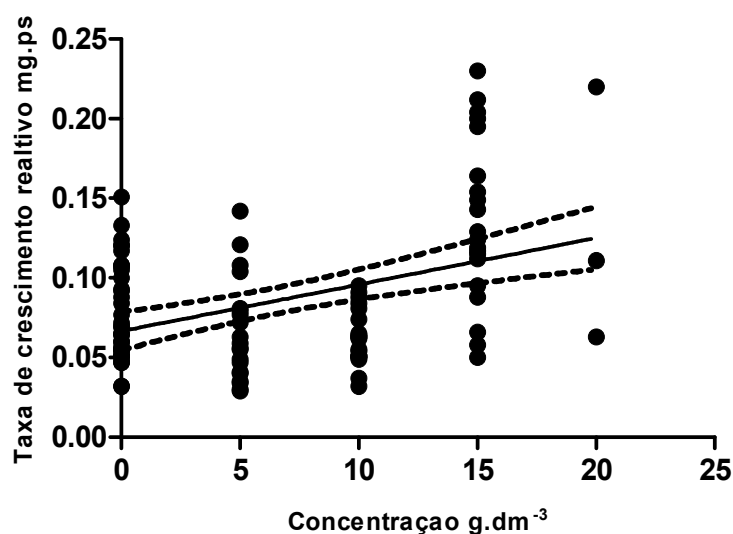


Figura 2 - Crescimento relativo das plantas de braquiária expostas a 4 diferentes extratos de assa-peixe.

O presente trabalho está em relação com o estudo realizado por Souza Filho *et al.*, (1996) conduzido em gerbox e em câmara BOD utilizando extratos da planta assa-peixe sobre três espécies de gramíneas especialmente em braquiária em que ocorreu fortes evidências de ativação de substâncias alelopáticas tanto na porcentagem de germinação quanto alongamento da raiz, ativando a peroxidase mas não inibindo o efeito do extrato de assa-peixe.

Segundo Delai *et al.*, (2008), o potencial alelopático de assa-peixe não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com folhas e raízes. Os efeitos causados pelas substâncias alelopáticas provocaram alterações nas atividades enzimáticas, no teor de clorofilas e no crescimento relativo, ocasionando assim diminuição da fotossíntese e afetando o crescimento da planta, sendo que para o controle a taxa de crescimento é maior do que os dois primeiros tratamentos. Na Figura 2, nos dois últimos tratamentos é visualizado uma diminuição da clorofila e uma alteração no crescimento, por isso não foram feitos extratos com as raízes.

Conclusão

Conforme os resultados obtidos neste projeto, conclui-se que o extrato hidroalcoólico de assa-peixe, os quais foram adicionados nos vasos das plantas da braquiária devidamente separados pelas concentrações dos extratos apresentaram um grande potencial alelopático.

A presença dos efeitos alelopáticos foi observada pela redução da atividade de peroxidase na raiz, e visualmente também foi observados uma redução do tamanho das folhas, comprimento total da planta, o volume e comprimento da raiz foram diminuídos quando comparados com o controle.

Agradecimentos

Agradeço a minha família, ao professor orientador e amigo Robson M. Delai, as alunas que ajudaram na montagem dos resultados das análises do projeto, Lucielle Fontana Mostardeiro e Silvana Dos Anjos do 5º período do curso Ciências Biológicas Bacharel, da Faculdade Assis Gurgacz – FAG, aos laboratoristas do laboratório de botânica Clair Aparecida Viecelli e Everton Verona por terem me auxiliado no desenvolvimento do meu projeto e há todos muito obrigados por terem me incentivando ao termino do mesmo.

Referências

- ALMEIDA, F. S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 2, fev. 1991b.
- 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**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, nov. 2004.
- DELAÍ, R. M.; FACHIM, E.; ARMANI, T. E. Efeitos Alelopáticos de Assa-Peixe (*Vernonia Polyanthes* Less.) sobre Braquiaria (*Brachiaria Brizantha* Marandu). **Biology & Health Journal** - Revista de Biologia e Saude da UNISEP, Dois Vizinhos – PR, v. 2, p. 102-109, 2008.
- FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. 12 ed. especial, 2000.
- FERREIRA, A. G. B.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: artmed, 2004.
- MARASCHIN-SILVA, F. **Extração aquosa de aleloquímicos e bioensaios laboratoriais de alelopatia**. Dissertação – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2004.
- MARASCHIN-SILVA, F. **Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq.** Departamento de Botânica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2005.

MENEZES, S. M.; TILLMANN, M. A. A.; DODE, L. B.; VILLELA, F. A. Detecção de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato por métodos baseados na atividade de enzimas. **Revista Brasileira de Sementes**. Pelotas, v. 26. n. 2, p. 150-155, 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REZENDE, C. de P.; PINTO, J. C.; EVANGELISTA, A. R.; SANTOS, I. P. A. **Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens**. Tese – Universidade Federal de Lavras: Minas Gerais, 2003.

SOARES, G. L. G.; SCALON, V. R.; PEREIRA, T. DE O.; VIEIRA, D. DE A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v.9, n.1, p.119-125, 2002.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C. Efeitos alelopáticos do Calopogônio em função da sua idade e da densidade de sementes da planta receptora. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 211-218, 2003.

SOUZA FILHO, A. P. S.; BORGES, F. C.; SANTOS, L.S. Análise comparativa dos efeitos alelopáticos das substâncias químicas tironina e tironina acetilada. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 205-210, abr/jun, 2006.

SOUZA FILHO, A. P. S.; RODRIGUES, L. R. de A.; RODRIGUES, T. J. D. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v.14, n. 2, p. 93-101, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed., Porto Alegre-RS: Artmed, 2004.

TEIXEIRA, C. M.; ARAÚJO, J. B. S.; CARVALHO, G. J. Potencial alelopático de plantas na cobertura no controle de Picão Preto (*Bidens pilosa* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Larvas, v. 28, n. 3, p. 691-695, maio/jun, 2004.

Recebido em: 30/03/2010

Aceito para publicação em: 03/06/2010