

ESTUDOS MORFOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLÂNTULAS DE *Bidens pilosa* L. SOBRE EFEITO DE EXTRATO AQUOSO DE *Uroclhoa ruzizensis*

Patrícia Aparecida Galletti (PIC/Uem), Andreia Cristina Peres Rodrigues da Costa, Érica Marusa Pergo Coelho (Orientadora), e-mail: profericapergo@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias,
Departamento de Ciências Agronômicas (DCA)/Umuarama, PR.

Área de Ciências Agrárias e subárea de Agronomia.

Palavras-chave: picão-preto, braquiária, alelopatia

Resumo:

O objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos alelopáticos de extrato aquoso de braquiária, sobre a planta daninha picão (*Bidens pilosa*). As sementes foram colocadas para germinar nas concentrações 0, 250, 500 e 900 ppm de extrato aquoso de braquiária, analisando-se, após 4 dias o número de sementes germinadas, desenvolvimento da planta, enzimas antioxidantes e a respiração de ápices radiculares, sendo os resultados submetidos à análise de variância pelo teste F. Foi analisado também as estruturas celulares por meio da microscopia eletrônica de transmissão nas concentrações 0 e 500 ppm. A aplicação do extrato reduziu a germinação de sementes de picão e a respiração da raiz, aumentou a catalase e a peroxidase mais expressivamente na concentração de 500 ppm. Alterações morfológicas também foram encontradas na raiz como o aumento de mitocôndrias na concentração de 500 ppm. O extrato provocou, de fato, um stress oxidativo para essa planta, podendo ser usado no controle da mesma.

Introdução

O picão preto (*Bidens pilosa*) é uma planta daninha anual, de ampla distribuição por todo o Brasil, importante para as culturas competindo por água, nutrientes, de grande produção de sementes e que possui relatos de resistência à herbicida, constituindo um empecilho ao seu controle. A manutenção das palhas em plantio direto permite a cobertura do solo e seu sombreamento, dificultando a germinação das plantas daninhas. Com a sua decomposição e por efeito das chuvas, ocorre a liberação de substâncias alelopáticas que afetam a germinação e o crescimento de espécies daninhas (Voll et al., 2004). A braquiária (*Uroclhoa ruzizensis*) é uma forrageira utilizada solteira ou em consórcio, com a finalidade de alimentar animais e fornecer matéria orgânica para o solo, que possui efeito sobre as plantas

daninhas. O potencial alelopático dos cultivos de cobertura vegetal depende do tipo de resíduo vegetal que permanece sobre o solo e das plantas daninhas que nele se desenvolvem. Existe portanto, devido ao efeito sobre o desenvolvimento da outra planta, a possibilidade da utilização de compostos alelopáticos como bio-herbicidas, sendo uma estratégia para o manejo integrado e sustentável de plantas daninhas. O objetivo do presente trabalho foi investigar, os efeitos alelopáticos do extrato aquoso de braquiária sobre a planta daninha picão-preto, analisando a germinação, desenvolvimento, enzimas antioxidantes, respiração e alterações celulares, por meio da microscopia eletrônica de transmissão.

Materiais e métodos

Extrato Aquoso estudado

O extrato aquoso estudado foi o de braquiária (*Urochloa ruziziensis*) que foi obtido em parceria com o laboratório de Química e Bioquímica da UEM – sede. As doses do extrato foram 0, 250, 500, e 900 ppm.

Determinação da germinação e do crescimento das plântulas

Foram utilizadas sementes de picão-preto que foram selecionadas e submetidas à esterilização em solução de hipoclorito de sódio 1%. Após, foram lavadas em água destilada e dispostas em caixa gerbox e umedecidas com água bidestilada (controle) ou na presença do extrato aquoso de braquiária nas concentrações de 250, 500, e 900 ppm. As sementes foram levadas para BOD, com fotoperíodo de 12/12 horas luz/escuro e temperatura constante de 30°C. Após quatro dias de embebição, as sementes germinadas de picão foram contadas e avaliadas o crescimento das plântulas resultantes, por meio do comprimento das raízes primárias e hipocótilos. A cada período experimental, as raízes primárias e hipocótilos foram removidos e imediatamente pesados, em balança analítica, para obtenção do peso de matéria fresca. Depois foram mantidas à temperatura de 80°C por 24 horas. Após atingir o peso constante foram pesados para determinação do peso de matéria seca.

Respiração de ápices radiculares e Atividade da Enzimas Antioxidantes

Após quatro dias de germinação, o consumo de oxigênio de ápices radiculares de picão controle e na presença do extrato aquoso de braquiária foram medidos à 25 °C, usando um eletrodo de oxigênio tipo Clark, inserido na câmara de acrílico e conectado a um polarógrafo, segundo Bracht and Iwamoto, 2003. Também, amostras de 0,2 grama de ápices radiculares de picão controle e na presença do extrato aquoso de braquiária foram retiradas e homogeneizadas em almofariz (4°C) com 2,0 ml de meio de extração. O homogeneizado foi centrifugado e o sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático. O extrato foi colocado no meio de reação e a atividade da POD e CAT foi medida no espectrofotômetro.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Para a dose de aleloquímico que apresentou maior efeito e para o controle, procedeu-se a análise morfológica das células através da microscopia eletrônica. A estrutura analisada foi a raiz primária. Lavou-se

uma amostra de raiz de plântulas obtidas na germinação 4 dias após embebição, com tampão fosfato salina pH 7,2 (0,01 M). Em seguida, procedeu-se a fixação primária com glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio (0,1 M). As raízes fixadas e lavadas foram pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M. Depois a desidratação com acetona gradativamente, e procedeu-se a infiltração da resina EPON e a polimerização das amostras, que foram cortadas em cortes ultrafinos (60nm) através do micrótomo. Após, procedeu-se a contrastação e as amostras foram analisadas em MET.

Análise estatística

Delineamento experimental inteiramente casualizados (DIC), sendo 5 doses de extrato aquoso, com cinco repetições, para cada extrato aquoso testado. Os resultados referentes as avaliações foram submetidas à análise de variância – ANOVA pelo teste 'F' ($P \leq 0,05$), e quando significativo as médias foram submetidas ao teste de Duncan, analisados no programa PRISMA.

Resultados e Discussão

A germinação das sementes de picão-preto diminuiu 42% com a aplicação de extrato de braquiária, na concentração de 500 ppm. Isso mostra que o extrato gerou efeito negativo sobre a germinação dessa planta daninha, o que é um aspecto positivo, já que o objetivo é proporcionar o controle da planta daninha em questão. O peso de matéria seca da raiz do picão diminuiu em todas as concentrações testadas, mostrando que apesar do crescimento em tamanho ser maior isso não significou que a raiz estava em boas condições de desenvolvimento. Dessa forma, pressupõe-se que as células da raiz na tentativa de recuperar o dano causado pelo extrato, aumentaram o metabolismo, o que dificultou o desenvolvimento normal do tecido, fazendo com que as raízes ficassem mais delgadas.

A respiração dos ápices radiculares do picão-preto sofreram alteração com o uso do extrato. A respiração total do tecido diminuiu significativamente em todas as concentrações de extrato utilizadas em relação à testemunha. A respiração insensível ao KCN e sensível também diminuíram, principalmente na concentração de 500 ppm. A atividade da enzima catalase isolada da plântula de picão teve maior valor e significância estatística para a concentração de 500 ppm, tendo aumentada a atividade 37% em relação à testemunha. A atividade da enzima peroxidase na concentração de 500 ppm apresentou significância estatística, aumentando 68% em relação à testemunha. Em situações de estresse há aumento da atividade das enzimas, com por exemplo a peroxidase, que neutralizam as espécies reativas de oxigênio como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo um mecanismo para evitar maiores danos às células.

Na figura 1A, B e C estão contidas as imagens obtidas de raiz de plântula de picão-preto (*Bidens pilosa*) do controle, onde podemos observar as organelas celulares de uma célula que pode ser considerada normal. Nota-se nas imagens núcleo, mitocôndrias, amiloplasto com cristais de amido e vesículas que provavelmente estão envolvidas na formação de

vacúolo. Já nas imagens da raiz na concentração 500 ppm apresentaram diferenças em relação ao controle (Figura 1D, E e F). As células se apresentam modificadas: não observa-se presença das vesículas como no controle, percebe-se aumento dos cristais de amido em um amiloplasto e aparentemente o número de mitocôndrias aumentou. Dessa forma, as imagens demonstram que houve alteração celular e que essa alteração possivelmente está relacionada ao metabolismo da célula, por alterar o número de mitocôndrias.

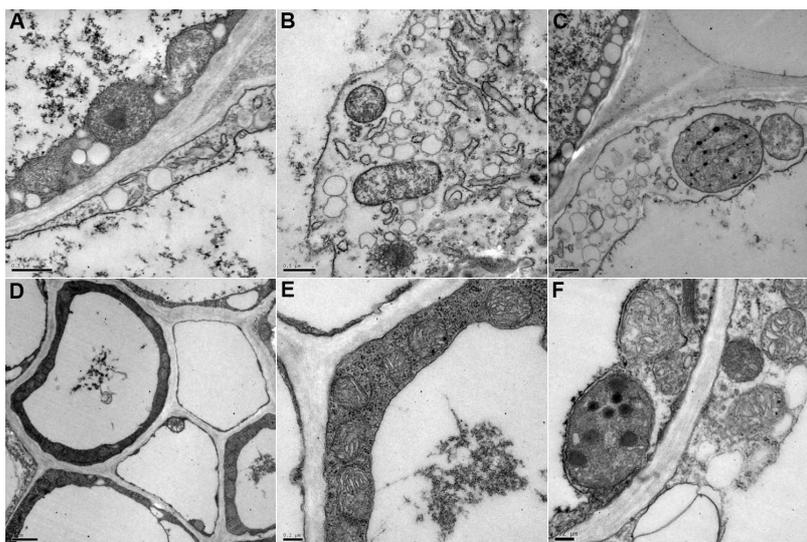


Figura 1 – Eletromicrografia do ápice de raiz primária de picão-preto (*Bidens pilosa*) avaliadas 4 dias após embebição em água (controle) (A, B e C) e em extrato aquoso de *Urochloa ruziziensis* na concentração 500 ppm (D, E e F).

Conclusões

O extrato de braquiária causou efeito negativo na germinação de picão-preto. Também, iminuiu a respiração e aumentou a atividade das enzimas antioxidante POD e CAD. Alterou a morfologia das células de ápices radiculares, destacadamente o número de mitocôndrias, podendo isso estar associado à alteração no metabolismo da célula. Tudo isso, mostra que o extrato provocou, de fato, um stress oxidativo para picão, podendo ser usado no controle da mesma.

Referências

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E.L. **Métodos de laboratório em bioquímica**. 1ed. Barueri: 2003. 440p.

VOLL, E.; FRANCHINI, J.C.; CRUZ, R.T.; GAZZIERO, D.L.P.; BRIGHENTI, A.M.; ADEGAS, F.S. Chemical interactions of *Brachiaria plantaginea* with *Commelina bengalensis* and *Acanthospermum hispidum* in soybean cropping systems. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.30, n.7, p.1467-1475, 2004.