

BIOENSAIOS DE IDENTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE *Crotalaria spectabilis* NAS PLANTAS DANINHAS *Amaranthus hybridus* E *Urochloa decumbens*

Erika Wakida (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Emy Luiza Ishii-Iwamoto (Orientador), e-mail: eliiwamoto@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Bioquímica/Metabolismo e bioenergética

Palavras-chave: biótipos resistentes, crescimento inicial, metabolismo.

Resumo:

Plantas de cobertura usadas em sistemas de plantio direto podem liberar substâncias químicas no solo e alterar a emergência de plantas daninhas. Neste trabalho foi avaliado o efeito do extrato aquoso (EA) de *Crotalaria spectabilis* (CT) sobre a planta daninha monocotiledônea *Urochloa decumbens* e a eudicotiledônea *Amaranthus hybridus*. Parâmetros biométricos e bioquímicos foram avaliados. Na faixa de concentração de 100 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ o EA de CT exerceu efeitos estimulatórios sobre o desenvolvimento inicial das plantas daninhas, com efeitos mais pronunciados em *A. hybridus*. A atividade respiratória dos ápices radiculares de ambas as plantas não foi alterada. Em *U. decumbens*, as atividades das enzimas hexocinase (HX) e malato desidrogenase (MDH) foram estimuladas, enquanto que a piruvato cinase (PC) foi inibida. Em *A. hybridus*, houve aumento da atividade da glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PH), piruvato cinase (PC), malato desidrogenase (MDH) e α -amilase. Os resultados indicam que substâncias existentes no EA de CT promoveram aumento da atividade metabólica dos tecidos, especialmente de *A. hybridus*, gerando intermediários anabólicos provenientes da via glicolítica e da via das pentoses, e com isto permitindo maior desenvolvimento das plântulas. É possível que algumas das substâncias do EA tenham favorecido a produção, transporte e/ou ação de alguns fitormônios como as auxinas ou giberelinas, os quais regulam o desenvolvimento das plantas.

Introdução

O uso contínuo e indiscriminado de herbicidas sintéticos tem favorecido a prevalência e a disseminação de biótipos de plantas daninhas resistentes, o que tem sido um dos maiores problemas da agricultura atual. Métodos alternativos de manejo têm sido pesquisados. Plantas utilizadas como cobertura em sistema de plantio direto, como a *Crotalaria spectabilis*, poderiam reduzir a emergência de plantas daninhas por meio da ação tóxica de substâncias naturais liberados de suas palhadas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de uma fração contendo substâncias químicas extraídas das partes aéreas secas de *C. spectabilis* (CT) com a água (EA, extrato aquoso) sobre a germinação e o desenvolvimento inicial das plantas daninhas *Urochloa decumbens* (capim-

braquiária) e *Amaranthus hybridus* (caruru-roxo). Os efeitos do EA sobre algumas atividades biológicas essenciais da planta, como a atividade respiratória e enzimas chaves do metabolismo de glicose, foram também investigados.

Materiais e métodos

Para obtenção do extrato aquoso (EA), 40 g das partes aéreas secas trituradas de CT foram adicionados a 1 L de água destilada e mantidas em agitação, por 4 horas. Após centrifugação da mistura, o sobrenadante foi liofilizado. As sementes de *A. hybridus* e *U. decumbens* foram colocadas em gerboxes contendo EA nas concentrações de 0, 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e, em seguida, levadas a uma câmara de germinação (20 °C/noite e 30 °C/dia). Após sete dias, as plântulas foram medidas e pesadas. A atividade respiratória de ápices radiculares das plântulas foi avaliada por polarografia (ISHII-IWAMOTO et al., 2003). A discriminação da respiração via citocromo-oxidase da respiração via oxidase-alternativa e oxidases extramitocondriais, foi feita pela adição de KCN (200 μM). As atividades das enzimas foram determinadas por métodos acoplados à redução/oxidação do NAD(P)⁺/NAD(P)H, a 340 nm (BERGMEYER, 1974). Para a HX foi adicionado NADP⁺, glicose e G6PH; para a MDH, NADH e oxaloacetato; para a G6PH, NADP⁺ e glicose-6-fosfato; para a PC, NADH e piruvato. A α -amilase foi medida pela liberação de unidades de maltose a partir de amido, por método colorimétrico, a 546 nm. As proteínas totais dos extratos de raízes foram dosadas pelo método de Bradford (1976).

Resultados e Discussão

O EA de CT estimulou a germinação de *U. decumbens* (+36,3%) na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Fig. 1a). Os tratamentos com 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de EA estimularam o crescimento radicular em 5,3% e 71,4%; o crescimento das partes aéreas em 30,1% e 36,9% e a biomassa seca em 40,9% e 53%, respectivamente (Fig. 1b, c, e). Em *A. hybridus*, a germinação não foi alterada (Fig. 1f), mas as concentrações de 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de EA de CT, causaram estímulo dose-dependente sobre o crescimento das raízes (55,5%, 83,5%, 155,75 e 183,2%) (Fig. 1g) e dos caules (35,1%, 44,9%, 91,4% e 97,8%) (Fig. 1h). As concentrações de 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ aumentaram a biomassa fresca (86,1% e 73,3%) (Fig. 1i) e biomassa seca (26,9% e 33,6%) (Fig. 1j).

A respiração de ápices radiculares de *U. decumbens* (Fig. 2a) e de *A. hybridus* (Fig. 2b) não foi modificada significativamente, indicando que o metabolismo energético mitocondrial não foi alterado pelas substâncias presentes no EA de CT.

A avaliação da atividade de algumas enzimas chave do metabolismo de açúcares revelou que, em *U. decumbens*, o EA de CT estimulou a atividade das enzimas HX (47,6% em 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Fig. 3a) e MDH (14,1% em 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Fig. 3d), enquanto a PC foi inibida (18,45% e 25,4% em 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente) (Fig. 3c). As enzimas G6PD e α -amilase não foram alteradas significativamente (Fig. 3 b, e). Em *A. hybridus* os efeitos foram distintos. Apenas a HX não foi alterada por nenhuma concentração do EA de CT (Fig. 3f). O tratamento com 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ativou as enzimas G6PD (68,2%) (Fig. 3g), PC (25,4%) (Fig. 3h) e α -amilase (55,4%) (Fig. 3i).

3j). Na concentração de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ houve aumento da atividade da PC (18,4%) (Fig. 3h) e da MDH (12,6%) (Fig. 3i).

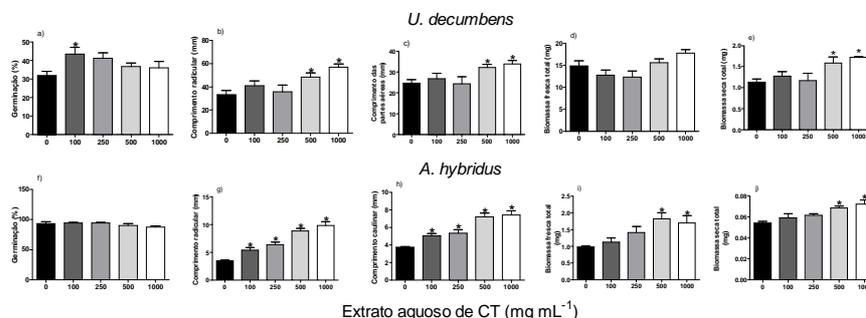


Figura 1. Efeitos do EA de CT sobre germinação (a, f), comprimento radicular (b, g), comprimento das partes aéreas (c, h), biomassa fresca total (d, i) e biomassa seca total (e, j) de *U. decumbens* e *A. hybridus* incubadas por 7 dias. Os valores são as médias \pm EP (n=5). (*) indica diferenças significativas entre os tratamentos e o controle de acordo com ANOVA e teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

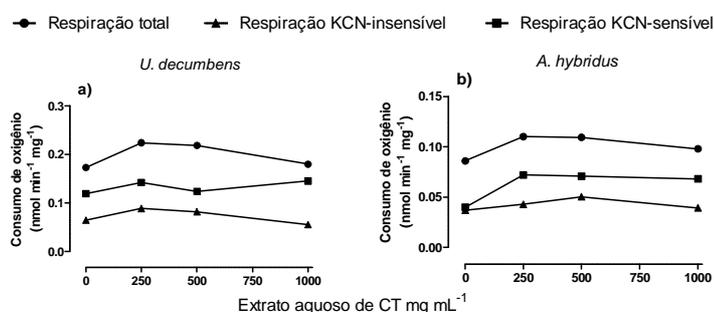


Figura 2. Efeitos do EA de CT sobre a atividade respiratória de ápices radiculares de *U. decumbens* (Fig.2a) e *A. hybridus* (Fig. 2b) incubadas por 7 dias. (●) Respiração total, (▲) Respiração KCN-insensível e (■) Respiração KCN-sensível. Os valores são as médias \pm EP (n=4-8). (*) indica diferenças significativas entre os tratamentos e o controle de acordo com ANOVA e teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

O conjunto dos efeitos induzidos pelo EA de CT sobre o desenvolvimento das plântulas de *U. decumbens* e *A. hybridus* revelou que as substâncias químicas existentes no EA exerceram majoritariamente estímulo no desenvolvimento dos tecidos, sendo o efeito mais pronunciado na dicotiledônea *A. hybridus*. As medidas das atividades de algumas enzimas indicaram que para este maior crescimento houve aumento da atividade metabólica dos tecidos. Em *U. decumbens*, a via glicolítica foi aparentemente ativada para gerar intermediários (fosfoenolpiruvato) para a síntese de aminoácidos, já que a primeira enzima HX foi estimulada, mas a última enzima PC foi inibida. Não houve, entretanto prejuízo para o ciclo do ácido cítrico, já que a respiração dos ápices não foi modificada. Em *A. hybridus*, houve estímulo das enzimas G6PDH, PC, MDH e α -amilase sugerindo intensa atividade anabólica, já que essas enzimas atuam na via glicolítica, via das pentoses-fosfato e geração de poder redutor do NADPH, necessários para a biossíntese de aminoácidos e nucleotídeos. Essa interpretação foi corroborada pelo aumento mais acentuado da biomassa de *A. hybridus*. É possível que algumas das substâncias do EA tenham favorecido a produção, transporte e/ou ação de alguns fitormônios como as auxinas ou giberelinas, os quais regulam o desenvolvimento das plantas (DAVIES, 2010).

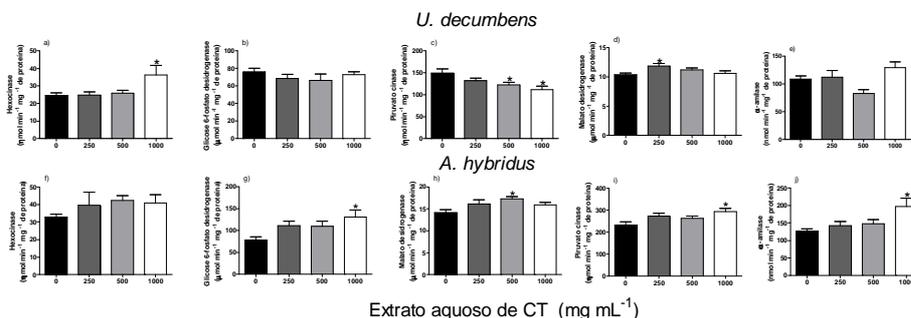


Figura 3. Efeitos do EA de CT sobre a atividade das enzimas hexocinase (a, f), glicose-6-fosfato desidrogenase (b, g), piruvato cinase (c, h), malato desidrogenase (d, i) e α -amilase (e, j) de raízes de *U. decumbens* ou *A. hybridus* incubadas por 7 dias. Os valores são as médias \pm EP (n= 5-13). (*) indica diferenças significativas entre os tratamentos e o controle de acordo com ANOVA e teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Conclusão

O efeito estimulador do EA de CT sobre o desenvolvimento das plantas daninhas pode ter aplicação prática na agricultura: em sistemas de rotação de culturas, a cobertura de crotalária poderia estimular a emergência das plantas daninhas a partir do banco de semente do solo, especialmente as dicotiledôneas, facilitando a sua remoção antes que se proceda ao plantio da cultura de interesse; por outro lado, a identificação da natureza química das substâncias que atuam como reguladores de crescimento pode revelar produtos que melhoram os atributos fisiológicos de uma cultura de interesse e, desta forma, a sua *performance* no campo.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida.

Referência

DAVIES P.J. The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions. In: DAVIES P.J. (eds). **Plant Hormones**. Dordrecht: Springer. 2010, p. 1-15.

ISHII-IWAMOTO E. L.; SERT M. A.; ABRAHIM D. Isolamento, purificação e caracterização de mitocôndrias de vegetais. In: BRACHT A, ISHII-IWAMOTO EL (Org.). **Métodos de Laboratório em Bioquímica**. São Paulo: Editora Manole, 2003, p. 249-260.

BERGMEYER HU. **Methods of Enzymatic Analysis**. New York: Academic Press, 1974. 2302 p.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.