



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL

CURSO DE AGRONOMIA

WILSON RIBEIRO DA SILVA

**INTERAÇÃO ENTRE EXTRATOS AQUOSOS DE PARTE AÉREA E EXSUDATOS
RADICULARES DE CULTURAS DE INVERNO SOBRE A GERMINAÇÃO E O
DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO**

LARANJEIRAS DO SUL

2015

WILSON RIBEIRO DA SILVA

**INTERAÇÃO ENTRE EXTRATOS AQUOSOS DE PARTE AÉREA E EXSUDATOS
RADICULARES DE CULTURAS DE INVERNO SOBRE A GERMINAÇÃO E O
DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção de grau
de Bacharel em Agronomia da Universidade
Federal da Fronteira Sul.

Orientador Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva
Bonome

Coorientador Prof. Me. Henrique von Hertwig
Bittencourt

LARANJEIRAS DO SUL

2015

**A minha família, namorada e amigos pela
força, carinho e atenção.**

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida.

Ao meu pai, Sr. Wilson, e minha mãe, Dona Janete, aos quais tudo que sou devo a eles, por nunca terem medido esforços para me ajudar, e minha irmã Vanessa por sempre estar passando força.

A minha namorada, Carolina, por toda a ajuda, atenção, paciência e companheirismo em todas as etapas superadas até aqui.

A todos meus amigos pela amizade sincera e por nunca me deixarem desanimar, sempre dispostos a conversar e dispostos a ajudar.

Aos que além de amigos ajudaram diretamente na execução dos trabalhos: Elias, Marco Aurélio, Lucas de Liberalli, Douglas Veiga, Felipe Dalpizzol, Jeferson, Mailis, Yasmim, Bruna.

Aos professores: Lisandro por aceitar seu meu orientador e estar sempre disposto a ajudar e sanar dúvidas; Henrique por aceitar me co-orientar e por não cessar esforços para que houvesse êxito nos trabalhos realizados; Thiago pela grande força e pelo apoio recebido; Augusto por ter aceitado o convite para participar da banca, pois sei a dificuldade em arranjar tempo em um final de semestre, não só ele mas vale aos demais supracitados.

Aos técnicos de laboratório: Diogo, Silvana e Élen, por sempre estarem dispostos a auxiliar no que fosse preciso.

“O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.”

(Albert Einstein)

RESUMO

Na busca por esclarecer a ocorrência de interação alelopática das sementes e plantas de *Triticum aestivum*, *Triticum* sp, *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum* na germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris* cv. IPR TUIUIÚ, foram realizados na Universidade Federal da Fronteira Sul *Campus* Laranjeiras do Sul – PR, dois bioensaios: um realizado com exsudatos radiculares dessas plantas, germinadas sobre o papel germiteste e depois descartadas as plântulas, e uma testemunha apenas com água destilada sem a germinação das sementes antecedendo a do feijão. Foram analisados o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Índice de Velocidade de Protrusão Radicular (IVPR), germinação na primeira contagem e porcentagem de germinação; e o outro bioensaio foi realizado com o extrato aquoso de parte aérea dessas culturas na concentração de 12% e uma testemunha utilizando água destilada, onde foram avaliados germinação na primeira contagem, porcentagem de germinação, comprimento de plântulas e matéria seca de plântula. De cada extrato foi extraído e quantificado os fenóis. Pelos resultados foi possível concluir que tanto exsudatos radiculares como extratos aéreos de trigo e triticales afetam o vigor de sementes de feijão. Exsudatos radiculares de trigo, triticales, aveia e azevém não afetam a porcentagem de germinação de sementes de feijão. Extratos aquosos da parte aérea de trigo, triticales afetam a germinação final das sementes. O azevém é a cultura que menos afeta a germinação e o desenvolvimento das plântulas de feijão. Os extratos com maior quantidade de fenóis totais são o de trigo, seguido pelo de triticales, aveia e azevém respectivamente. Dentre os exsudatos radiculares e extratos de parte aérea testados o que teve maior efeito alelopático sobre o vigor de sementes de feijão foi o triticales, seguido pelo trigo, aveia e azevém respectivamente.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris*, compostos fenólicos, alelopatia, vigor.

ABSTRACT

In seeking to clarify the occurrence of allelopathic interaction of seeds and plants of *Triticum aestivum*, *Triticum* sp., *Avena strigosa* and *Lolium multiflorum* in *Phaseolus vulgaris* cv. IPR Tuiuiu seed germination () were performed at the Border Federal University South Campus Laranjeiras do Sul - PR, two bioassays: an accomplished with exudates of these plants, germinated on the role germitest and then discarded the seedlings, and a witness only with distilled water without germination the preceding beans. They analyzed the speed germination index (IVG), protrusion Speed Index Root (IVPR), germination at first count and percentage germination; and the other bioassay was performed with the aerial parts of aqueous extracts of these cultures at a concentration of 12% and a control with distilled water, which were assessed germination in the first count, percentage germination, seedling length, dry matter seedling. And of each extract was extracted and quantified the phenols.. From the results it was concluded that both root exudates as air extracts of *Triticum aestivum* and *Triticum* sp affect the vigor of bean seeds. Root exudates of *Triticum aestivum* , *Triticum* sp , *Avena strigosa* and *Lolium multiflorum* not affect the percentage of bean seed germination. Aqueous extracts of the aerial part of *Triticum aestivum* and *Triticum* sp affect the final seed germination. *Lolium multiflorum* culture is that less affects the germination and development of bean seedlings. The extracts with the highest amount of total phenols are *Triticum aestivum*, followed by *Triticum* sp , *Avena strigosa* and *Lolium multiflorum* respectively. Among the root exudates and shoot extracts tested what had greater allelopathic effect on the bean seed vigor was *Triticum* sp , followed by *Triticum aestivum* , *Avena strigosa* and *Lolium multiflorum* respectively.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, phenolic compounds, allelopathy, vigor.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Índice de velocidade de protrusão das sementes de feijão, germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo e triticales e água destilada (testemunha). Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.22
- Gráfico 2 - Índice de velocidade de germinação das sementes de feijão, germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo e triticales e água destilada (testemunha). Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.23
- Gráfico 3 Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem das sementes de feijão germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo e triticales e água destilada (testemunha). Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.24
- Gráfico 4 - Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação submetidas aos diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.26
- Gráfico 5 - Porcentagem final de germinação de sementes de feijão, submetidas aos diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a....26
- Gráfico 6 - Comprimento médio das plântulas de feijão submetidas aos tratamentos com parte aérea. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.28
- Gráfico 7 - Matéria seca de plântulas de feijão, submetidas aos diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de significância a 5% de Dunnett.....29
- Gráfico 8 - Porcentagem de fenóis totais nos extratos de trigo, triticales, aveia e azevém utilizados como tratamento para umedecer o papel germiteste na germinação das sementes de feijão.30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. GERAL	11
2.2. ESPECÍFICOS	11
3. JUSTIFICATIVA	12
4. REFERENCIAL TEÓRICO	13
4.1. A CULTURA DO FEIJÃO	13
4.2. O CULTIVO DO FEIJÃO	13
4.3. ALELOPATIA	14
4.4. LIBERAÇÃO DOS ALELOQUÍMICOS NO AMBIENTE	15
4.5. EFEITOS CAUSADOS PELOS ALELOQUÍMICOS NO AMBIENTE AGRÍCOLA	16
5. MATERIAIS E MÉTODOS	17
5.1. LOCAL DE IMPLANTAÇÃO	17
5.2. CULTIVARES UTILIZADAS E AQUISIÇÃO DAS SEMENTES	17
5.3. PROCEDIMENTOS	17
5.3.1. Bioensaio com exsudatos radiculares	17
5.3.2. Bioensaios com extrato aquoso da parte aérea	19
5.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO DOS DADOS	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
6.1. BIOENSAIO COM EXSUDATOS RADICULARES	22
6.2. BIOENSAIO COM EXTRATO AQUOSO DA PARTE AÉREA	25
7. CONCLUSÕES	32
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
9. APÊNDICE A – Imagens	36
10. APÊNDICE B – Tabelas	43

1. INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris*) é uma espécie de extrema importância não só para o Brasil como para o mundo, tendo seu cultivo praticado em aproximadamente 100 países. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- MAPA (2011) de cada dez brasileiros, sete consomem feijão diariamente, sendo o grão típico da culinária brasileira. Segundo dados do Instituto Brasileiro de estatística e Geografia- IBGE, censo de 2010, o consumo médio diário de feijão por pessoa no Brasil é de 182,9 gramas, a segunda maior média de consumo, atrás apenas do café (215,1 g).

No cenário da produção, o Brasil é o segundo maior produtor, empatado com o Myanmar, país do Sul da Ásia, sendo o maior produtor a Índia. Em relatório publicado pelo Departamento de Economia Rural-DERAL e Secretária de Estado da Agricultura e do Abastecimento-SEAB (2014) o Brasil produz em média 3,25 milhões de toneladas de feijão por ano, o que representa 15% da produção mundial, o Myanmar produz a mesma porcentagem e a Índia representa 17% da produção mundial com média de 3,71 milhões de toneladas/ano.

De acordo com SEAB; DERAL (2014) foram produzidas no ano de 2014 uma média de 3,44 milhões de toneladas de feijão no Brasil. O Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Goiás e Mato Grosso são os cinco maiores produtores do país, representando 72% da produção nacional. O estado de maior destaque é o estado do Paraná, que participa com 23% da produção de feijão nacional.

A cultura do feijão pode ser semeada em três diferentes épocas, conhecidas como: safra das águas, safra da seca e safra irrigada (MAPA,2011). Na região Sul, normalmente antes da safra das águas, que ocorre de agosto a dezembro as lavouras são ocupadas com cultivos de inverno como a Aveia-preta (*Avena strigosa*), o Azevém (*Lolium multiflorum*), o Trigo (*Triticum aestivum*) e também o Triticale (*Triticum* sp.). Quando os agricultores realizam a semeadura dessas culturas no inverno, geralmente não se preocupam com as interações existentes entre elas e a cultura que será semeada a seguir, que no caso pode ser a do feijão.

Nesse caso específico do feijão, semeado sob a palhada de outras culturas, podem ocorrer interações como a alelopatia. Alelopatia é definida como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta ou de microrganismos sobre outra planta, mediante produção de compostos químicos (aleloquímicos) que são liberados no ambiente (RICE, 1984). Esse fenômeno ocorre tanto nos ecossistemas naturais como nos

agroecossistemas, onde pode interferir no crescimento das culturas agrícolas, alterando a densidade populacional e o desenvolvimento das plantas (SOUZA et al., 2006).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos alelopáticos causados pela Aveia-preta, Azevém, Trigo e Triticale sobre a germinação e o crescimento de plântulas do feijão.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Verificar os efeitos alelopáticos de diferentes culturas que antecedem a semeadura do feijão na sua germinação e no crescimento inicial de plântulas.

2.2. ESPECÍFICOS

- Verificar se os exsudatos liberados pelas radículas de plântulas de *Triticum aestivum*, *Avena strigosa*, *Triticum* sp. e *Lolium multiflorum* exercem efeito alelopático sobre a germinação e crescimento inicial de plântulas de *Phaseolus vulgaris*;
- Verificar se os extratos aéreos de *Triticum aestivum*, *Avena strigosa*, *Triticum* sp. e *Lolium multiflorum* exercem efeito alelopático sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de *Phaseolus vulgaris*;
- Quantificar os compostos fenólicos totais de extratos aquosos da parte aérea de trigo (*Triticum aestivum*), aveia-preta (*Avena strigosa*), triticale (*Triticum* sp.) e azevém (*Lolium multiflorum*).

3. JUSTIFICATIVA

O cultivo do feijão tem grande expressão regional, estando presente na alimentação da grande maioria da população. Seu cultivo é realizado por uma ampla variedade de produtores, desde os mais tecnificados, que cultivam em grande escala, até os que utilizam o cultivo para subsistência, com baixo grau de tecnificação.

O fato de ocorrerem invernos rigorosos na região Sul do país faz com que o cultivo do feijão não seja possível nessa estação. Como alternativa, os agricultores optam pela realização de outros cultivos que também são de importância para a região, sendo utilizados para pastagem do gado, para colheita e venda ou apenas para cobertura do solo. Entretanto, não há informações se estes cultivos que antecedem a semeadura do feijão exercem efeitos alelopáticos sobre a germinação e o crescimento inicial da cultura. A alelopatia pode resultar em um estande desuniforme devido a não germinação das sementes ou a formação de plantas mal formadas, prejudicando o manejo e a colheita da cultura e influenciando negativamente no rendimento.

Visando buscar maiores informações sobre as influências alelopáticas entre as culturas que são utilizadas em nossa região, torna-se necessário realizar trabalhos de pesquisa que possibilitem auxiliar os agricultores na melhor organização de seus sistemas de cultivo.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. A CULTURA DO FEIJÃO

Para Melchior (1964), em sua classificação, o gênero *Phaseolus* é pertencente à ordem Rosales, subtribo Phaseolinae, tribo Phaseoleae, subfamília Papilionoideae e família Leguminosae. Mais de duas décadas depois Cronquist (1988) numa atualização da botânica do gênero classifica-o como pertencente à subclasse Rosidae, ordem Fabales e família Fabaceae.

A planta possui um sistema radicular pivotante com uma raiz principal bem desenvolvida de onde se originam as raízes secundárias, caule herbáceo formado por nós e entrenós, onde estão sustentadas as folhas que são compostas trifolioladas e seu fruto é um legume deiscente de formas variadas que contém em seu interior as sementes que podem variar em tamanho, peso, forma, coloração e brilho, variando de acordo com a cultivar (Silva 1999 apud SILVA; COSTA,2003, p. 18-19).

4.2. O CULTIVO DO FEIJÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) é cultivado em todos os níveis de agricultura, do pequeno ao grande produtor, e em diversificados sistemas de produção tendo uma grande importância não só econômica como social. Suas cultivares apresentam ciclos que variam de 65 a 110 dias, podendo ser utilizado em grandes sistemas agrícolas altamente tecnificados até aqueles pequenos cultivos de subsistência, de pequenas áreas. (AIDAR, 2003).

Segundo o MAPA (2011), a safra do grão é dividida em três etapas, a primeira, conhecida como safra das águas é assim chamada porque o plantio e a colheita são beneficiados pelo alto índice de chuvas. O plantio dessa safra na região Centro-Sul vai de agosto a dezembro e no Nordeste, de outubro a fevereiro. Feita no período com o menor índice de chuva no país, a segunda safra é chamada de safra da seca e ocorre de dezembro a março. Já a terceira, a safra irrigada é assim conhecida por se referir à colheita do feijão irrigado, que têm a concentração do plantio na região Centro-Sul, de abril a junho.

Os grãos de feijão representam uma importante fonte proteica na dieta humana dos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, particularmente nas Américas (47% da produção mundial) e no leste e sul da África (10% da produção mundial). Seu

consumo per capita no Brasil situou-se, em 2001, em 14,9 kg/hab/ano, e, na década de 70, chegou a alcançar patamares de 23-24 kg/hab/ano, essa diminuição ocorreu devido a mudanças na estrutura social, nos hábitos alimentares e pela falta de tempo (YOKOYAMA, 2003).

4.3. ALELOPATIA

No ambiente existem diversas interações entre os organismos, duas delas entre plantas. Entende-se por competição a capacidade de alguns organismos retirarem do ambiente substâncias que afetam o desenvolvimento de outros componentes da comunidade, como nutrientes, luz ou água (CARVALHO, 2012). Além da competição existe também outra interação chamada alelopatia, que é um termo denominado por Molish (1937) para se referir tanto a interações, mediadas por compostos químicos. benéficas como as prejudiciais entre plantas, incluindo microrganismos.

Como esse conceito é um dos pioneiros sobre o tema, com o passar do tempo veio sofrendo redefinições. Szczepanski (1977) define alelopatia como sendo a interferência provocada por substâncias químicas produzidas por certos organismos e que, afetam os outros componentes da comunidade no ambiente. Putnam e Duke (1978 apud PIRES; OLIVEIRA, 2011) consideram alelopatia como efeitos prejudiciais de plantas de uma espécie (doadora) na germinação, no crescimento ou no desenvolvimento de plantas de outras espécies (receptoras). Já para Rice (1984), a alelopatia compreende a liberação, por um dado organismo, de substâncias químicas no ambiente, as quais interagem com outro organismo presente no mesmo ambiente, inibindo ou estimulando o seu crescimento e desenvolvimento. Segundo os autores a alelopatia pode ocorrer entre microrganismos, microrganismos e plantas, entre plantas cultivadas, entre plantas daninhas e entre plantas daninhas e plantas cultivadas, etc.

Mais de uma década depois de Rice e Miller (1996) dividem o efeito alelopático em dois tipos: Autotoxicidade: que é um mecanismo intraespecífico de alelopatia, onde a planta libera uma determinada substância que irá inibir ou retardar a germinação e o crescimento de plantas da sua própria espécie; e heterotoxicidade: ocorre quando uma planta libera determinada substância fitotóxica no ambiente e essa substância inibe ou retarda a germinação e crescimento de plantas de outras espécies.

Atualmente são conhecidos cerca de 10.000 (dez mil) produtos secundários, porém existe a suposição de que existam mais de centenas de milhares desses produtos. Até o momento foram identificadas em cada classe estrutural os componentes principais e somente de algumas espécies, sendo os com propriedade alelopática mais comum pertencentes aos grupos dos ácidos fenólicos, terpenóides, alcalóides, glicosídeos cianogênicos, derivados do ácido benzoico e quinonas complexas (CARVALHO, 2012).

4.4. LIBERAÇÃO DOS ALELOQUIMICOS NO AMBIENTE

A liberação das substâncias alelopáticas é feita pelos tecidos vegetais por volatilização, lixiviação, exsudação radicular e pela decomposição de resíduos vegetais (RICE, 1984). De modo geral, estas substâncias apresentam grande instabilidade, sendo rapidamente decompostas após sua liberação (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

Na volatilização os aleloquímicos assim liberados são de difícil detecção, identificação e quantificação. São comuns em plantas aromáticas como a roseira (*Rosa* sp.), o eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e o mentrasto (*Ageratum conyzoides*) que liberam compostos voláteis, embora os compostos dessas plantas não sejam necessariamente alelopáticos. Os casos mais frequentes de ação de aleloquímicos voláteis ocorrem nas regiões áridas e de temperatura elevada (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

Já na lixiviação, uma variedade de compostos químicos pode ser lixiviados da parte aérea das plantas, pela chuva ou orvalho, e carregados até o solo (PIRES; OLIVEIRA, 2011). Dentre os compostos mais lixiviados estão os ácidos orgânicos, os açúcares, os aminoácidos, o ácido giberélico, os terpenóides, os alcalóides e os compostos fenólicos (PUTNAM, 1985).

No caso da exsudação radicular, as plantas exsudam pelas raízes inúmeros produtos químicos, alguns com características alelopáticas. Todavia, torna-se muito difícil saber com precisão se as substâncias alelopáticas encontradas no solo provem diretamente das raízes, ou são produzidas por microrganismos associados a elas, ou são liberadas pela decomposição dos resíduos orgânicos o que inclui as células mortas que se desprendem das raízes (ALMEIDA, 1990).

Quando se fala da decomposição de resíduos vegetais, nesse caso, a liberação de aleloquímicos pode ocorrer diretamente pela lixiviação de substâncias presentes nos resíduos, pelo rompimento de tecidos celulares ou células durante a decomposição e liberação do seu conteúdo e, ainda, pela produção de substâncias pelos próprios organismos decompositores

(RICE, 1984). Em alguns casos esses metabólitos gerados a partir da decomposição são mais tóxicos do que o produto original (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

4.5. EFEITOS CAUSADOS PELOS ALELOQUÍMICOS NO AMBIENTE AGRÍCOLA

Os efeitos causados pela alelopatia são vários, alguns deles são citados por Rice (1984) como a inibição da divisão celular; modificações da parede celular; síntese de pigmentos; inibição de bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos; relação água-planta; alteração dos ácidos nucleicos. Porém, os sintomas dos efeitos alelopáticos mais citados na literatura provocados pelas coberturas mortas das culturas são a redução de germinação, falta de vigor vegetativo ou morte das plântulas, amarelecimento ou clorose das folhas, redução do perfilhamento e atrofiamento ou deformação das raízes (CARVALHO, 2012).

No ambiente agrícola as próprias plantas cultivadas podem exercer efeitos alelopáticos umas nas outras. Por exemplo, a germinação e o desenvolvimento de plântulas de trigo foram afetados por substâncias extraídas da palha da própria cultura e também da palhada de aveia, caules de milho e sorgo e também do feno da soja e outras culturas (RICE, 1984). O algodão teve seu crescimento retardado quando cultivado na resteva (restos da cultura anterior) de trigo (HICKS et al., 1989), assim como a resteva de soja ou azevém inibiram o desenvolvimento de raízes de milho (MARTIN et al. 1990).

Kalbertji (1999) constatou a inibição da germinação das cariopses de trigo causado pelo uso de extratos de folhas da própria cultura, além de afetar também o desenvolvimento das plântulas. Bortolini e Fortes (2005) constataram a interferência dos exsudados radiculares de trigo (*Triticum aestivum*), triticale (*Triticum* sp.), milho (*Zea mays*), ervilhaca (*Vicia sativa*) e aveia preta (*Avena strigosa*) sobre a porcentagem de germinação das sementes de soja, porém efeitos alelopáticos não foram verificados sobre o tempo e velocidade média de germinação das sementes de soja, exceção para aveia preta que reduziu o tempo e velocidade média de germinação da espécie.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. LOCAL DE IMPLANTAÇÃO

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Fisiologia Vegetal e de Sementes, da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* de Laranjeiras do Sul, Paraná.

5.2. CULTIVARES UTILIZADAS E AQUISIÇÃO DAS SEMENTES

Foram utilizadas sementes de *Phaseolus vulgaris* cultivar IPR TUIUIÚ cedidas pela Cooperativa de Produtores de Sementes de Laranjeiras do Sul (COPROSSEL).

Os tratamentos foram compostos por:

- Trigo (*Triticum Aestivum*) cultivar Tangará;
- Tricale (*Triticum* sp.) cultivar Aimoré;
- Aveia-preta (*Avena strigosa*) cultivar IAPAR-61;
- Azevém (*Lolium multiflorum*) cultivar BRS PONTEIO;
- Testemunha;

As sementes de trigo, aveia-preta e tricale foram cedidas também pela COPROSSEL e as sementes de azevém foram cedidas pela Agropecuária Campo a Fora de Nova Laranjeiras, PR.

5.3. PROCEDIMENTOS

O experimento foi dividido em dois bioensaios: um utilizando exsudatos radiculares e outro com extrato aquoso da parte aérea, avaliando seus efeitos sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de trigo.

5.3.1. Bioensaio com exsudatos radiculares

Sementes de trigo (*Triticum aestivum*), tricale (*Triticum* sp.), aveia preta (*Avena strigosa*) e azevém (*Lolium multiflorum*), separadamente, foram inicialmente semeadas em papel germiteste (Imagem 1- APÊNDICE A) embebidos em água destilada (2,5 vezes o peso do papel seco utilizado), e levadas ao germinador a 20°C, conforme Brasil (2009). Cada espécie foi semeada em 4 repetições de 50 sementes.

As sementes de trigo e triticale permaneceram no germinador por 8 dias, as sementes de aveia por 10 dias e as sementes de azevém permaneceram por 14 dias. Após o período no germinador as plântulas de cada espécie foram descartadas (Imagem 2 – APÊNDICE A) e o papel reutilizado (com os exsudatos liberados pelas radículas das plântulas) para a germinação do feijão, o qual permaneceu no germinador por 9 dias a 25°C (Brasil, 2009). Como testemunha utilizou-se papel germiteste embebido em água destilada, sem a germinação de nenhuma semente antecedendo a germinação do feijão.

Foram realizadas as avaliações de germinação, germinação na primeira contagem, Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Índice de Velocidade de Protrusão Radicular (IVPR), sendo ambas as avaliações realizadas juntamente com o teste de germinação.

Para a avaliação de Germinação utilizou-se 3 folhas papel germiteste (duas embaixo das sementes e uma sobre as sementes) umedecido com 2,5 vezes seu peso em volume de água destilada para cada repetição onde foram postas as sementes de feijão, que foram levados ao germinador do tipo “mangelsdorf” a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, sendo avaliados no quinto e nono dia após implantação (Brasil, 2009). Foram contabilizadas plântulas normais que apresentavam parte aérea e radícula bem desenvolvida com todas as partes essenciais para seu desenvolvimento.

Na avaliação de germinação na primeira contagem foram contabilizadas as plântulas germinadas após 5 dias de instalação do teste de acordo com as recomendações de Brasil (2009).

Para a avaliação do IVG, foram contabilizadas diariamente as plântulas normais a partir do surgimento da primeira plântula normal até que o número de plântulas tornasse constante, sendo o IVG calculado pelo somatório do número de plântulas normais a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos à formação da plântula, utilizando como referência a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + \dots + (Gn/Nn).$$

Onde:

IVG: Índice de Velocidade de Germinação;

G1, G2, G3,..., Gn = número de plantas computadas de acordo com a germinação de cada contagem;

N1, N2, N3,..., N= número de dias de semeadura até a contagem final.

Assim como o IVG, o IVPR teve avaliações diárias, conforme descrito para o teste de IVG, apenas levando em consideração as sementes que apresentavam radícula protruída com tamanho superior a 2 mm (Imagem 3 – APÊNDICE A).

5.3.2. Bioensaios com extrato aquoso da parte aérea

Neste bioensaio foram utilizados extratos aquosos da parte aérea de trigo (*Triticum aestivum*), triticale (*Triticum* sp.), aveia preta (*Avena strigosa*) e azevém (*Lolium multiflorum*). As partes aéreas das plantas foram coletadas à campo, em lavouras de produtores que semearam as mesmas variedades utilizadas no bioensaio com exsudatos radiculares, sendo que as plantas estavam no estágio final de ciclo. Após a coleta as plantas foram secas em estufa de circulação forçada a 35°C por aproximadamente 96 horas, e depois elevou-se a temperatura para 40°C por 48 horas (Imagem 4 – APÊNDICE A). Posteriormente, as folhas e colmos foram triturados em moinho de faca “willye” (Imagem 5 – APÊNDICE A) peneira 30 mesh e armazenadas em embalagens hermeticamente fechadas.

Para preparo da solução utilizou-se concentração de 12% de matéria seca, adicionada em água destilada, levada para incubadora com agitação orbital tipo “shaker” por duas horas a 40°C, 230 rotações por minuto (RPM) (Imagem 6 – APÊNDICE A). Concluído este procedimento a solução foi filtrada em gaze para retirar o excesso de matéria seca presente (Imagem 7 – APÊNDICE A). As soluções filtradas foram levadas a geladeira onde permaneceram por duas horas. Após realizou-se a centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos (Imagem 8 – APÊNDICE A), sendo a solução sobrenadante filtrada em algodão (Imagem 10 – APÊNDICE A) e levada para BOD a 10°C sem luz para ser armazenada (Imagem 11 – APÊNDICE A).

Essas soluções foram utilizadas para umedecer o papel germiteste onde foram semeadas as sementes de feijão.

Para o este bioensaio foram realizadas avaliações de Germinação, Germinação na Primeira Contagem, Comprimento de Plântula, Matéria Seca de Plântula e a extração e quantificação dos fenóis totais dos extratos.

Para a avaliação de germinação e germinação na primeira contagem seguiu-se a mesma metodologia utilizada para o bioensaio com exsudatos radiculares, sendo adaptado para realizar o teste de matéria seca e comprimento de plântula.

Para avaliar o comprimento de plântula, as sementes de feijão foram dispostas no terço superior do papel germiteste em duas linhas longitudinais intercaladas, todas as sementes voltadas com o hilo para baixo orientando o crescimento da plântula (Imagem 12 – APÊNDICE A). Os rolos de cada tratamento foram agrupados com atílios de borracha, fechados com sacos plásticos (Imagem 13 – APÊNDICE A) e colocados em pé no interior do germinador. Foram medidas, com o auxílio de um paquímetro digital, as plântulas normais no nono dia do teste, tomando-se a medida da ponta da maior raiz até a inserção dos cotilédones,

onde o comprimento médio de plântula foi obtido somando todos os comprimentos das plântulas e dividindo pelo número de plântulas normais mensuradas. O valor final do comprimento médio das plântulas foi a média aritmética de cada tratamento (KRZYZANOWSKI et al, 1999).

Na avaliação de matéria seca de plântula analisou-se o peso seco médio das plântulas ao nono dia. Para isso as plântulas normais tiveram os cotilédones cortados e foram postas em sacos de papel, separadas por repetição de tratamentos, e levadas para estufa de circulação forçada a 80°C por 24 horas. Depois disso ficaram no dessecador com sílica gel por 10 minutos para esfriar, e então foram pesadas as repetições dos tratamentos, tendo o peso final dividido pelo número de plântulas normais, sendo obtido então o peso médio da matéria seca de cada plântula (KRZYZANOWSKI et al, 1999).

Para a extração de fenóis totais utilizou-se triplicatas com 25 ml dos extratos obtidos de cada tratamento. Utilizou-se metodologia descrita por Min An et al (2001), onde foram adicionados 75 ml de acetona no extrato aquoso de cada tratamento. Essa mistura foi agitada por aproximadamente 12 horas em velocidade lenta e a temperatura ambiente (Imagem 27 – APÊNDICE A). Com isso, proteínas e lipídios precipitaram, depois filtrou-se a vácuo em papel filtro (Imagem 28 – APÊNDICE A). A acetona foi descartada em evaporador rotativo em 40°C (Imagem 29 – APÊNDICE A).

Em seguida, os extratos foram particionados sequencialmente, três vezes com 50 ml de hexano e separado em funil de separação (Imagem 30 – APÊNDICE A), sendo descartada a fração de hexano. Após isso foram adicionados ao extrato 30 ml de éter etílico, sequencialmente 3 vezes, sendo agitado e separado em funil de separação (Imagem 31 – APÊNDICE A), aproveitando a fração etérea para dar sequência no processo.

Na fração etérea adicionou-se uma ponta de espátula de Na₂SO₄ (Sulfato de sódio) para remover resquícios de água presentes na solução (Imagem 32 – APÊNDICE A), sendo o éter removido da solução no evaporador rotativo a 40°C.

Para a quantificação dos fenóis totais, adicionou-se em tubo de ensaio 100 µL do extrato aquoso, 600 µL de Na₂CO₃ (7,5%), 700 µL de água destilada e 200 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. A solução foi misturada e incubada por 10 minutos em banho-maria a 50°C (Imagem 35 – APÊNDICE A). Depois disso, adicionou-se 2 ml de água destilada na solução e realizou-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 760 nm (Imagem 37 – APÊNDICE A), utilizando como branco água destilada no lugar do extrato aquoso.

Utilizou-se como padrão de calibração o ácido gálico (2,5 mM), nas porcentagens de 0%; 11,80%; 23,61%; 35,41% e 47,22% para construir uma curva de calibração (Imagem 38

– APÊNDICE A). A partir da equação da reta obtida na curva do gráfico do padrão ácido gálico, realizou-se o cálculo do teor de fenóis totais (LIMA, et al, 2012), expressando os resultados em porcentagem.

5.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO DOS DADOS

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, para ambos os ensaios, com 4 repetições de 50 sementes para cada tratamento do bioensaio com exsudatos radiculares e 8 repetições de 25 sementes para cada tratamento do bioensaio com extrato aquoso de parte aérea. Os tratamentos foram constituídos por: exsudatos radiculares de aveia preta, azevém, trigo e tricale e uma testemunha utilizando apenas água para o bioensaio com exsudatos radiculares; e no bioensaio com extrato aquoso da parte aérea foram utilizados extratos aquosos da parte aérea das plantas de aveia preta, azevém, trigo e tricale para umedecer o papel germiteste e também, uma testemunha umedecida com água.

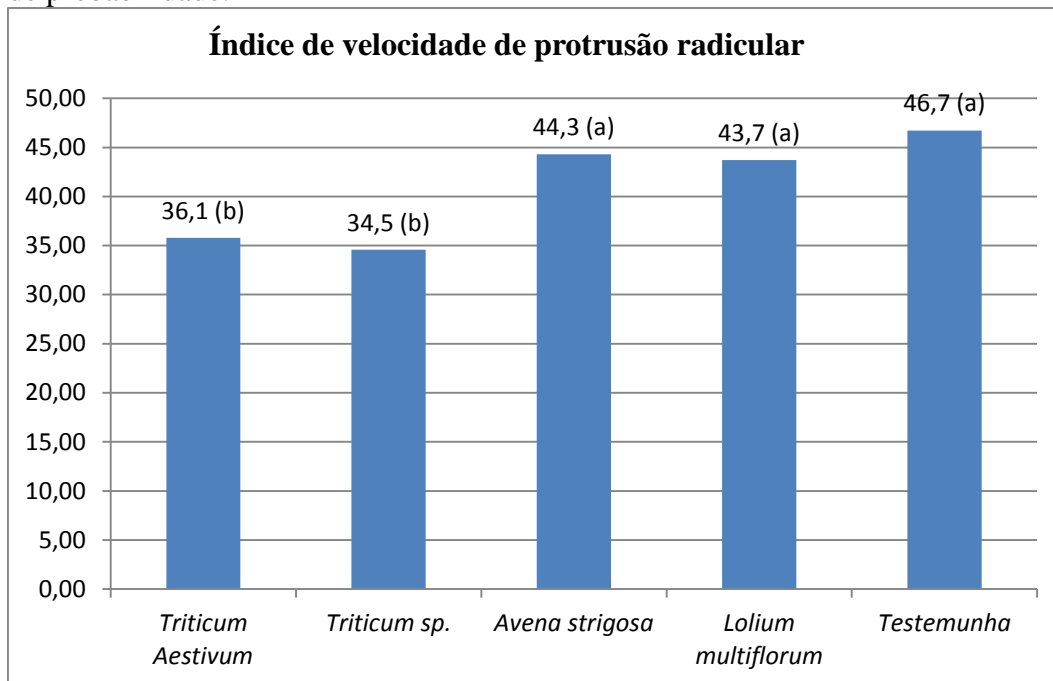
Os dados obtidos nas avaliações de ambos os ensaios foram submetidos à análise de variância e teste F, posteriormente submetidas ao teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. BIOENSAIO COM EXSUDATOS RADICULARES

O gráfico 1 apresenta os resultados de índice de velocidade de protrusão radicular das sementes de feijão germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo, triticales e água destilada (testemunha).

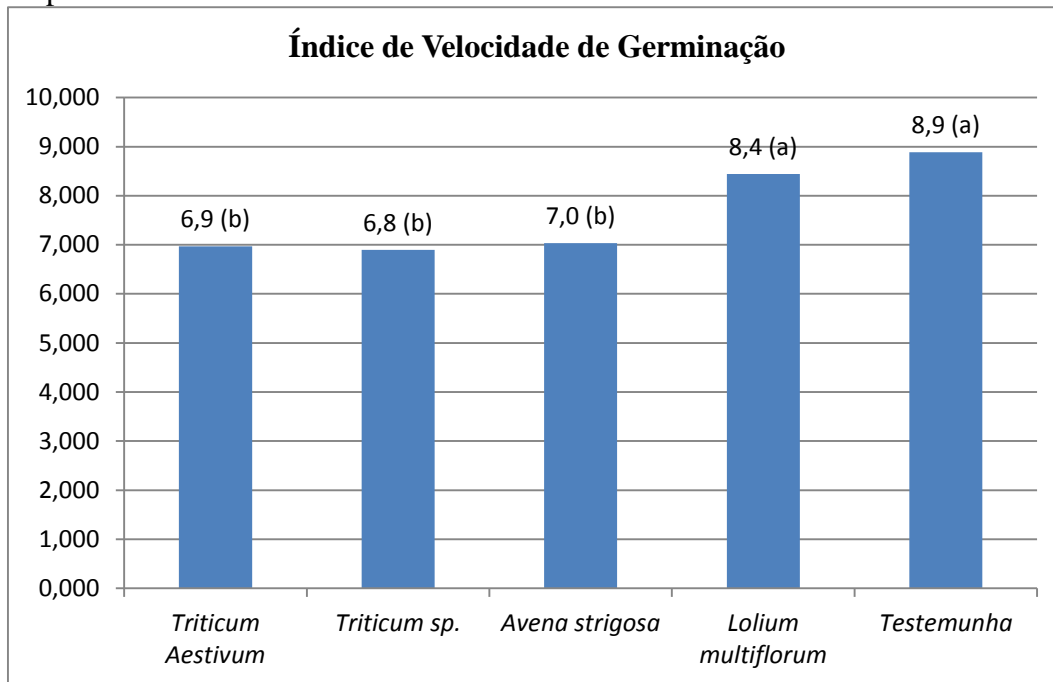
Gráfico 1 - Índice de velocidade de protrusão das sementes de feijão, germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo e triticales e água destilada (testemunha). Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.



Verifica-se pelo gráfico 1 que os exsudatos de raiz de trigo e triticales afetaram negativamente a velocidade de protrusão radicular das sementes feijão, por outro lado, os exsudatos radiculares de aveia e azevém não diferiram significativamente da testemunha, sendo semelhantes entre si.

Pelo gráfico 2 observa-se a influência dos exsudatos radiculares de aveia, azevém, trigo e triticales sobre o índice de velocidade de germinação das sementes de feijão.

Gráfico 2 - Índice de velocidade de germinação das sementes de feijão, germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo e triticale e água destilada (testemunha). Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.



Semelhante ao observado para o IVPR nota-se que os exsudatos radiculares de trigo e triticale influenciaram negativamente no IVG das sementes de feijão. Para este teste os exsudatos radiculares da aveia também apresentaram efeitos negativos. Exsudatos radiculares de azevém não diferiram da testemunha quanto ao IVG ao nível de significância de 5% de probabilidade.

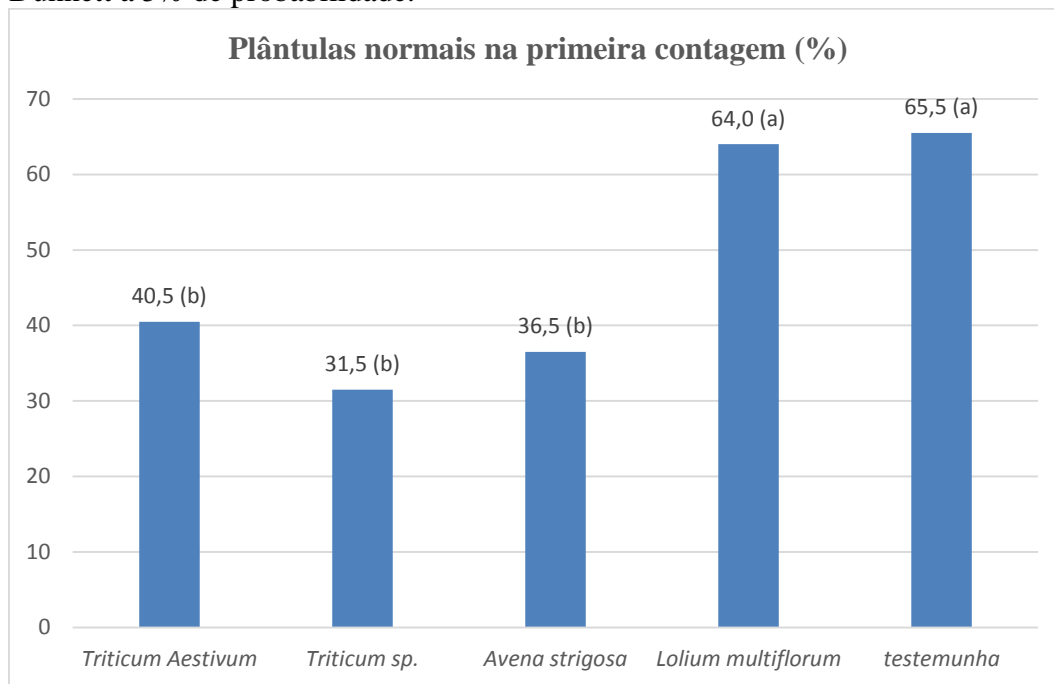
Bortolini e Fortes (2005) não identificaram diferença significativa na velocidade e tempo médio de germinação de sementes de soja, tratados com exsudatos radiculares de trigo, triticale e aveia-preta, diferindo dos resultados obtidos no presente trabalho, com sementes de feijão. Tais resultados indicam que as sementes de feijão são mais sensíveis aos exsudatos radiculares lixiviados das culturas de trigo, triticale e aveia do que a soja.

No gráfico 3 observa-se a influência dos exsudatos radiculares de aveia, azevém, trigo e triticale sobre o número de plântulas normais na primeira contagem de germinação das sementes de feijão.

Nota-se influência negativa causada pelos exsudatos radiculares do trigo, da aveia e do triticale sobre a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação. Ressalta-se que a porcentagem de plântulas normais de feijão germinadas em exsudatos radiculares de triticale foi 34% e 32,5% menor do que as germinadas em água e em exsudatos

de azevém, respectivamente. O azevém mais uma vez não diferiu da testemunha, indicando aparentemente não possuir efeito inibitório sobre a germinação de sementes de feijão.

Gráfico 3 - Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem das sementes de feijão germinadas sobre exsudatos radiculares de sementes de aveia, azevém, trigo e triticales e água destilada (testemunha). Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.



Para o teste de germinação não houve diferença significativa entre os tratamentos no teste de Dunnett a 5% de significância (Tabela 4 – APÊNDICE B), sendo os valores obtidos de 80,0%; 82,5%; 75,0%; 84,0% e 84% para *Triticum aestivum*, *Triticum sp.*, *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum* e testemunha respectivamente. Porém, pode-se notar que o tratamento com exsudatos radiculares de aveia apresentaram porcentagem de germinação 9% menor em comparação a testemunha.

Em experimento realizado por Bortolini e Fortes (2005) foi constatado efeito negativo de exsudatos de radiculares de aveia preta e triticales sobre a porcentagem de germinação de sementes de soja, diferindo dos resultados deste trabalho, com sementes de feijão. Embora ambas as culturas sejam da mesma família botânica, as sementes de soja parecem ser mais sensíveis do que as de feijão.

Embora não tenha sido observada diferença significativa para a porcentagem de germinação entre os tratamentos (gráfico 4), nota-se que os exsudatos radiculares de trigo, triticales e aveia afetaram negativamente o vigor das sementes (gráficos 1; 2 e 3). Segundo

Krzyzanowski e França neto (2001) o vigor é o atributo de qualidade que melhor expressa o desempenho da semente.

De acordo com a sequência de deterioração proposta por Delouche e Baskin (1973), os testes para determinar o poder germinativo são os que antecedem a morte das sementes e, portanto, são pouco sensíveis. Diferentemente dos testes de vigor, os quais servem para distinguir níveis de qualidade fisiológica que as sementes possuem que o teste de germinação não é capaz de detectar. Assim sementes com valores percentuais de germinação próximos podem apresentar níveis distintos de vigor.

Segundo Ferreira e Aquila (2000), muitas vezes os componentes alelopáticos não possuem influência na porcentagem final de germinação de muitas espécies, entretanto podem afetar o vigor das sementes como a velocidade e o tempo médio de germinação.

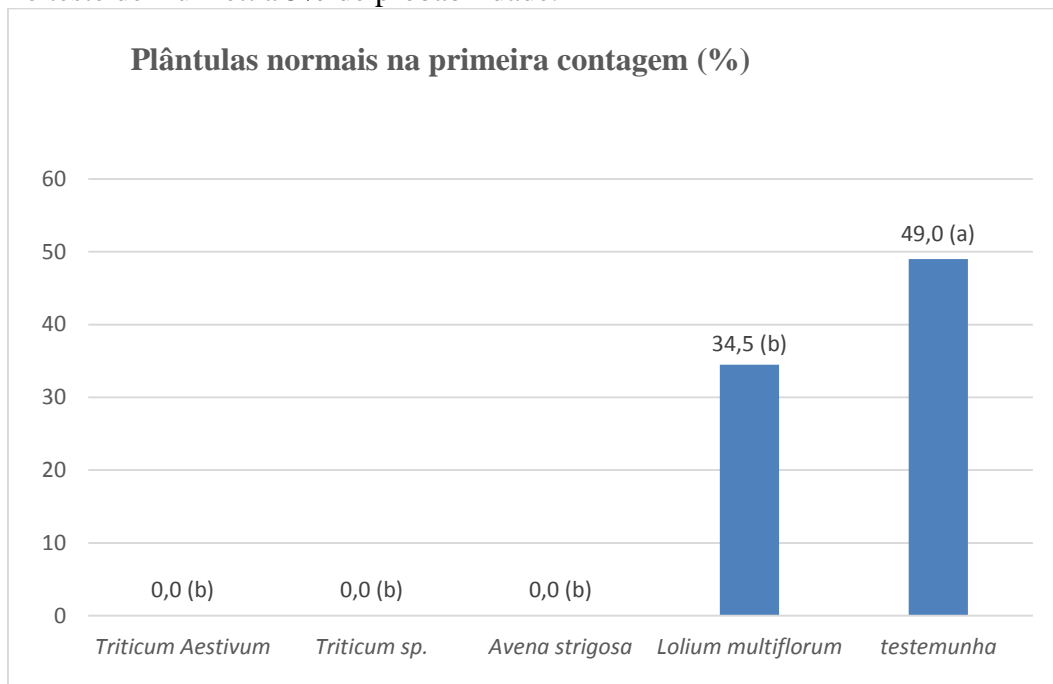
O vigor de sementes é de fundamental importância para o êxito econômico da cultura, visto que sementes pouco vigorosas serão mais sensíveis aos intempéries do ambiente e competição com plantas invasoras, gerando estandes desuniformes e reduzidos comprometendo a colheita e a produtividade.

6.2. BIOENSAIO COM EXTRATO AQUOSO DA PARTE AÉREA

O segundo bioensaio foi realizado com os extratos aéreos das mesmas variedades utilizadas no bioensaio com exsudatos radiculares.

O gráfico 4 apresenta os da porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação submetidas aos diferentes tratamentos.

Gráfico 4 - Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação submetidas aos diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

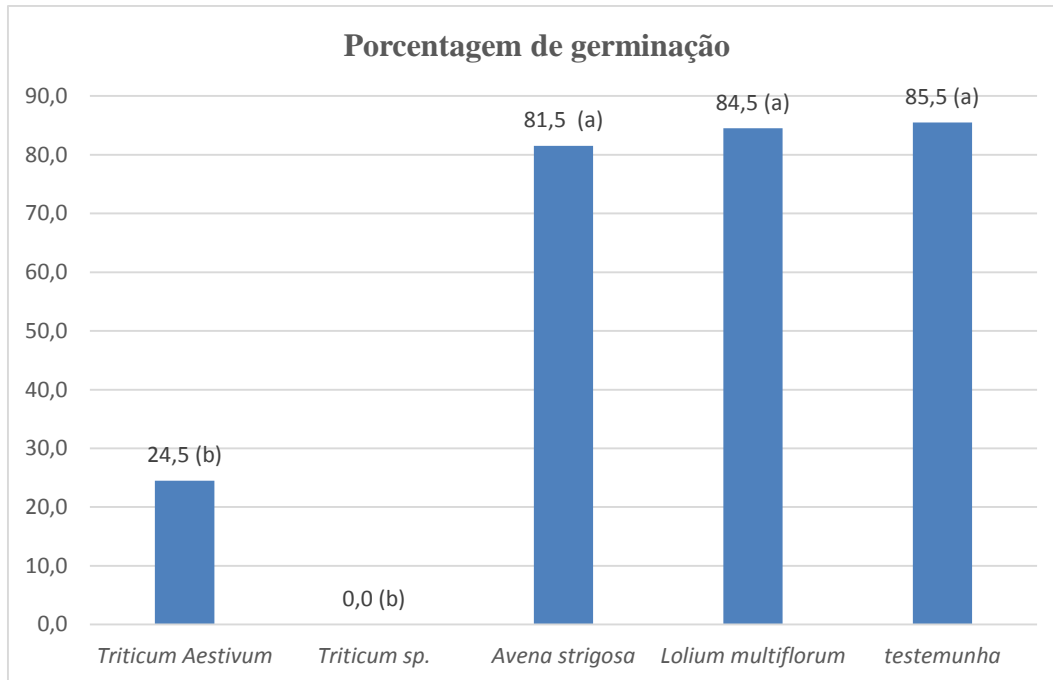


Observa-se pelo gráfico 4 que sementes germinadas em extratos aquosos de trigo, triticale e aveia não apresentaram nenhuma plântula normal na primeira contagem. Por outro lado, aquelas germinadas em extratos aquosos de azevém apresentaram 35% de plântulas normais, diferindo da testemunha com 49%.

Assim como no bioensaio com exsudatos radiculares, trigo, triticale e aveia diferiram significativamente da testemunha quanto a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação. Porém, neste bioensaio os resultados foram mais expressivos, não havendo nenhuma plântula normal nestes tratamentos. O tratamento com azevém apresentou número de plântulas normais na primeira contagem aproximadamente 30% menor que no primeiro bioensaio. Isso se deve, provavelmente, a menor lixiviação de substância alelopáticas nos exsudatos radiculares quando comparados ao extrato de parte aérea das culturas. A concentração do extrato de parte aérea utilizada no presente trabalho foi de 12%, provavelmente maior do que a lixiviada pelas raízes.

Pelo gráfico 5 observa-se os resultados da porcentagem de germinação de sementes de feijão, submetidas aos diferentes tratamentos.

Gráfico 5 - Porcentagem final de germinação de sementes de feijão, submetidas aos diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.



Pode-se observar que houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados, sendo que o tratamento com extrato aéreo de triticale inibiu totalmente a germinação das sementes de feijão. O trigo também apresentou efeito inibitório na germinação das sementes de feijão, reduzindo em 61% quando comparado à testemunha. Os tratamentos com extratos aéreos de aveia e azevém não diferiram significativamente da testemunha com água destilada, e apresentaram germinação superior a 80%.

Ducca e Zonetti (2008) obtiveram resultados semelhantes se tratando de extrato aéreo de folhas, colmo e raiz de aveia-preta, onde esses extratos não afetaram significativamente a porcentagem de germinação de sementes de soja, porém observou-se diferença quanto ao índice de velocidade de germinação. Os testes de vigor como o IVG e a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação são mais sensíveis do que o teste de germinação, pois este último é o evento final do processo de deterioração (KRZYZANOWSKI, et al., 1999).

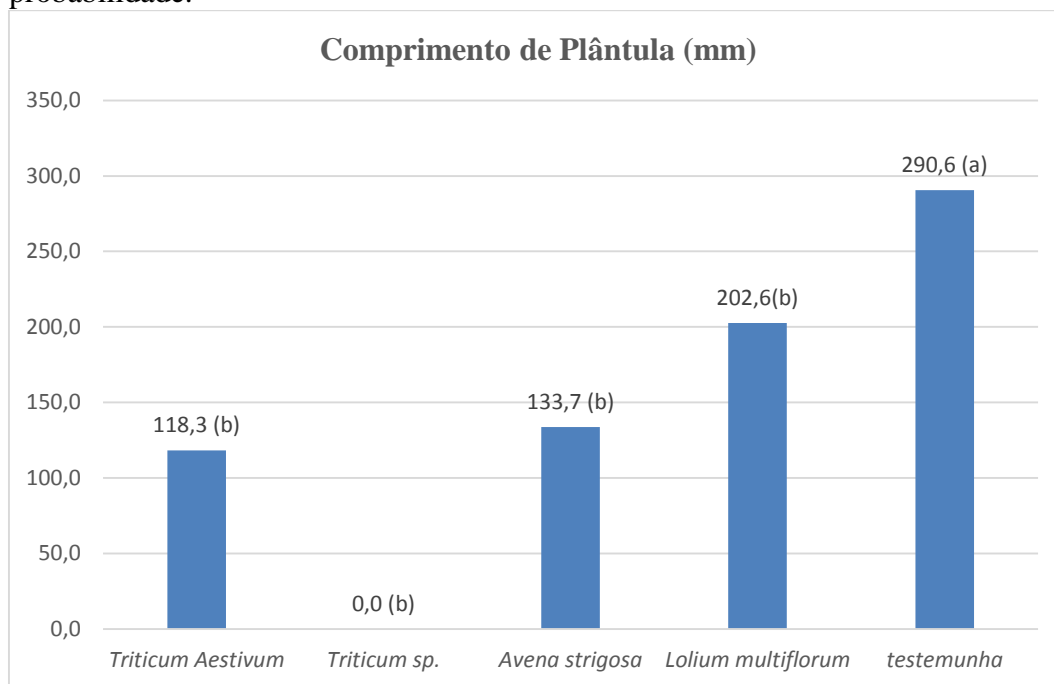
Conrado (2010) observou efeito negativo do extrato de azevém sobre a germinação de sementes de soja, estes resultados diferem dos observados no presente bioensaio, em que o extrato de azevém não inibiu a germinação de sementes de feijão. Bittencourt et al (2009), constataram em experimento de campo que o cultivo de feijão-guará em sucessão com o azevém teve produção superior ao observado pela testemunha em sucessão ao pousio. Além disso, este sistema proporcionou um melhor controle de plantas infestantes. Logo, os

compostos liberados pelo azevém parecem ser seletivos, atuando sobre outras planta mas suprimindo o feijão.

Outro fato que merece destaque é que a porcentagem de germinação das sementes de feijão dos tratamentos testemunha e azevém, em ambos os bioensaios, praticamente não diferiram (0,5% para o azevém e 1,5% para a testemunha) evidenciando que tanto extrato de parte aérea quanto exsudatos radiculares de azevém não são prejudiciais a germinação de sementes de feijão.

O gráfico 6 apresenta os resultados do efeito dos extratos de parte aérea de aveia, azevém, trigo e triticale sobre o comprimentos das plântulas de feijão.

Gráfico 6 - Comprimento médio das plântulas de feijão submetidas aos tratamentos com parte aérea. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

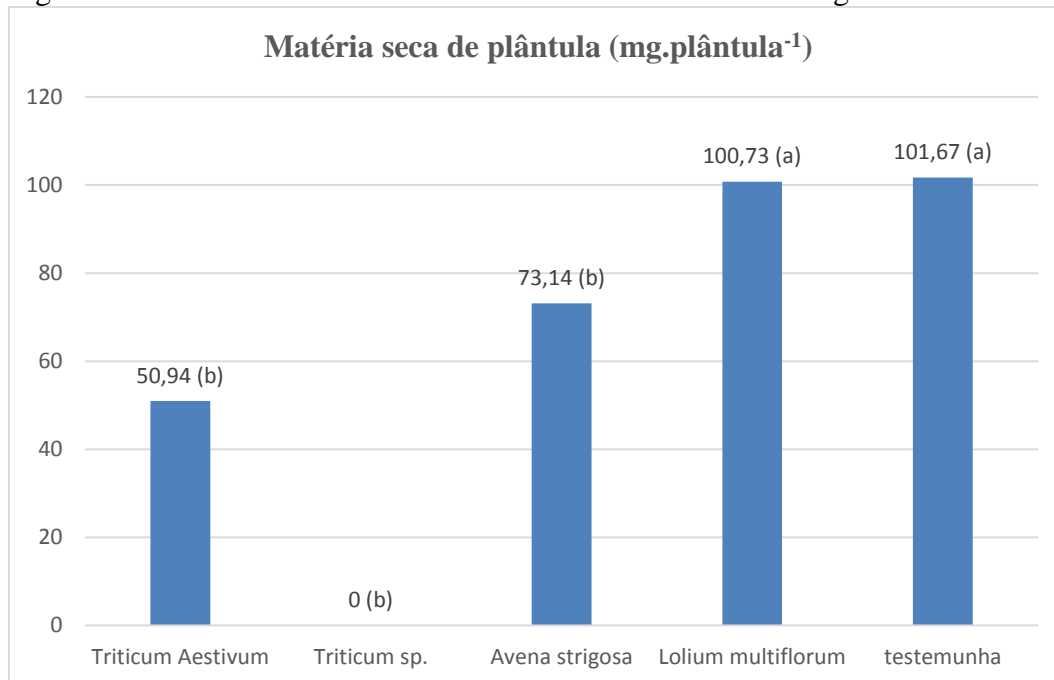


Analisando o gráfico 6 observa-se que todos os tratamentos interferiram negativamente no comprimento de plântulas de feijão quando comparado com a testemunha. O tratamento com triticale foi o que apresentou o maior efeito inibitório no crescimento de plântulas, seguido pelo tratamento com trigo, aveia e azevém. Ressalta-se que com exceção da testemunha não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. Segundo Pires e Oliveira (2011) alguns aleloquímicos afetam a divisão e o alongamento interferindo no crescimento e desenvolvimento das plantas.

Ferreira e Áquila (2000) em seu estudo, relataram que aveia-preta não afetou a germinação de sementes de soja, milho e feijão, porém, prejudicou o crescimento das plântulas, fato constatado nesse experimento.

O gráfico 7 apresenta os resultados do efeito dos extratos de parte aérea de aveia, azevém, trigo e triticale sobre a matéria seca de plântulas de feijão.

Gráfico 7 - Matéria seca de plântulas de feijão, submetidas aos diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si no teste de significância a 5% de Dunnett



Pelo gráfico observa-se que o tratamento com extrato de triticale apresentou valor zero para matéria seca. Isto deve-se ao fato de que este teste somente é realizado com plântulas normais e neste tratamento obteve-se apenas plântulas anormais e sementes mortas. Os tratamentos com trigo e aveia diferiram significativamente da testemunha, sendo que o trigo apresentou aproximadamente metade do peso de matéria seca apresentado pela testemunha.

Embora tenha-se verificado diferença significativa entre os tratamentos azevém e testemunha para comprimento de plântulas o mesmo não foi verificado para peso de matéria seca. Observou-se um número superior de raízes secundárias nas plântulas crescidas em extrato de azevém que acabou compensando o maior comprimento de plântulas no tratamento testemunha.

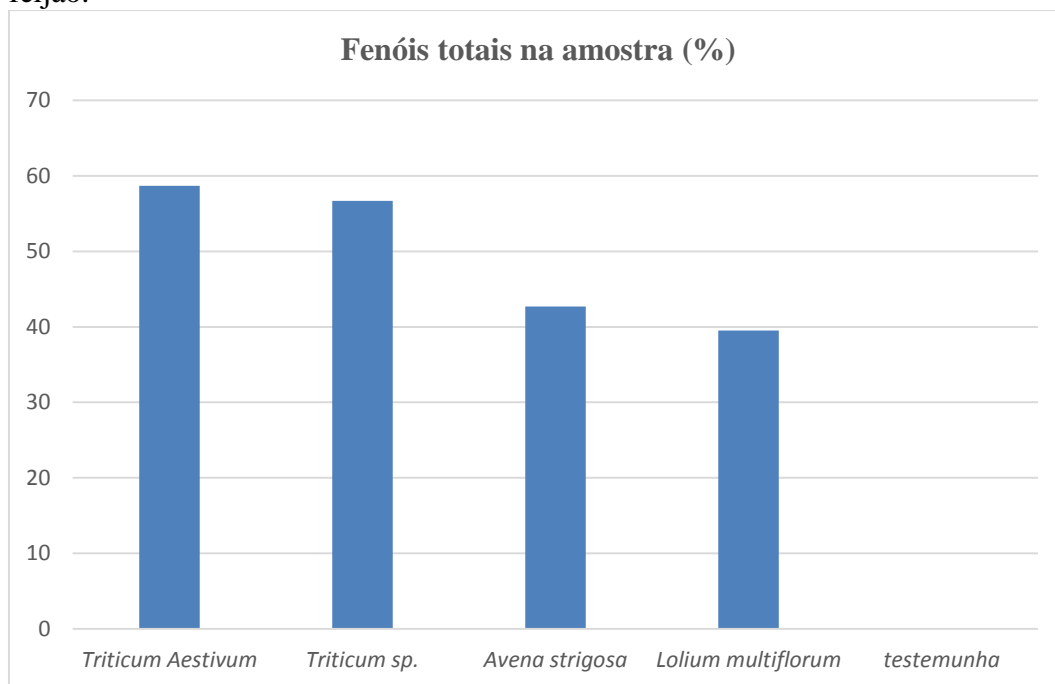
Em experimento realizado por Freitas e Viecelli (2011) sobre a interferência alelopática do azevém na germinação e desenvolvimento inicial de plantas de trigo constatou-

se que o extrato aéreo de azevém, na concentração de 10%, beneficiou o crescimento e o acúmulo de matéria seca da espécie.

Embora tenham sido encontradas influência dos aleloquímicos na germinação de feijão em laboratório, cabe salientar a importância de se realizar estudos à campo, pois segundo Pires e Oliveira (2011) microrganismos presentes no solo podem degradar ácidos fenólicos, ou estes podem sofrer o processo de polimerização, adsorção às partículas do solo, além de terem a atividade e a disponibilidade modificados pelo pH, temperatura, nível de umidade e teor de matéria orgânica do solo.

No gráfico 8 está apresentado os teores de fenóis dos extratos de parte aérea de trigo, triticale, aveia e azevém.

Gráfico 8 - Porcentagem de fenóis totais nos extratos de trigo, triticale, aveia e azevém utilizados como tratamento para umedecer o papel germiteste na germinação das sementes de feijão.



Analisando o gráfico pode-se observar que o extrato de azevém foi o que apresentou menor quantidade de fenóis totais, seguido pelo extrato de aveia, triticale e trigo respectivamente.

Estes resultados confirmam os obtidos nas avaliações fisiológicas, em que o extrato de azevém foi o que menos afetou a germinação e o crescimento inicial das plântulas (gráficos 4; 5; 6 e 7). Por outro lado, os extratos de trigo e triticale que apresentaram maior quantidade de

compostos fenólicos (gráfico 8) foram os extratos que mais interferiram na germinação e no crescimento de plântulas de feijão.

Mira et al (2008), relatam que a atividade biológica dos compostos fenólicos depende primariamente da sua absorção e metabolização, que, por sua vez, está relacionada com a estrutura química, conjugação com outras substâncias, grau de polimerização e solubilidade. Portanto, a grande diversidade estrutural dos compostos fenólicos dificulta enormemente o estudo da biodisponibilidade e dos efeitos fisiológicos que causam, sendo que podem ser produzidos diferentes estruturas de fenóis nos extratos dos tratamentos utilizados e que seria necessário uma análise mais a fundo, com o uso de cromatografia para identificar os fenóis dos extratos e classificá-los de acordo com a sua atividade alelopática.

É importante salientar que todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie, até mesmo na quantidade do metabólito de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles tem sua síntese desencadeada por eventuais ocorrências a que as plantas estão expostas (FERREIRA e AQUILA, 2000), como deficiência nutricional (N, P, K, S) e deficiência hídrica (MARCHESE e FIGUEIRA, 2005).

7. CONCLUSÕES

Com base nos bioensaios realizados, pode-se concluir que tanto exsudatos radiculares como extratos aéreos de trigo e triticales afetam o vigor de sementes de feijão.

Exsudatos radiculares de trigo, triticales, aveia e azevém não afetam a porcentagem de germinação de sementes de feijão.

Extratos aquosos da parte aérea de trigo, triticales afetam a germinação final das sementes.

O azevém é a cultura que menos afeta a germinação e o desenvolvimento das plântulas de feijão.

Os extratos com maior quantidade de fenóis totais são o de trigo, seguido pelo de triticales, aveia e azevém respectivamente.

Dentre os exsudatos radiculares e extratos de parte aérea testados o que teve maior efeito alelopático sobre o vigor de sementes de feijão foi o triticales, seguido pelo trigo, aveia e azevém respectivamente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDAR, H. **Cultivo do feijoeiro comum: Características da cultura.** Embrapa Arroz e Feijão, janeiro de 2003. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>>. Acesso em 27 de maio de 2015.
- ALMEIDA, F.S. **Alelopatia: a defesa das plantas.** Ciência hoje, 11:38-45, 1990.
- BITTENCOURT, H. V. H. et al. **Produtividade de feijão-guará e efeito supressivo de culturas de cobertura de inverno em espontâneas de verão.** Acta Scientiarum Agronomy. Maringá, v.31, n.4, p.689-694, 2009.
- BORTOLINI, M. F.; FORTES, A. M. T., Efeitos alelopáticos sobre a germinação de sementes de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v.26, n.1, p. 5-10, jan./mar. 2005
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para análise de sementes/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Secretaria de defesa agropecuária – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- CARVALHO, W. P. **Plantas de cobertura no controle de infestantes no sistema orgânico de produção.** UFLA, 2012, 184 p. Tese (doutorado). Pós graduação em Agronomia/Fitotecnia, Lavras-MG, 2012
- CONRADO, J., **Efeito alelopático dos extratos da parte aérea de aveia branca (*Avena sativa* L.) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), sobre a germinação e crescimento de plântulas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em laboratório.** 2010. 38 p. Monografia (Agronomia) – UNOCHAPECÓ, Chapecó, SC.
- CRONQUIST, A. Devolution and classification of flowering plants. New York: New York Botanical Garden, 1988. 555 p.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science & Technology** 1(2) p.427-552, 1973
- DUCCA, F.; ZONETTI, P. C., **Efeito alelopático do extrato aquoso de aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) na germinação e desenvolvimento de soja (*Glycine max* L. Merrill).** Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v.1, n.1, p. 101-109, 2008.
- FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, V. 12, p.175-204, 2000.
- FREITAS, C. D.; VIECELLI, C. A., **Interferência alelopática de azevém na germinação e desenvolvimento inicial de plantas de trigo.** Cascavel, v.4, n.3, p.37-46, 2011.
- HICKS, S.K.; WENDT, C.W.; GANNAWAY, J.R. & BAKER, R.B. **Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, emergence and yield.** CropScience, 29:1057-1061, 1989.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), **Censo 2010**, Disponível em <<http://censo2010.ibge.gov.br/pt/noticias-censo?busca=1&id=1&idnoticia=1937&t=pof-20082009-mais-90-populacao-comem-poucas-frutas-legumes-verduras&view=noticia>> Acesso em 03 de maio de 2015.

KALBURTI, K.L. Research on allelopathy in Greece. In: NARWAL, S.S. (Ed.) **Allelopathy Update** Enfield, Science Pub., v.1, p.37-47, 1999.

KRZYZANOWSKI, C. K.; FRANÇA NETO, J.B., **Vigor de sementes**. Informativo ABRATES, v.11, n.3, dezembro, 2001

KRZYZANOWSKI, C. K. et al, **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES, 218 p. 1999.

LIMA, M. A., et al, **Determinação de fenólicos totais, flavonoids e atividade antioxidante da pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* var. *pedulum*) comercializada na cidade de Imperatriz – MA**. VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação (CONNEPI), Palmas, Tocantins, 2012.

MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, p. 176-177, 1962.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M., O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MARTIN, V.L.; MCCOY, E.L. & DICK, W.A. **Allelopathy of crop residues influences corn seed germination and early growth**. *Agronomy Journal*, 82: 555-560, 1990.

MELCHIOR, H.A., Engler's syllabus der pflanzenfamilien. 12. ed. Berlin: GebrüderBornträger, 1964. 666 p.

MILLER, D.A., **Allelopathy in forage crop systems**. *Agron J*, 88:854-859, 1996

MIN AN, et al, **Phytotoxicity of vulpia residues: IV. Dynamics of allelochemicals during decomposition of vulpia residues and their corresponding phytotoxicity**. *Journal of Chemical Ecology*, v 27, n.2, 2001.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Perfil do feijão no Brasil**.2011, Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao/saiba-mais>>. Acesso em 06 de maio de 2015.

MIRA, N. V. M. et al, **Extração, análise e distribuição dos ácidos fenólicos em genótipos pigmentados e não pigmentados de arroz (*Oryza sativa* L.)**, *Ciênc. Tecnol. Aliment*. Campinas, v.28, n.4, P.994-1002, 2008.

MOLISCH, H. **Der EinflusseinerPflanzeauf die andereAllelopathie**. Jena, Fischer. 1937.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R., Aelopatia. In OLIVEIRA Jr. R.S (Eds.), **Biologia e manejo de plantas daninhas**.p.95-124, 2011, Disponível em <<http://omnipax.com.br/livros/2011/BMPD/BMPD-cap5.pdf>> Acesso em 04 de jun. de 2015.

PUTNAM, A.R. Weed allelopathy. In: DUKE, S.O. (ed.) **Weed physiology: reproduction and ecophysiology**. Boca Raton, EUA: CRC press, 1985, p. 131-155.

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2.ed. New York: Academic, 1984. 422p.

SECRETÁRIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO (SEAB); DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL (DERAL), **Feijão-Análise da conjuntura Agropecuária**. Dezembro de 2014. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/feijao_2014_15.pdf> Acesso em 03 de maio de 2015.

SILVA, H. T. Análise da divergência genética do germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) melhorado e tradicional (Crioulo) cultivado no Brasil, e das formas silvestres de origem Centro e Sul Americana. 1999. 111 f. Tese (Doutorado). Pós graduação em Ciências Biológicas Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SILVA, H. T.; COSTA, A. O. **Documentos 156: Caracterização Botânica de espécies silvestres do Gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae)**., Santo Antônio de Goiás-GO, Dezembro de 2003, 40 p. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/doc_156ID-E4XyDjZQO9.pdf> Acesso em 04 de Jun. de 2015.

SOUZA, L.S. et al. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p.657-668, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v24n4/a06v24n4.pdf>>. Acesso em: 06 de maio de 2015.

SZCZEPANSKI, A.J. **Allelopathy as a means of biological control of water weeds**. Aquaticbot, 3:193-197, 1977.

YOKOYAMA, L. P. **Cultivo do feijoeiro comum: Importância econômica**. Embrapa Arroz e Feijão, Janeiro de 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.htm>>. Acesso em 27 de maio de 2015.

9. APÊNDICE A – Imagens

Imagem 1 – Sementes dos tratamentos do bioensaio com exsudatos radiculares



Imagem 2 – Plântulas dos tratamentos que foram descartadas



Imagem 3 – Avaliação do IVPR em sementes de feijão



Imagem 4 – Secagem partes aérea dos tratamentos



Imagem 5 – Trituração de parte aérea em moinho de facas “willye”



Imagem 6 – Solução bruta de parte aérea em incubadora “shaker”.



Imagem 7 – Solução de parte aérea filtrada em gaze



Imagem 8 – Centrífuga Sigma



Imagem 9 – Solução de parte aérea após centrifugação



Imagem 10 – Solução sobrenadante, filtrada em algodão após centrifugação



Imagem 11 – Soluções aéreas prontas, armazenadas em BOD.



Imagem 12 – Disposição das sementes de feijão para realização das avaliações



Imagem 13 – Organização dos rolos de papel para serem levados ao germinador



Imagem 14 – Primeira contagem de germinação em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de triticale



Imagem 15 – Primeira contagem de germinação em sementes submetidas ao tratamento testemunha (água destilada)



Imagem 16 – Primeira contagem de germinação em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de trigo



Imagem 17 – Primeira contagem de germinação em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de azavém



Imagem 18 - Primeira contagem de em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de aveia



Imagem 19 - Avaliação de porcentagem de germinação submetidas ao tratamento com extrato aéreo de trigo



Imagem 20 - Avaliação de porcentagem de Germinação em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de avevém



Imagem 21 - Avaliação de porcentagem de germinação em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de triticale



Imagem 22 - Avaliação de porcentagem de Germinação em sementes submetidas ao Tratamento testemunha (água destilada)



Imagem 23 - Avaliação de porcentagem de germinação em sementes submetidas ao tratamento com extrato aéreo de aveia



Imagem 24 – Plântula normal do tratamento testemunha (359,81 mm)



Imagem 25 – Medida de comprimento de plântula com uso de paquímetro



Imagem 26 – Pesagem de matéria seca de plântulas.

(A) Tratamento com extrato aéreo de trigo

(B) Tratamento com água destilada (testemunha)



Imagem 27 – Extrato aéreo com acetona em agitação

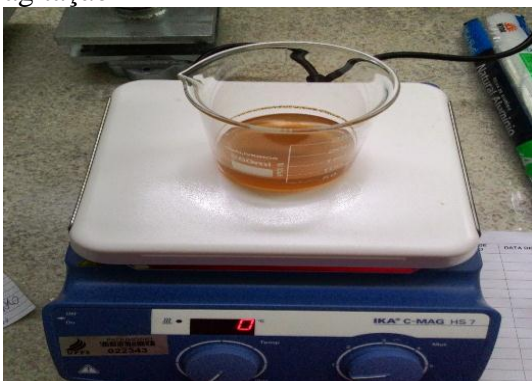


Imagem 28 – Filtragem a vácuo em papel filtro do extrato com acetona



Imagem 29 – Rotoevaporação da acetona contida no extrato



Imagem 30 – Separação do hexano em funil de separação



Imagem 31- Separação do Éter em funil de separação



Imagem 32 – Adição de sulfato de sódio ao extrato etéreo



Imagem 33 – Sulfato de sódio precipitado no extrato etéreo

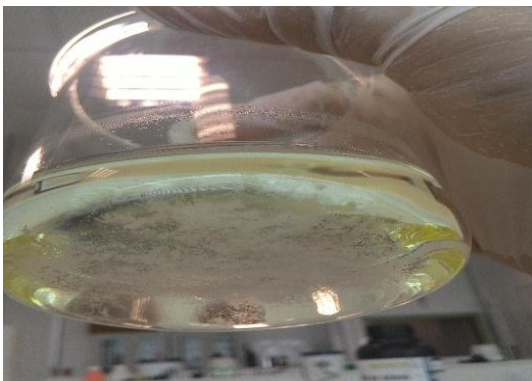


Imagem 34 – Solução restante após rotoevaporação do éter



Imagem 35 – Incubação das amostras em banho-maria



Imagem 36 – Amostras com o reagente Folin após incubação



Imagem 37 – Leitura em espectrofotômetro

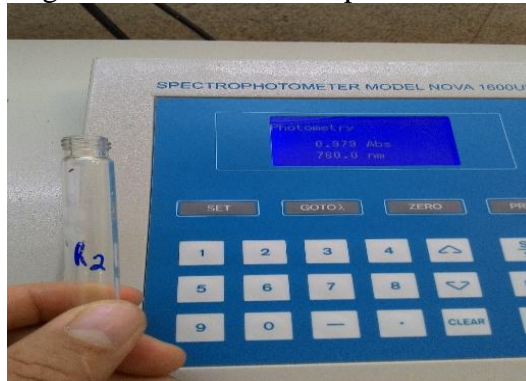
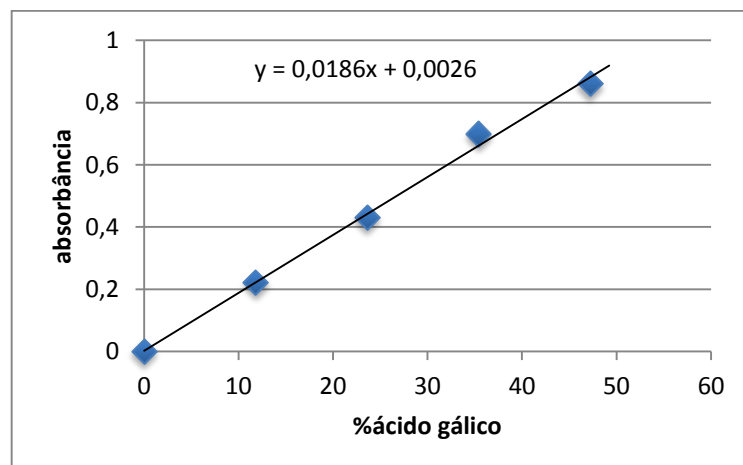


Imagem 38 - Curva de calibração de ácido gálico em porcentagem, com respectivo valor de absorbância e equação da reta utilizada para quantificação dos fenóis da amostra.



10. APÊNDICE B – Tabelas

Tabela 1 – Análise de variância e teste F para o índice de velocidade de protrusão radicular do bioensaio com exsudatos radiculares, com uso do software livre ASSISTAT.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	467.13833	116.78458	9.8291 **
Resíduo	15	178.22185	11.88146	
Total	19	645.36018		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	9.8291	0.0003

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	36.10500	
2	34.58250	
3	44.31000	
4	43.72750	
5	46.77000	

dms = 6.65400

MG = 41.09900

CV% = 8.39

Ponto médio = 38.37500

Tabela 2 - Análise de variância e teste F para o índice de velocidade de germinação do bioensaio com exsudatos radiculares, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	14.30823	3.57706	13.3757 **
Resíduo	15	4.01145	0.26743	
Total	19	18.31968		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	13.3757	<.0001

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	6.96500	
2	6.89750	
3	7.03500	
4	8.44500	
5	8.88750	

dms = 0.99828

MG = 7.64600

CV% = 6.76

Ponto médio = 7.63000

Tabela 3 - Análise de variância e teste F para plântulas normais na primeira contagem do bioensaio com exsudatos radiculares, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	4088.80000	1022.20000	19.2626 **
Resíduo	15	796.00000	53.06667	
Total	19	4884.80000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	19.2626	<.0001

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	40.50000	
2	31.50000	
3	36.50000	
4	64.00000	
5	65.50000	

dms = 14.06237

MG = 47.60000

CV% = 15.30

Ponto médio = 49.00000

Tabela 4 - Análise de variância e teste F para porcentagem de germinação do bioensaio com exsudatos radiculares, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	228.80000	57.20000	1.6037 ns
Resíduo	15	535.00000	35.66667	
Total	19	763.80000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	3.0556	1.6037	0.2248

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	80.00000	
2	82.50000	
3	75.00000	
4	84.00000	
5	84.00000	

dms = 11.52866

MG = 81.10000

CV% = 7.36

Ponto médio = 81.00000

Tabela 5 - Análise de variância e teste F para plântulas normais na primeira contagem do bioensaio com extrato aquoso da parte aérea, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	8787.20000	2196.80000	259.4646 **
Resíduo	15	127.00000	8.46667	
Total	19	8914.20000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	259.4646	<.0001

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	0.00000	
2	0.00000	
3	0.00000	
4	34.50000	
5	49.00000	

dms = 5.61699

MG = 16.70000

Ponto médio = 27.00000

CV% = 17.42

Tabela 6 - Análise de variância e teste F para porcentagem de germinação do bioensaio com extrato aquoso da parte aérea, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	25831.20000	6457.80000	164.7398 **
Resíduo	15	588.00000	39.20000	
Total	19	26419.20000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	164.7398	<.0001

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	24.50000	
2	0.00000	
3	81.50000	
4	84.50000	
5	85.50000	

dms = 12.08623

MG = 55.20000

Ponto médio = 45.00000

CV% = 11.34

Tabela 7 - Análise de variância e teste F para comprimento de plântula do bioensaio com extrato aquoso da parte aérea, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	185179.22537	46294.80634	260.6281 **
Resíduo	15	2664.41755	177.62784	
Total	19	187843.64292		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	260.6281	<.0001

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	118.29000	
2	0.00000	
3	133.65000	
4	202.56750	
5	290.58250	

dms = 25.72783

MG = 149.01800

Ponto médio = 149.55000

CV% = 8.94

Tabela 8 - Análise de variância e teste F para matéria seca de plântula do bioensaio com extrato aquoso da parte aérea, com uso do software livre ASSISTAT

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	28441.63819	7110.40955	355.2540 **
Resíduo	15	300.22507	20.01500	
Total	19	28741.86326		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL	GLR	F-crit	F	p
4	15	4.8932	355.254	<.0001

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	50.93975	
2	0.00000	
3	73.14250	
4	100.73500	
5	101.67250	

dms = 8.63626

MG = 65.29795

Ponto médio = 54.85000

CV% = 6.85