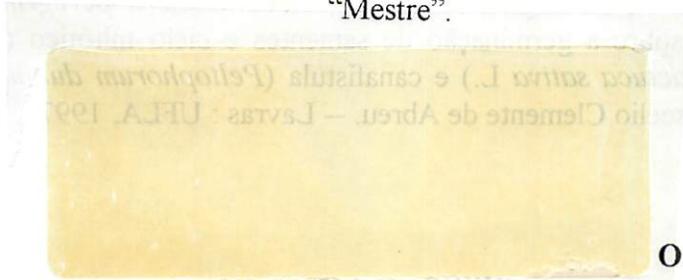


JUSCÉLIO CLEMENTE DE ABREU

POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ANGICO-VERMELHO (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.): EFEITOS SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CICLO MITÓTICO DE PLÂNTULAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".



Orientadora

Prof.^a Dr.^a LISETE CHAMMA DAVIDE

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRAS
1997

**Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA**

Abreu, Juscélio Clemente de

Potencial alelopático do angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.), : efeitos sobre a germinação de sementes e ciclo mitótico de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) / Juscélio Clemente de Abreu. -- Lavras : UFLA, 1997.

55 p. : il.

Orientador: Lisete Chamma Davide.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Alelopatia. 2. Angico-vermelho. 3. Semente - Germinação. 4. Alface.
5. Canafistula. 6. Sinecologia. 7. Planta - Melhoramento. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título

CCD-581.524

JUSCÉLIO CLEMENTE DE ABREU

**POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ANGICO-VERMELHO (*Anadenanthera peregrina* (L.)
Speg.): EFEITOS SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CICLO MITÓTICO DE
PLÂNTULAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E CANAFÍSTULA
(*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

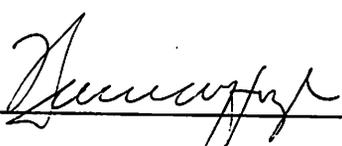
APROVADA em 07 de março de 1997.



Prof. Dr. Antônio Cláudio Davide



Prof.^a .Dr. Eliana Regina Forni-Martins



Prof. Dr. Itmar Ferreira de Souza



Prof. Dr.^a Lisete Chamma Davide
(Orientadora)

Aos meus pais, Sebastião (Tito) e Elvira.

A todas as pessoas que estiveram envolvidas direta e indiretamente.

Ofereço

À minha querida filha Laura,

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por dar-me força nesta conquista.

Aos meus pais pelo apoio de incentivo para sempre buscar mais.

Aos meus irmãos Juvenal e Viviane.

À minha ex-esposa e amiga Fabiana.

À Universidade Federal de Lavras e ao CNPq.

À orientadora Lisete Chamma Davide pelos ensinamentos passados, pela amizade e pela brilhante orientação.

Ao co-orientador Antônio Cláudio Davide pela orientação e sugestões.

Aos amigos Ana Hortência, Ivan, Renata, Ângela, Maria Gabriela e Claudomiro pelo apoio na elaboração desta dissertação, amizade e dedicação.

Aos amigos Rupert e Marcelo pela ajuda durante a montagem do experimento.

A todos os colegas e professores do curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas.

Ao Departamento de Ciências Florestais - UFLA, pela utilização dos seus Laboratórios.

Às funcionárias do Laboratório de Semente Florestais, Olívia e Rosângela.

Ao meu grande amigo Dr. Francisco Dias Nogueira pelo incentivo e ensinamentos transmitidos.

A todas as pessoas que sempre me desejaram o bem.

SUMÁRIO

página

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	x
SUMMARY	xi
CAPÍTULO 1	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
1.2.1 Determinação de potencialidades alelopáticas	5
1.2.2 Liberação e mecanismo de ação das substâncias alelopáticas	7
1.2.2.1 Liberação	7
1.2.2.2 Mecanismo de ação	8
1.2.3 A determinação das potencialidades alelopáticas em testes de germinação	9
1.2.4 Efeitos de substâncias sobre a divisão celular	10
1.2.5 Descrição das espécies utilizadas neste trabalho	13
1.2.5.1 Angico-vermelho (<i>Anadenanthera peregrina</i> (L.) Speg)	13
1.2.5.2 Canafístula (<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.)	14
CAPÍTULO 2.	15
POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ANGICO-VERMELHO (<i>Anadenanthera peregrina</i> (L.) Speg.): EFEITOS SOBRE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE RAIZ E HIPOCÓTILO DE ALFACE (<i>Lactuca sativa</i> L.) E CANAFÍSTULA (<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.)	15

2.1 INTRODUÇÃO	15
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	16
2.2.1 Coleta e preparo das folhas	16
2.2.2 Obtenção e aplicação dos extratos aquosos	17
2.2.3 Análise Estatística	19
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
2.4 CONCLUSÕES	33
CAPÍTULO 3	34
POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ANGICO-VERMELHO (<i>Anadenanthera peregrina</i> (L.) Speg.): EFEITO SOBRE O CICLO MITÓTICO EM PONTAS DE RAÍZES DE ALFACE (<i>Lactuca sativa</i> L. cv. Babá) E CANAFÍSTULA (<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.).....	34
3.1 INTRODUÇÃO	34
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.2.1 Coleta e preparo das folhas	35
3.2.2 Obtenção e aplicação dos extratos aquosos	36
3.2.3 Análise citogenética	36
3.2.4 Análise Estatística	37
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.4 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICE	51

LISTA DE TABELAS

TABELA	página
CAPÍTULO 2	
1	Resumo das análises de variância para os valores de germinação (GERM 1 e 2) e IVG (IVG 1 e 2) de sementes de alface, de acordo com o conceito botânico de germinação (1) e com o conceito utilizado em tecnologia de sementes para germinação (2). UFLA, Lavras, 1997.....
19	
2	Valores médios de germinação e do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface, de acordo com o conceito da tecnologia de sementes, submetidas aos extratos aquosos de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.....
21	
3	Resumo das análise de variância para os valores de comprimento de raiz e comprimento de hipocótilo de alface. UFLA, Lavras, 1997.....
22	
4	Resumo das análise de variância para os valores de germinação (GERM), IVG, comprimento de raiz (CR.), comprimento de hipocótilo (CH.) em canafistula. UFLA, Lavras, 1997.....
29	
5	Valores médios do comprimento de raiz e do hipocótilo de canafistula submetidos ao extrato de folhas de mudas. UFLA, Lavras, 1997.....
31	

CAPÍTULO 3

- 1 Resumo das análises de variância para os valores de índice mitótico (IMT), índice de prófase (IP), índice de metáfase (IM), índice de anáfase (IA) e índice de telófase (IT) em células meristemáticas de raízes de alface submetidas aos extratos de folhas de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997..... 38
- 2 Resumo das análises de variância para os valores de índice mitótico (IMT), índice de prófase (IP), índice de metáfase (IM), índice de anáfase (IA) e índice de telófase (IT) em células meristemáticas de raízes de canafistula submetidas aos extratos de folhas de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997..... 39
- 3 Índice mitótico (IMT) e das fases da mitose (prófase - IP, metáfase - IM, anáfase - IA, telófase - IT) em células meristemáticas de raízes de alface submetidas às diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997..... 40
- 4 Índice mitótico (IMT) e das fases da mitose (prófase - IP, metáfase - IM, anáfase - IA, telófase - IT) em células meristemáticas de raízes de canafistula (*P. dubium* (Spreng.) Taub.) submetidas às diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997..... 40
- 5 Anomalias no ciclo mitótico em células meristemáticas de raízes de alface submetidas às diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997..... 42
- 6 Anomalias no ciclo mitótico em células meristemática de raízes de canafistula (*P. dubium* (Spreng.) Taub.) submetidas às diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.) UFLA, Lavras, 1997..... 42

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	página
CAPÍTULO 2	
1	Efeito de extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface, de acordo com o conceito botânico de germinação. UFLA, Lavras, 1997..... 23
2	Efeito dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre o comprimento das raízes de alface. UFLA, Lavras, 1997..... 23
3	Efeito dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre o comprimento do hipocótilo de alface. UFLA, Lavras, 1997..... 24
4	Plântulas de alface submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas de mudas de angico-vermelho. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 % ; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997..... 25
5	Plântulas de alface submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas adultas de angico-vermelho. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 % ; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997..... 26
6	Plântulas de canafistula submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas de mudas de angico-vermelho. a - testemunha; b, c, d, e -

	extratos a 2 % ; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997.....	27
7	Plântulas de canafistula submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas adultas de angico-vermelho. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 % ; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997.....	28
8	Efeito dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) de canafistula. UFLA, Lavras, 1997.....	30
9	Comprimento de raiz de canafistula submetida a extrato aquoso de folhas adultas de angico-vermelho . UFLA, Lavras, 1997.....	31
10	Comprimento de hipocótilo de canafistula submetido ao extrato aquoso de folhas adultas de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.....	32

CAPÍTULO 3

1	Anomalias em células meristemáticas de raízes de alface (a) e canafistula (b - f) submetidas aos extratos foliares de angico-vermelho. a - núcleos fragmentados; b - metáfase colchicínica; c - metáfase com cromossomos pegajosos; d - metáfase lateral com cromossomos desprendidos; e - pontes e fragmentos em anáfase e telófase; f - telófase com cromossomos condensados. Aumento total: 1400 X. UFLA, Lavras, 1997.....	43
---	--	----

RESUMO

ABREU, Juscélio Clemente de. **Potencial alelopático do angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.): efeitos sobre a germinação de sementes e ciclo mitótico de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)**. Lavras: UFLA, 1997. 55 p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

Para avaliar o potencial alelopático do angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.) foram preparados extratos aquosos de matéria seca (p/v) de folhas de mudas e de folhas adultas nas concentrações de 0 %, 2 % , 4 %, 8 % e 16 %, os quais foram aplicados sobre sementes de alface (*L. sativa* L. cv. babá) e canafístula (*P. dubium* (Spreng.) Taub.). Foram feitas avaliações com relação à germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de raiz e do hipocótilo e análise citogenética da região meristemática das raízes. Verificou-se que os extratos aquosos foliares do angico-vermelho (folha de muda e folha adulta) inibiram todas as variáveis analisadas, principalmente nas concentrações mais altas dos extratos, apesar de ter sido observado um pequeno estímulo na concentração a 2 % na germinação, IVG e comprimento do hipocótilo das plântulas receptoras. Quanto à análise citogenética da região meristemática das raízes das plântulas receptoras, foram observadas algumas anormalidades, tais como: metáfases colchicínicas, metáfases com cromossomos pegajosos, metáfases laterais com cromossomos desprendidos, pontes e fragmentos em anáfases e telófases, núcleos interfásicos fragmentados e telófases com cromossomos condensados. Em relação à fitotoxicidade dos extratos aquosos sobre as plântulas de alface, observou-se que os efeitos fitotóxicos dos extratos aquosos foram tão maiores quanto maior foi a concentração dos extratos.

* Orientadora: Lisete Chamma Davide. Membros da banca: Antônio Cláudio Davide, Itamar Ferreira de Souza, Eliana Regina Forni-Martins

SUMMARY

ALLELOPATHIC POTENTIAL OF “ANGICO-VERMELHO” (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.) : EFFECTS UPON SEED GERMINATION AND MITOTIC CYCLE OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) AND “CANAFÍSTULA” (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.).

To evaluate the allelopathic potential of “angico-vermelho”, water extracts seedlings and adult plant leaves at concentrations of 0%, 2% , 4%, 8%, and 16% were prepared, and applied on lettuce and “canafistula” seeds. Evaluations were performed for germination, GRI (germination rate index), of root and hypocotyl length, and cytogenetical analysis of meristematic region of roots. It was found that the leaves extracts of “angico-vermelho” inhibited all the analysed characteristics, mainly at the highest concentrations of the extracts, although a small stimulus at the 2% concentration on germination, GRI and hypocotyl length was observed. It was observed reduction in number of dividing cells, reduced mitotic index and abnormalities such as colchicinic metaphases, metaphases with sticky chromossomes, side metaphases with unconnected chromossomes, bridges and fragments at anaphase and telophase, fragmented interphasic nuclei and telophases with condensed chromossomes. It was also observed that morphological changes in lettuce seedlings was extract concentration dependent.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

O termo alelopatia pode ser entendido como qualquer efeito causado por um ser vivo, de forma benéfica ou prejudicial sobre outro, através da liberação de substâncias químicas e/ou produtos secundários por ele elaborados.

São nas plantas que os produtos secundários se encontram com maior frequência e em maior número (Almeida, 1988).

Vários autores citados por Corrêa (1996) têm determinado que os compostos alelopáticos são liberados das plantas pela decomposição de folhas e caules por processos físicos/químicos ou biológicos, por exsudação direta no solo pelas raízes, ou através da deterioração de raízes mortas, por volatilização, e podem, ainda, ser lixiviados das superfícies das plantas pela chuva ou orvalho.

Nas plantas, as substâncias alelopáticas desempenham as mais diversas funções. São responsáveis pela prevenção da decomposição das sementes, interferem na sua dormência e influenciam as relações com outras plantas, com microrganismos, insetos e até animais superiores, incluindo o homem (Durigan e Almeida, 1993). Poucos são os estudos sobre alelopatia em espécies florestais, principalmente envolvendo espécies nativas. O conhecimento das potencialidades alelopáticas pode contribuir para uma melhor escolha e manejo das espécies a serem utilizadas em reflorestamentos mistos, como aqueles destinados à recomposição de matas ciliares, onde procura-se a diversidade de espécies e a rápida cobertura do solo. Assim sendo, a ocorrência de interações alelopáticas poderá inibir a expressão e o crescimento das mudas implantadas, bem como aquelas do banco de sementes.

Por apresentar uma distribuição nacional e rápido crescimento, o angico-vermelho tem sido muito utilizado em reflorestamento. Porém, observações feitas a nível de campo têm demonstrado que o seu bom desempenho pode ser devido ao seu potencial alelopático.

Indicações indiretas das potencialidades alelopáticas desta espécie foram encontradas. Testes bioquímicos revelaram que ele é rico em alcalóides (Fellows e Bell, 1971) e tanino (Carvalho, 1994) e, em condições naturais, o angico-vermelho apresenta-se em grupos homogêneos (Lorenzi, 1992).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as potencialidades alelopáticas do angico-vermelho sobre a canafistula, uma espécie florestal nativa normalmente utilizada em reflorestamentos. Como planta indicadora do efeito alelopático do angico-vermelho, utilizou-se a alfaca.

1.2 REFERENCIAL TEÓRICO

Os seres vivos elaboram substâncias químicas que, liberadas no ambiente, podem influenciar de modo benéfico ou prejudicial outros elementos da comunidade (Almeida 1991). Essa influência é dependente das concentrações dessas substâncias químicas no meio.

O termo alelopatia foi criado para referir-se a tal fenômeno, sendo que, em plantas, os termos mais comumente empregados para os compostos químicos liberados pelos organismos são: substâncias alelopáticas, aleloquímicos ou produtos secundários, fitotoxinas e fitoinibidores. Porém, alguns autores como Griimnu (1955), citado por Almeida (1988) sugerem uma terminologia específica para os aleloquímicos, levando em consideração a natureza do agente doador e receptor desses compostos. Griimnu (1955), citado por Almeida (1988), propôs assim, o termo **antibiótico** para as substâncias produzidas por microrganismos e que afetam outros microrganismos; **marasminos** para os produzidos por plantas superiores e que atuam sobre microrganismos; **fitocidas** para o caso contrário, dos elaborados por microrganismos com efeito sobre plantas, e **colinos** quando, tanto o doador como o receptor, são plantas.

Segundo Putnam (1985), essa classificação é confusa e sem base descritiva e ele considera como **fitoinibidoras** as substâncias alelopáticas produzidas por plantas superiores e que inibem outras plantas, e **saproinibidoras** as de origem microbiana e tóxicas para plantas superiores, em substituição por colinos e fitocidas, respectivamente.

Alelopatia é a interação fisiológica e bioquímica entre indivíduos, os quais se contactam no espaço (interação alelopática) ou no tempo (ação pós-alelopática). É considerado o mais importante fator do crescimento e renovação de plantas superiores em comunidades. Esses processos concedem uma participação especial de substâncias secundárias (aleloquímicos), as quais estão sempre presentes em conjunto com as substâncias orgânicas do solo. A nível do organismo da planta, o aleloquímico atua como um regulador exógeno do crescimento e

desenvolvimento, e a nível de micropopulação de planta, atua como regulador da renovação (Grakhov e Didyk, 1996).

Vários autores relatam que uma das principais funções das substâncias alelopáticas seja a proteção. Para Lovett (1982), apesar das plantas serem autotróficas, são imóveis, não podendo escapar do ataque de seus inimigos. É, portanto, compreensível que com a escassez de outras alternativas, utilizem com maior intensidade do que outros organismos, a estratégia dos produtos químicos para sua defesa.

Segundo Whitaker (1970), os efeitos alelopáticos apresentam uma influência significativa sobre a sucessão vegetal e, conseqüentemente, sobre a composição de espécies em comunidades estáveis. Interações químicas afetam a diversidade de espécies em comunidades naturais nos dois sentidos; uma dominância forte e intensos efeitos alelopáticos contribuem para uma baixa diversidade de espécies em algumas comunidades, enquanto que a variedade de acomodações químicas constitui parte da base (como aspecto da diferenciação de nichos) da alta diversidade de espécies, em outras.

A síntese de aleloquímicos, em geral, varia de acordo com as condições edafoclimáticas e quando em condições de estresse para planta, resultam no aumento da concentração de substâncias alelopáticas. Segundo Mc Clure (1975), a síntese não é realizada por grupos especiais de células, nem continuamente e tampouco se distribuem por todo o organismo ou se acumulam nos mesmos órgãos. Para Shakhidoyator et al. (1996) é conhecido que as plantas sintetizam um grande número de compostos e estes são representados por grupos de substâncias, variando em estrutura e propriedades. A complicada interação entre as substâncias nas plantas cria o balanço de hormônios, os quais são específicos para cada organismo.

A identificação na natureza dos aleloquímicos tem sido procurada por muitos pesquisadores em todo o mundo, e dentro deste esforço, visam a isolar e conhecer suas estruturas químicas. A dificuldade prende-se ao fato de que um mesmo organismo produz vários aleloquímicos e, entre eles, desencadeiam-se diversas interações, sendo que para Almeida (1988) torna-se difícil identificar a causa e o efeito de cada um.

Carvalho (1993) menciona que, ao longo dos anos, várias pesquisas têm comprovado que as plantas produzem substâncias químicas com propriedades alelopáticas afetando ou não algumas espécies de plantas (especificidade). Tais substâncias são encontradas distribuídas em

concentrações variadas nas diferentes partes da planta e durante o seu ciclo de vida (periodicidade).

Na natureza, a alelopatia confunde-se com outras interferências existentes entre plantas como competição, e por isso, alguns autores colocam sua existência em dúvida. Os dois conceitos, porém, são bastantes distintos. Enquanto 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, os compostos secundários no ambiente (Putnam e Duke, 1978; Gomide, 1993).

1.2.1 Determinação de potencialidades alelopáticas

O potencial alelopático de uma espécie é determinado através de testes laboratoriais, nos quais os efeitos alelopáticos de uma espécie são literalmente isolados das demais interferências, e até mesmo das toxinas de microrganismos (Gomide, 1993).

Putnam e Duke (1978) descrevem que na literatura sobre alelopatia, existe uma grande diversidade de técnicas para determinar inibidores que podem funcionar como reguladores de germinação de sementes, crescimento e desenvolvimento de plantas.

Citando vários autores, Putnam e Duke (1978) relacionam que dentre os métodos de extração, o mais comumente usado é a extração por água fria, por simples embebição de matéria seca ou matéria fresca. Outros casos de extração com água fria também são descritos, e em todas as técnicas de extração com água fria, os autores concluem que seus métodos simulam a liberação natural dos compostos por ação da chuva sobre o “standig” ou parte de material caído.

Também são muito utilizadas extrações de substâncias de plantas, do órgão que se quer estudar, utilizando-se água quente, autoclavagem ou solventes orgânicos.

Vários autores citados por Putnam e Duke (1978), relatam que partes de plantas também têm sido trituradas em solventes aquosos e não-aquosos para extração, mas resultados com esses métodos são muitas vezes criticados por destruir a integridade celular, porque podem levar à liberação de substâncias ricas em açúcares, enzimas, compostos nitrogenados, ácidos orgânicos, sais, aminoácidos, nucleotídeos e ácidos nucléicos. Essas substâncias têm sido citadas como tóxicas para o crescimento e não ocorrem em condições naturais (Putnam e Duke, 1978).

Porém, para Pratley e Haig (1996), o conceito de alelopatia não é aceito universalmente e, algumas vezes, apresenta controvérsias. A razão disso é que muitos experimentos sobre alelopatia não seguem um protocolo confirmatório. Os autores sugerem, então, que os testes sejam feitos seguindo um protocolo derivado da própria definição de alelopatia, usando teste de germinação, no qual os efeitos tóxicos da planta doadora são testados sobre uma planta receptora; análises químicas devem ser feitas para identificar, caracterizar e quantificar os aleloquímicos e, subseqüentemente, testar suas atividades biológicas em biotestes.

A maior dificuldade no estudo dos aleloquímicos é a falta de conhecimento para se identificar as substâncias químicas envolvidas na alelopatia (Einhelling, 1995).

Na literatura sobre alelopatia, um grande número de bioensaios diferentes tem sido feito, mas muitos relacionados com a germinação. Segundo Reigosa et al. (1996), embora a importância ecológica da germinação para o estabelecimento das espécies não possa ser subestimada, muitas vezes o efeito dos aleloquímicos mensurados unicamente em laboratórios, revelam uma certa demora na germinação. Essa demora não é necessariamente mortal para a planta receptora, e este fato deve ser discutido quando se considera a extrapolação para a condição natural. Além disso, não existe convenção geral sobre um padrão de bioensaios.

Apesar de ser uma ciência nova, a determinação de técnicas bem definidas, tanto laboratoriais como de campo, se faz necessária para se testar as potencialidades alelopáticas das plantas doadoras, para se evitar erros de avaliações e chegar a conclusões que não condizem com a realidade.

Weidenhamer (1996) argumenta que o desenvolvimento de metodologias de bioensaios, que prove as evidências da alelopatia, excluindo outros mecanismos de interferência, tem sido problemático. Porém, novas estratégias de bioensaios baseadas no fenômeno de densidade-dependente do efeito fitotóxico estão sendo realizadas, tais como, a diferença na magnitude da inibição observada, quando as plantas estão crescendo em diferentes densidades no solo que contém toxinas. Plantas que crescem em menor densidade apresentam grande quantidade de toxinas avaliadas por planta. Ao contrário, plantas que crescem em densidade elevada, a toxina é fragmentada e diluída entre muitas plantas, de modo que cada uma tenha doses pequenas. A redução do crescimento pode ocorrer na densidade menor de plantas, mas não na densidade elevada, esse é um resultado que não é compatível com as hipóteses de recursos de competição.

Bioensaios designados para detectar densidade-dependente do efeito fitotóxico, promovem um meio promissor para distinguir os recursos de competição e interferência alelopática. A análise da relação rendimento-densidade pode também servir como uma proveitosa ferramenta para distinguir alternativas entre os mecanismos de interferência de plantas (Weidenhamer, 1996).

1.2.2. Liberação e mecanismo de ação das substâncias alelopáticas

1.2.2.1 Liberação

Tukey (1969) considera que as substâncias alelopáticas são liberadas pelas plantas no ambiente, quando: i) as folhas ou outras partes da planta caem no solo e podem ser decompostas pelas condições climáticas e por microrganismos, liberando substâncias alelopáticas que podem influenciar diretamente as espécies adjacentes ou, indiretamente, quando alteradas quimicamente durante o processo de decomposição, dando origem a produtos secundários que podem ser efetivos; ii) quando há liberação de substâncias voláteis, que podem afetar o crescimento das plantas; iii) quando são exudadas diretamente pelas raízes, dentro da rizosfera, influenciando, direta ou indiretamente, na ação de microrganismos e nas interações planta a planta; iv) quando compostos orgânicos e inorgânicos são lixiviados pela ação da chuva ou orvalho.

Wiergarde e Jutzi (1996) argumentam que na literatura existem duas formas de alelopatia em plantas: a alelopatia resultante geralmente da decomposição de material no solo e a alelopatia que se origina do aleloquímico existente na planta.

As plantas têm capacidade de produzir aleloquímicos em todos os seus órgãos, se bem que, num mesmo indivíduo, a natureza química e a quantidade não sejam iguais em todos eles (Almeida, 1988). Porém, muito pouco se conhece sobre o mecanismo celular envolvido na liberação do aleloquímico em tecidos vivos, e muito pouco também se conhece sobre o modo de regulação ou influência do ambiente neste processo, sendo que essa área demonstra ser um foco para investigação (Einhellig, 1995).

A liberação das substâncias alelopáticas de resíduos vegetais em decomposição distribui-se de forma desuniforme no solo, concentrando-se nas proximidades dos resíduos. Assim,

a extensão do efeito das substâncias alelopáticas é dependente do maior ou menor contato entre o sistema radicular e os fragmentos dos resíduos vegetais (Patrick, 1971).

As substâncias alelopáticas liberadas podem apresentar tanto efeitos inibitórios como estimulantes do crescimento. Rice (1979) relata que os efeitos benéficos não devem ser omitidos do conceito de alelopatia. Khailov (1974), citado por Rice (1979), demonstrou que os efeitos de um dado composto químico podem ser inibidores ou estimulantes, dependendo da concentração do mesmo no ambiente.

1.2.2.2 Mecanismo de ação

Estudos feitos demonstram que os aleloquímicos não têm mecanismos comuns de ação devido a sua larga diversidade de estrutura molecular. Com poucas exceções, o alvo da molécula com a qual um composto interfere com a fisiologia e crescimento é desconhecido. Muitos exemplos de ação de aleloquímicos têm surgido, incluindo perturbações da membrana, fotossíntese, respiração, atividade de fitohormônios, ciclo de carbono e estruturas celulares (Einhellig, 1996).

A forma como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores, mas o processo ainda se encontra pouco esclarecido. As funções que afetam o mecanismo de atuação são muito similares às dos herbicidas. Tal como nestes, a dificuldade de se entender o processo está no fato de que, na maior parte dos casos, afetam mais de uma função e provocam efeitos colaterais difíceis de serem distinguidos dos principais (Almeida, 1988).

Para Moreira (1979), citado por Durigan e Almeida (1993), se a identificação das substâncias alelopáticas é deficiente, o conhecimento do seu modo de atuação é ainda menor. Surge, ainda, a dúvida quanto ao fato de certos efeitos observados serem causados diretamente pelas substância tóxicas ou constituírem efeitos secundários.

De maneira geral, vários autores relatam que os mecanismos de ação dos aleloquímicos estão envolvidos com processos fisiológicos na planta tais como os citados por Rodrigues, Rodrigues e Reis (1992): inibição da germinação e do crescimento, pois interferem na divisão celular; alteração da permeabilidade de membranas; alteração na ativação de enzimas e na

produção de hormônios na planta. Outros aleloquímicos, como os ácidos fenólicos chegam a inibir absorção de fósforo e potássio.

Os mesmos autores ainda relatam que, via de regra, as fitotoxinas exercem três tipos de efeitos principais sobre as plantas: inibição da germinação e do crescimento de plântulas e inibição do desenvolvimento de microrganismos, tanto os de vida livre no solo, como os que vivem em simbiose com as plantas.

Uma das grandes dificuldades no conhecimento sobre atividade dos aleloquímicos é uma explicação para a diferença na sensibilidade das espécies para os compostos. Uma grande quantidade de sementes ou biomassa de plântulas pode explicar como algumas espécies são mais tolerantes do que outras com poucas sementes ou biomassa, embora o mecanismo fisiológico, o qual poderia explicar as diferenças na sensibilidade, raramente tenha sido investigado (Einhellig, 1995).

A principal função dos produtos secundários ou alelopáticos é a proteção. A sua ação não é muito específica, podendo uma mesma substância desempenhar várias funções, dependendo mais da concentração, translocação e destoxicação, do que da própria composição química. Por outro lado, um composto que é tóxico para uma dada espécie, pode ser inócuo para outra, mesmo estando com esta estreitamente relacionada (Putnam e Duke, 1978).

1.2.3 A determinação das potencialidades alelopáticas em testes de germinação

Os testes de germinação constituem a metodologia mais comumente encontrada na literatura como avaliador dos efeitos alelopáticos. Através desses, os autores têm inferido sobre as potencialidades alelopáticas das mais diversas plantas. Porém, vários autores afirmam que alguns cuidados devem ser tomados ao adotar-se esta metodologia para testar a potencialidade alelopática de uma dada espécie, tais como: medições de pH, e principalmente medições do potencial osmótico dos extratos testados. O potencial osmótico pode influenciar a germinação da planta receptora, atrasando, reduzindo ou mesmo evitando a germinação de sementes, e também pode afetar o estabelecimento de plântulas. Porém, os extratos só apresentam problemas de potencial osmótico, quando estiverem em altas concentrações*.

* Informação pessoal - Prof. Itamar Ferreira de Souza (DAG-UFLA)

Outro fator a ser levado em conta nos testes de germinação é o número de sementes por parcela. Um número ideal de sementes e com espaçamento adequado, pode minimizar a competição e contaminação entre sementes e plântulas em desenvolvimento (Brasil, 1992).

Vários autores concordam que não se pode fazer extrapolação direta dos resultados encontrados em laboratório para o campo (Corrêa, 1996), sendo que é importante lembrar ainda, que os testes de laboratório e de casa de vegetação têm que ser tratados com cautela, porque no campo, um número grande de compostos orgânicos pode ser lixiviado do solo ou decomposto pela ação de microrganismo (Rodrigues, Rodrigues e Reis, 1992). Outro ponto a ser comentado é a escolha das plantas-teste. De acordo com a literatura, as plantas consideradas mais sensíveis aos efeitos alelopáticos são a planta de alface e o tomateiro. Várias literaturas consultadas têm demonstrado que as espécies dicotiledôneas tendem a ser mais sensíveis aos aleloquímicos do que as monocotiledôneas (Heisey, 1996; Noguchi-Kato, Mizutani e Hasegawa, 1994).

Stevens Jr. E Tang (1987), citado por Corrêa (1996), descreveram que exudatos radiculares de *Bidens pilosa* reduziram significativamente o crescimento das plântulas de alface, feijão, milho e sorgo. As quatro espécies variaram, entretanto, com relação à sensibilidade aos exudatos hidrofóbicos e as dicotiledôneas foram mais sensíveis do que as monocotiledôneas. Alface e feijão apresentaram diferenças significativas em relação ao controle em cada dado amostrado. As duas monocotiledôneas, milho e sorgo não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos e controle 5 dias após a semeadura; porém, apresentaram diferenças num estágio posterior do experimento. Os autores sugeriram que a ausência de resposta no milho durante o desenvolvimento inicial da plântula pode ter sido devido à quantidade de reserva presente no endosperma, a qual poderia ter propiciado nutrientes por um longo período de tempo, maior que para outras espécies. Nesse trabalho, foi atribuído ao processo de absorção de nutrientes, o modo de ação desses aleloquímicos. Notou-se, ainda, que o sorgo que tem uma semente menor, respondeu menos que o feijão ou alface, indicando a ausência de sensibilidade das duas monocotiledôneas.

1.2.4 Efeitos de substâncias sobre a divisão celular

Substâncias que afetam a divisão comprometem o crescimento e o desenvolvimento dos seres vivos.

A inibição do crescimento das plantas, sob a ação de compostos químicos, pode ser indireta ou direta, ou ambas, simultaneamente (Deuber, 1992). Esse autor descreve que a inibição indireta resulta da redução da divisão celular, da interferência na síntese de proteínas, enzimas, ácidos nucleicos e hormônios, como o AIA, alterações morfológicas, bloqueio do fluxo da seiva, etc. Já a inibição direta é resultado da ação do composto químico sobre o alongamento celular. Esse alongamento ocorre em função do aumento da plasticidade da parede celular. Com a alteração da plasticidade, as paredes celulares podem deixar de se distender, ou apresentarem distensões maiores que o normal e desuniformes dentro dos tecidos, facilitando o seu alongamento, no todo ou em partes, ocasionando células grandes, disformes, diferentes do padrão do tecido que compõe com as paredes celulares mais delgadas. Esse mecanismo de ação pode estar ou não associado à inibição da divisão do núcleo (cariocinese) ou à divisão da célula (citocinese).

Vários trabalhos têm demonstrado o efeito de substâncias sobre a divisão celular. Hallak (1995) demonstrou que o efeito de Sorgoleone (exudato de raízes de sorgo) sobre plântulas de feijão de 7 dias, em concentrações de 0,01 mM e acima, reduziu o número de células nas fases de prófase, metáfase e anáfase, quando comparadas à testemunha. Entre as células em metáfase, a autora observou metáfases colchicínicas, células poliplóides, pontes e fragmentos em anáfase e telófase.

Shehad (1980), estudando o efeito de alguns álcoois alifáticos e álcoois extraídos de *Euphoria granulata* e *Pulicaria crispa*, demonstrou que todos os álcoois usados têm um potente efeito antimitótico sobre células de raízes de cebola, verificando, também, determinadas anomalias na divisão celular, tais como: cromossomos pegajosos, distúrbios na metáfase (pseudofusos, redução somática e não orientação dos cromossomos), fuso multipolar, cromossomos atrasados, pontes, metáfases e anáfases C, cromossomos contraídos e células multinucleadas.

Outros autores também têm demonstrado o efeito de álcoois alifáticos sobre o índice mitótico e sobre aberrações cromossômicas (Bart Helmess, 1957; Bobak, 1966).

O efeito de raios gama, etil-metano-sulfato (EMS) e N-nitroso N-metil urea (NMU), foi verificado sobre a frequência de quiasma em dois cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. (CO.2 e Pusa Ruby). Todos os mutagênicos testados diminuíram a frequência de quiasma, quando comparados com o controle. Especialmente na cultivar CO.2, raios gamas causaram uma grande

redução na frequência de quiasmas, mais do que as substâncias NMU e EMS. A redução da frequência de quiasmas pode ser atribuída a fenômenos naturais e a potencial mutagênico, como as mudanças na complexa estrutura ou na natureza dos genes responsáveis pela formação de quiasmas (Jayabalân e Rao, 1987).

Pesquisas sobre os efeitos fisiológicos do ácido ascórbico em plantas têm demonstrado que a proporção da progressão de células meristemáticas de raízes no ciclo celular, pode ser observada pelo nível de ácido ascórbico celular. Quando o conteúdo de ácido ascórbico de células ativamente proliferando diminui, a divisão celular pára no período G1, mas pode ser restabelecida por suplemento exógeno de ácido ascórbico (Liso, 1984, citado por Arrigoni et al. 1989). Arrigoni et al. (1989) sugerem a hipótese de que o ácido ascórbico pode ter um papel regulatório na proliferação de células durante o período G1.

Extratos aquosos de duas plantas medicinais, *Alpinia nutans* Rosc. e *Pogostemum heyneanus* Benth., foram testados *in vivo*, quanto às suas atividades clastogênicas e aneugênicas em células de medula óssea de ratos Wistar e células meristemáticas de cebola. Os extratos só mostraram efeitos em células meristemática de cebola, apresentando grande toxicidade nas concentrações mais altas e efeito inibitório do ciclo celular nas concentrações mais baixas. A ausência de aberrações estruturais em células meristemática de raízes de cebola, tais como quebras, sugere que os extratos atuam exclusivamente como um agente tóxico sobre a formação do fuso mitótico, por não possuírem ação química sobre o DNA ou sobre o complexo DNA-proteína. (Dias e Takahashi, 1994).

Chiatante, Levi e Sparvoli (1986) verificaram o efeito de duas substâncias (dibutiril cAMP e butirato de sódio) sobre o ciclo celular de raízes de alface. Foi observado que as duas substâncias testadas provocam um decréscimo no índice de marcação atribuído por uma parada do ciclo celular em G1 e, possivelmente, em G2.

Spanó e Takahashi (1981) observaram que os efeitos da droga Niridazole, utilizada no tratamento da esquistossomose, não foi capaz de induzir mutações recessivas letais ligadas ao cromossomo X de *Drosophila melanogaster* (60 - 960 mg/100ml de meio de cultura), assim como não induziu alterações cromossômicas em células de medula óssea de ratos Wistar, quando o tratamento foi feito com 5,0 e 10,0 mg/100g de peso animal; porém, induziu um número estatisticamente significativo de aberrações cromossômicas em células tratadas com 15,0 mg/100g de peso animal. Quando a droga foi empregada em altas concentrações (1,22 - 9,76 g/l de água),

afetou o índice mitótico de células meristemáticas de raízes de cebola, causando uma acentuada diminuição no número de células em mitose. Os autores verificaram, ainda, que as maiores concentrações (4,88 e 9,76 g/l de água) causaram divisões mitóticas anormais, tais como: anáfases tripolares e desorganização na migração normal dos cromossomas para os pólos celulares, “stickiness”, aumento no grau de condensação dos cromossomos durante a metáfase e inibição da formação do fuso celular.

Estudos da ação do pesticida organofosforado “Crufomato” em fêmeas de *Bos taurus* (L.), expostas por um período de 54 semanas, demonstrou, em análises cariotípicas de culturas temporárias de 72 horas de linfócitos de sangue periférico, que após 18 e 54 semanas de tratamento, ocorreu um aumento significativo da frequência de células com aberrações cromossômicas estruturais (principalmente falhas cromatídicas). As fêmeas expostas ao pesticida foram cruzadas com um reprodutor cariotípica e fenotipicamente normal, e foi verificado que os bezerros concebidos durante o experimento também apresentavam aumento significativo de aberrações cromossômicas estruturais, quando comparados com o controle (Stocco et al. 1981).

Substâncias como colchicina, 8-hidroquinoleína, hidrato de coral, entre outras, são muito usadas pelos citogeneticistas como substâncias antimitóticas. A principal ação dessas substâncias é a parada do ciclo mitótico através de alterações na formação das fibras do fuso mitótico. A colchicina tem a particularidade de ser uma substância extraída de raízes de *Colchicum autumnale* e pode ser considerada como uma substância de ação alelopática, porque na sua presença, mesmo em concentrações baixas, ocorrem mudanças no estágio coloidal do citoplasma, principalmente na formação das fibras do fuso.

1.2.5 Descrição das espécies utilizadas neste trabalho

1.2.5.1 Angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg)

Família: Mimosaceae

Árvore perenifólia a semicaducifólia, comumente com 8 a 20 m de altura e 30 a 50 cm de DAP, podendo atingir até 30 m de altura e 90 cm de DAP na floresta estacional. No

Cerrado e na Caatinga, o angico-vermelho apresenta porte menor, com altura variando de 3 m a 15 m. Tronco: reto ou tortuoso; fuste com até 13 m de altura. Ramificação: cimoso, dicotômica. Copa abaulada com galhos apresentando acúleos e lenticelas. Casca externa geralmente parda-grisácea e acinzentada e com muitas variações em sua morfologia, como: a) completamente coberta de acúleos, escura, profundamente gretada, áspera, apresentando arestas salientes; b) com poucos acúleos e c) pode ser lisa, totalmente desprovida de acúleos e ter fissuras longitudinais pouco profundas. Casca interna esbranquiçada. Folhas: bipinadas com até 30 pares de folíolos opostos e 60-80 pares de foliólulos; pecíolo com glândula preta elipsóide, localizada junto à inserção e mais algumas menores entre os últimos pares de folíolos. Flores: hermafroditas; brancas, pequenas, reunidas em capítulos globosos axilares ou terminais. Suas flores divergem dos outros angicos pela presença de uma glândula nas anteras. Frutos: folículo achatado, deiscente, coriáceo, castanho-avermelhado, com superfície rugosa e dotada de pequenas excrescências, com 15 cm a 32 cm de comprimento por 2 cm a 3 cm de largura. Cada fruto contém 8 a 15 sementes. Os frutos variam na forma e seus caracteres não permitem distinguir as espécies com segurança. Sementes: castanha a pardo-avermelhada-escura, brilhante, orbicular, lisa, sem asa, comprimida ou achatada, com pequena reentrância hilar, com 2 cm de comprimento e 1,5 cm de largura. (Carvalho, 1994)

1.2.5.2 Canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)

Família: Caesalpinaceae

Planta decídua, heliófita, pioneira, característica de floresta latifolia semidecídua da bacia do Paraná. Ocorre preferencialmente em solos argilosos, úmidos e profundos de beira de rios, tanto na floresta primária densa como em formações secundárias. Apresenta dispersão ampla e abundante. Sua altura é de 15 - 25 metros, com tronco de 50 - 70 cm de diâmetro. Folhas compostas bipinadas, com 12 - 20 pares de pinas e 20 - 30 pares de folíolos por pina. Floresce abundantemente durante os meses de dezembro - fevereiro. A maturação dos frutos verifica-se nos meses de março - abril, entretanto, suas pequenas vagens permanecem na árvore durante muitos meses. Como planta rústica e de rápido crescimento, é ótima para a composição de reflorestamento mistos de áreas degradadas de preservação permanente. (Lorenzi, 1992)

CAPÍTULO 2.

POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ANGICO-VERMELHO

(*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.): EFEITOS SOBRE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE RAIZ E HIPOCÓTILO DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)

2.1 INTRODUÇÃO

É conhecido que as plantas competem entre si por luz, água e nutrientes, levando todas as que vivem em comunidade a uma luta constante por espaço. Esse fato é de extrema importância para a sobrevivência dos indivíduos e da própria espécie. Com esse propósito, as plantas têm desenvolvido mecanismos de defesa que se baseiam na síntese de determinados metabólitos secundários que serão liberados no ambiente.

Borges et al. (1994) sugerem que durante o estabelecimento da vegetação ocorrem interferências entre espécies. A alelopatia, que é a ação de uma espécie sobre a outra, se faz através da liberação de substâncias químicas para o meio, e contribui para aumentar o grau de interferência e determinar a sobrevivência de uma espécie sobre outras.

Já foi observado anteriormente que a elevada concentração de bufotenina nas sementes e partes vegetativas do angico-vermelho pode ter um importante papel para a sobrevivência da planta, promovendo, provavelmente, proteção contra animais ou insetos predadores (Fellows e Bell, 1971). O alcaloide bufotenina, ou talvez um outro aleloquímico

existente no angico-vermelho, poderiam atuar inibindo o crescimento e/ou desenvolvimento de outras plantas, fazendo com que o angico-vermelho tenha sucesso em testes de competição.

Outra observação indireta do potencial alelopático do angico-vermelho é o fato dessa espécie apresentar entre 13,6% e 20% de tanino em seus frutos e na casca do caule (Carvalho, 1994). Os taninos do tipo hidrolisável (os mais comuns são os ésteres do ácido gálico) são conhecidos como inibidores da germinação das sementes, do crescimento das plantas e também das bactérias fixadoras de nitrogênio e das nitrificantes do solo (Almeida, 1988).

Suspeitou-se de um possível efeito alelopático do angico-vermelho quando se verificou a ocorrência de clareiras em um reflorestamento realizado com espécies florestais nativas às margens da Represa de Camargos em Itutinga -MG. Como neste tipo de reflorestamento deseja-se que a cobertura do solo ocorra rapidamente, procurou-se, neste trabalho, averiguar o potencial alelopático do angico-vermelho sobre a germinação de alface e canafistula, para se poder, no futuro, ter uma melhor escolha das espécies florestais a serem utilizadas em processos de reflorestamento.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da potencialidade alelopática do angico-vermelho foi feita através de aplicações de extratos aquosos foliares de plantas adultas e de mudas sobre a germinação de uma planta teste, a alface cv. Babá e de uma das espécies nativas utilizadas no reflorestamento das margens da Represa de Camargos em Itutinga - MG, a canafistula.

2.2.1 Coleta e preparo das folhas

As folhas de plantas adultas e de mudas foram coletadas numa mata de sucessão secundária do campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde há dominância de angico-vermelho em vários estádios vegetativos. Como mudas, foram consideradas plantas entre 20 a 30 cm de altura, provenientes do sub-bosque desta mata.

Após a coleta, as folhas foram colocadas em estufa de secagem a 45° C, até as mesmas atingirem peso constante.

As folhas secas foram trituradas em liquidificador e peneiradas (malha de 0,5 mm), até obtenção de um pó homogêneo. O pó de folhas secas foi estocado em recipientes de vidro, em freezer.

A metodologia empregada foi realizada de acordo com Sangeinga e Swift (1992), com modificações.

2.2.2 Obtenção e aplicação dos extratos aquosos

Os extratos aquosos de folhas foram preparados no Laboratório de Citologia e Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, em diferentes concentrações do pó de folhas secas em peso por volume de água bidestilada e deionizada nas concentrações de 2%, 4%, 8% e 16%, por 2 horas, em temperatura ambiente. Para a concentração 0% (testemunha), foi utilizada água destilada e deionizada.

Como o pó de folhas secas mostrou-se insolúvel em água, promoveu-se uma agitação manual com bastão de vidro até ocorrer homogeneização.

Após um período de 2 horas, os extratos foram filtrados em pano tipo “gaze” e centrifugados a 5000 RPM por 5 minutos, sendo novamente filtrado em papel filtro. Foram tomados os valores do pH das soluções. Esses foram se tornando mais ácidos à medida que aumentaram as concentrações. Para o extrato aquoso de folhas de mudas, o pH variou de 6,00 a 5,36, e para o extrato de folhas adultas 5,70 a 5,20, nas concentrações de 2 a 16%, respectivamente.

A instalação do teste de germinação foi realizada no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2 x 5, sendo 2 extratos (folhas adultas e de mudas) e 5 concentrações (0%, 2%, 4%, 8% e 16%) para cada espécie receptora. Cada parcela foi constituída de uma caixa gerbox contendo 25 sementes em 8 repetições por tratamento, em germinadores tipo Mangelsdorf.

Antes de iniciar o teste de germinação, procedeu-se à quebra de dormência das sementes de canafistula colocando-as em água imediatamente após a fervura e deixando-as resfriar

por 24 horas (Davide, Faria e Botelho, 1995). As sementes das duas espécies foram colocadas em caixas gerbox, utilizando-se como substrato papel germibox autoclavado. Os substratos de cada tratamento foram umedecidos com 7 ml dos extratos aquosos, não sendo necessário umedecê-los novamente durante o teste.

Os gerbox foram colocados em germinadores com luz constante e regulados a 20° C para os tratamentos com alface e a 25° C para os tratamentos com canafistula.

Procederam-se avaliações por 7 dias com contagens diárias, utilizando-se dois critérios para considerar as sementes como germinadas:

1° Critério: sementes germinadas apresentando protusão da radícula, de acordo com o conceito botânico de germinação.

2° Critério: plântulas apresentando raiz e hipocótilo bem desenvolvidos e folhas cotiledonares abertas, sempre tomando como base a testemunha para fins de comparação entre plântulas. Esse critério seguiu-se de acordo com o conceito tecnológico de germinação. A primeira contagem iniciou-se no 4° dia do experimento, seguindo prescrições da Regra de Análise de Semente (BRASIL, 1992) e prosseguiu até o 7° dia (final do experimento).

Para a canafistula, realizou-se somente o teste de germinação de acordo com o 1° critério, porque a partir do 8° dia a incidência de fungos contaminantes era muito grande, e seriam necessários 20 dias para a utilização do 2° critério.

Com os dados das contagens diárias, procedeu-se o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962) para cada critério adotado.

$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$ onde:

G_1, G_2 e G_n = número de plântulas normais no 1°, 2° e último dia de contagem;

N_1, N_2, N_n = número de dias que as sementes levaram para germinar, até o enésimo dia da contagem.

Para as avaliações do comprimento da raiz e do hipocótilo, as plântulas germinadas foram fixadas e armazenadas em álcool 70%, no final do 7° dia do experimento. As medições foram realizadas com paquímetro, utilizando-se dez raízes e hipocótilos para alface, e oito raízes e hipocótilos para canafistula.

2.2.3 Análise Estatística

Para se realizar as análises estatísticas, foram verificadas algumas pressuposições para a realização da análise de variância. Foram realizados testes de homogeneidade e normalidade dos erros, sem transformação dos dados. Para a análise de regressão, utilizou-se a equação que melhor se ajustou aos dados.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados obtidos demonstrou que não houve diferença significativa entre os extratos utilizados (folhas de mudas e folhas adultas) sobre as características analisadas, utilizando-se sementes de alface (Tabela 1), havendo efeito somente das concentrações empregadas. Isso indica que o estágio de desenvolvimento das folhas de angico-vermelho não foi um fator determinante do efeito alelopático.

TABELA 1 - Resumo das análises de variância para os valores de germinação (GERM 1 e 2) e IVG (IVG 1 e 2) de sementes de alface, de acordo com o conceito botânico de germinação (1) e com o conceito utilizado em tecnologia de sementes para germinação (2). UFLA, Lavras, 1997

F.V.	G L	QUADRADO MÉDIO			
		GERM. 1	IVG 1	GERM 2	IVG 2
EXTRATO (E)	1	26.45	6.87	28.80	1.72
CONCENTRAÇÃO (C)	4	60.80	278.54 **	20477.30 **	666.51 **
Int (E X C)	4	102.20	8.87 **	74.30	3.62
C. d. Extrato (muda)	4		179.63 **		
Modelo	2	--	348.71 **	--	--
Desvio do modelo	2	--	10.56 *	--	--
C. d. Extrato (adulta)	4		107.77 **		
Modelo	2	--	428.35 **	--	--
Desvio do modelo	2	--	0.91	--	--
RESÍDUO	70	55.22	2.32	90.85	8.19
CV (%)		8.74	9.30	29.42	50.81

(*) e (**) - significativo aos níveis de 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

Nesta mesma tabela observou-se que o critério de avaliação dos efeitos de substâncias alelopáticas não pode ser detectado pela simples protusão da radícula, uma vez que o efeito alelopático pode estar atuando não só na emergência radicial, mas também no desenvolvimento inicial das plântulas.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi um melhor indicador do efeito alelopático do que a percentagem de germinação, pois mostrou-se significativo nos dois critérios de germinação adotado (botânico e tecnológico). Este dado é importante quando se deseja testar a capacidade das sementes estabelecerem-se em condições de campo, uma vez que o IVG está diretamente relacionado com o vigor das sementes. Na Tabela 1 também pode-se observar que o coeficiente de variação das características germinação (GERM 2) e índice de velocidade de germinação (IVG 2) de sementes de alface, de acordo com o conceito tecnológico, apresentou valores altos. Este fato pode ter ocorrido devido ao grau de dificuldade de se avaliar o experimento através deste critério, pois necessita-se de uma prática muito grande em testes de germinação e conhecimentos específicos da morfologia da plântula para considerá-la como normal e computá-la como germinada. Verificou-se, também, nesta mesma Tabela, que o critério de germinação, de acordo com o conceito botânico, foi mais preciso por ter coeficientes de variação mais baixos; porém, este critério mostrou-se menos eficiente para verificar o efeito alelopático.

Na Tabela 2 observaram-se as médias da germinação das sementes de alface, de acordo com o conceito da tecnologia de sementes. As médias demonstram um estímulo da germinação e do IVG na menor concentração dos extratos aquosos (2%), seguido de um decréscimo nas concentrações mais altas. Esse dado coincide com os dados encontrados por Hegazy, Mansour e Abdel-Hady (1990), que também encontraram uma aparente promoção da germinação de três espécies utilizadas como receptoras, na concentração 2% do extrato aquoso de *Anastatica hierochuntica*, seguido do decréscimo nas concentrações mais altas (4%, 6% e 8%).

TABELA 2 - Valores médios de germinação e do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface, de acordo com o conceito da tecnologia de sementes, submetidas aos extratos aquosos de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.

CONCENTRAÇÃO (%)	GERMINAÇÃO (%)	IVG
0	68.00	11.45
2	72.75	13.58
4	21.25	13.14
8	0	0
16	0	0

O estímulo principalmente da germinação, na concentração 2% dos extratos, pode ser devido à atuação de algum fitohormônio ou outra substância estimuladora do desenvolvimento e/ou crescimento, que podem ter sido extraídos junto com outras substâncias das folhas durante o preparo dos mesmos. Segundo Lehman, Blun e Gerig (1994), numa planta não são encontrados compostos individuais, mas uma mistura complexa de diferentes compostos, muitos dos quais com efeito alelopático e, algumas vezes, uma única substância pode ter um efeito estimulante ou inibitório em função de sua concentração no meio. Em geral, substâncias consideradas inibidoras da germinação têm efeitos estimulantes sobre esse processo, em baixas concentrações, com os inibidores parecendo agir sobre a atividade enzimática e outras atividades fisiológicas da planta (Mc Calla e Haskins, 1964, citado por Marquês, 1992).

Com relação ao comprimento da raiz e do hipocótilo das plântulas de alface, observaram-se na Tabela 3, que as raízes tiveram seu comprimento afetado pela concentração dos extratos e que o comprimento do hipocótilo apresentou efeito significativo em todas as causas de variação. Essa diferença de atuação dos extratos pode ser devido a uma maior precisão do hipocótilo em detectar os efeitos do aleloquímico, pois estes foram sempre maiores sobre a fase pós-germinação e principalmente sobre o crescimento do hipocótilo. Jacobi e Ferreira (1991) e Corrêa (1996) também observaram em seus experimentos que a parte aérea e as raízes apresentaram respostas diferentes aos aleloquímicos, demonstrando que os mesmos afetam mais o crescimento e/ou desenvolvimento das plântulas do que a germinação.

TABELA 3 - Resumo das análise de variância para os valores de comprimento de raiz e comprimento de hipocótilo de alface. UFLA, Lavras, 1997.

F.V.	G L	QUADRADO MÉDIO	
		Comprimento de raiz	Comprimento de hipocótilo
EXTRATO (E)	1	11.65	127.84 **
CONCENTRAÇÃO (C)	4	3207.39 **	374.41 **
Modelo	1	11846.84**	--
Int (E X C)	4	36.72	46.42 **
C. d. Extrato (muda)	4		340.42 **
Modelo	2	--	1055.17**
Desvio do modelo	2	--	102.17 **
C. d. Extrato (adulta)	4		80.42 **
Modelo	2	--	239.33 **
Desvio do modelo	2	--	27.45 *
RESÍDUO	70	18.36	7.43
CV (%)		23.23	19.63

(*) e (**) - significativo aos níveis de 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

Na Figura 1 observaram-se que os efeitos dos extratos aquosos de folhas de mudas e o de folhas adultas apresentaram comportamentos diferentes sobre o IVG de sementes de alface, de acordo com o conceito botânico de germinação, mas ficou evidenciado que os efeitos dos extratos sobre o IVG de sementes de alface foram inversamente proporcionais ao aumento das concentrações, com exceção da concentração 2% do extrato de folhas de mudas, que apresentou um pequeno estímulo. A Figura 2 também demonstrou que o comprimento de raiz de alface foi diminuindo à medida que aumentaram as concentrações dos extratos

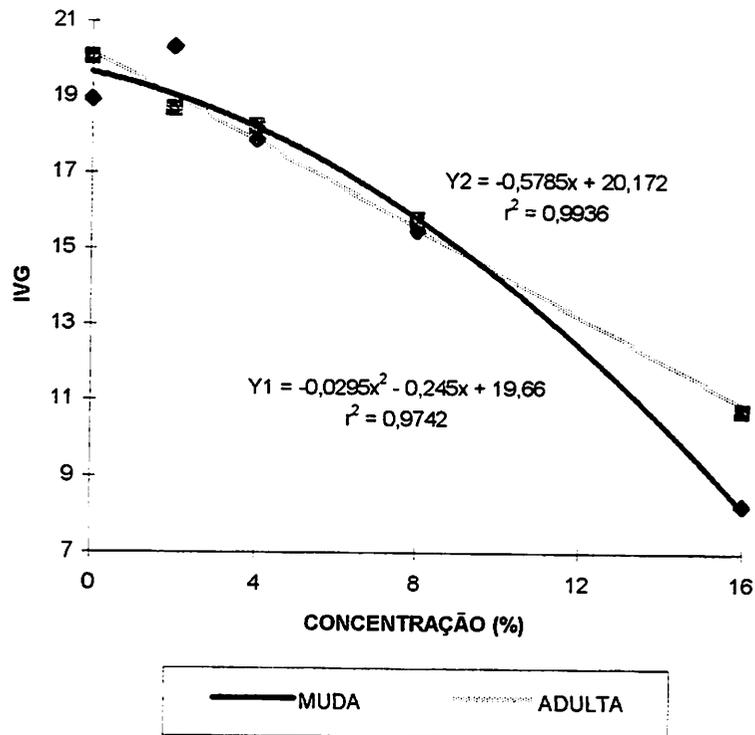


FIGURA 1- Efeito de extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface, de acordo com o conceito botânico de germinação. UFLA, Lavras, 1997.

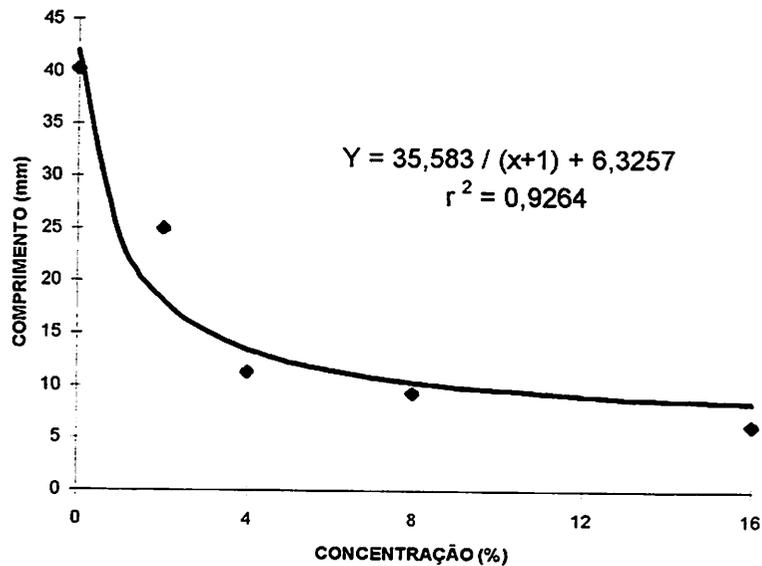


FIGURA 2- Efeito dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre o comprimento das raízes de alface. UFLA, Lavras, 1997.

Na Figura 3 observou-se o efeito dos extratos aquosos sobre o comprimento do hipocótilo de alface, mas como houve um estímulo na concentração 2% dos dois extratos, a equação linear apresentou coeficientes de determinação baixos, sendo $r^2 = 0,7749$ para extrato de folhas de mudas e $r^2 = 0,7440$ para o extrato de folhas adultas. Uma explicação para o estímulo ocorrido no comprimento do hipocótilo de alface na concentração 2%, pode ser também a atuação de algum estimulador do crescimento da parte aérea, tais como fitohormônios, que foram extraídos das folhas durante a preparação dos extratos. Estas três figuras demonstraram que os extratos de angico-vermelho apresentam efeitos alelopáticos sobre o vigor e o desenvolvimento das plântulas de alface.

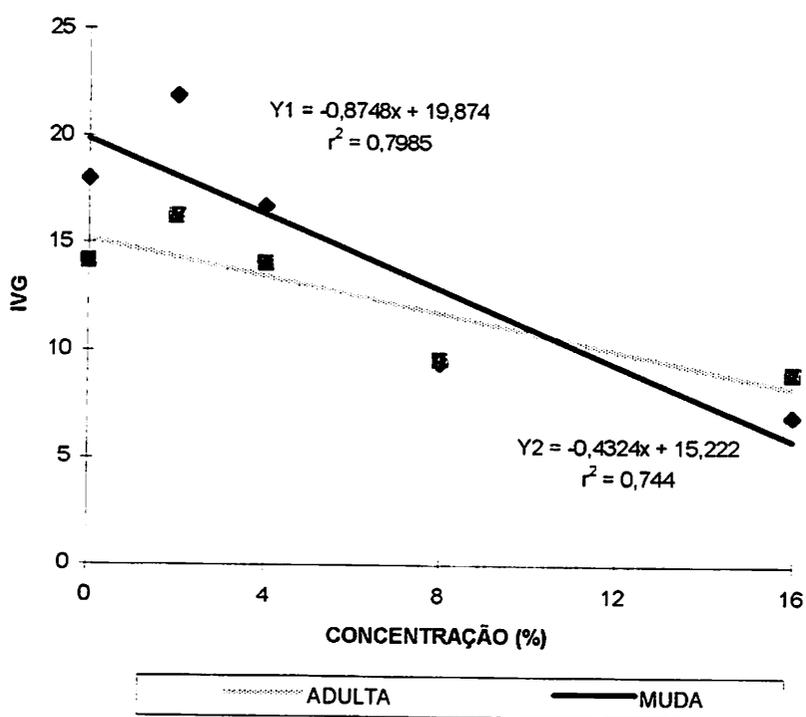


FIGURA 3 - Efeito dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre o comprimento do hipocótilo de alface. UFLA, Lavras, 1997.

Em geral, os efeitos fitotóxicos dos extratos aquosos foliares de angico-vermelho (folhas de mudas e folhas adultas), nas plântulas de alface, foram tão maiores quanto maior foi a concentração dos extratos, ocorrendo, principalmente, nas concentrações de 4%, 8% e 16%, radículas engrossadas, curtas e necrosadas. Nas concentrações mais baixas (2% e 4%), os extratos

de angico-vermelho aparentemente não afetaram a morfologia da parte aérea das plântulas de alface. Somente nas concentrações mais altas (8% e 16%), o hipocótilo de alface apresentou-se mais curto e engrossado e pouco desenvolvido (Figuras 4 e 5).

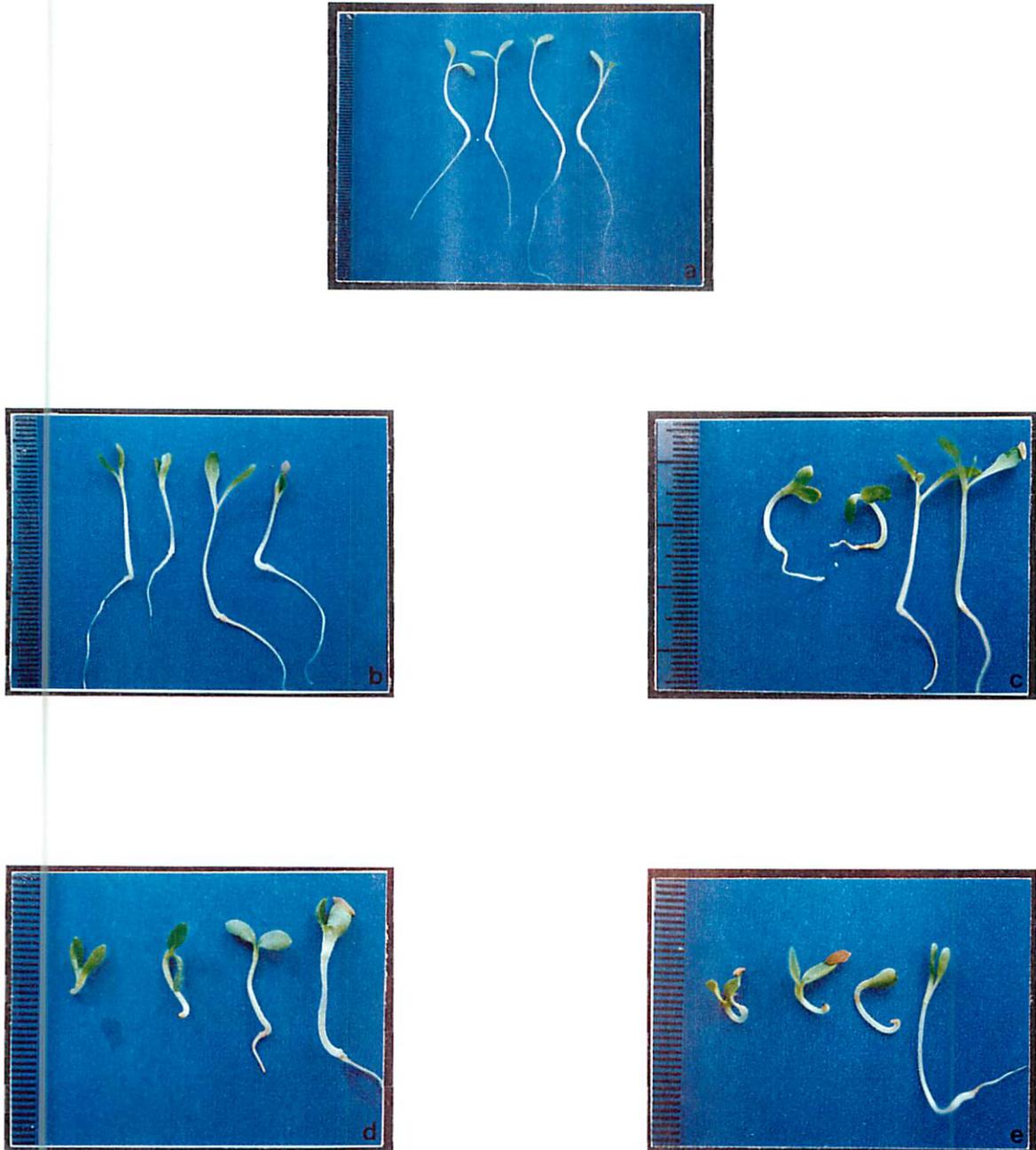


FIGURA 4 - Plântulas de alface submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas de mudas de angico-vermelho. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 %; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997

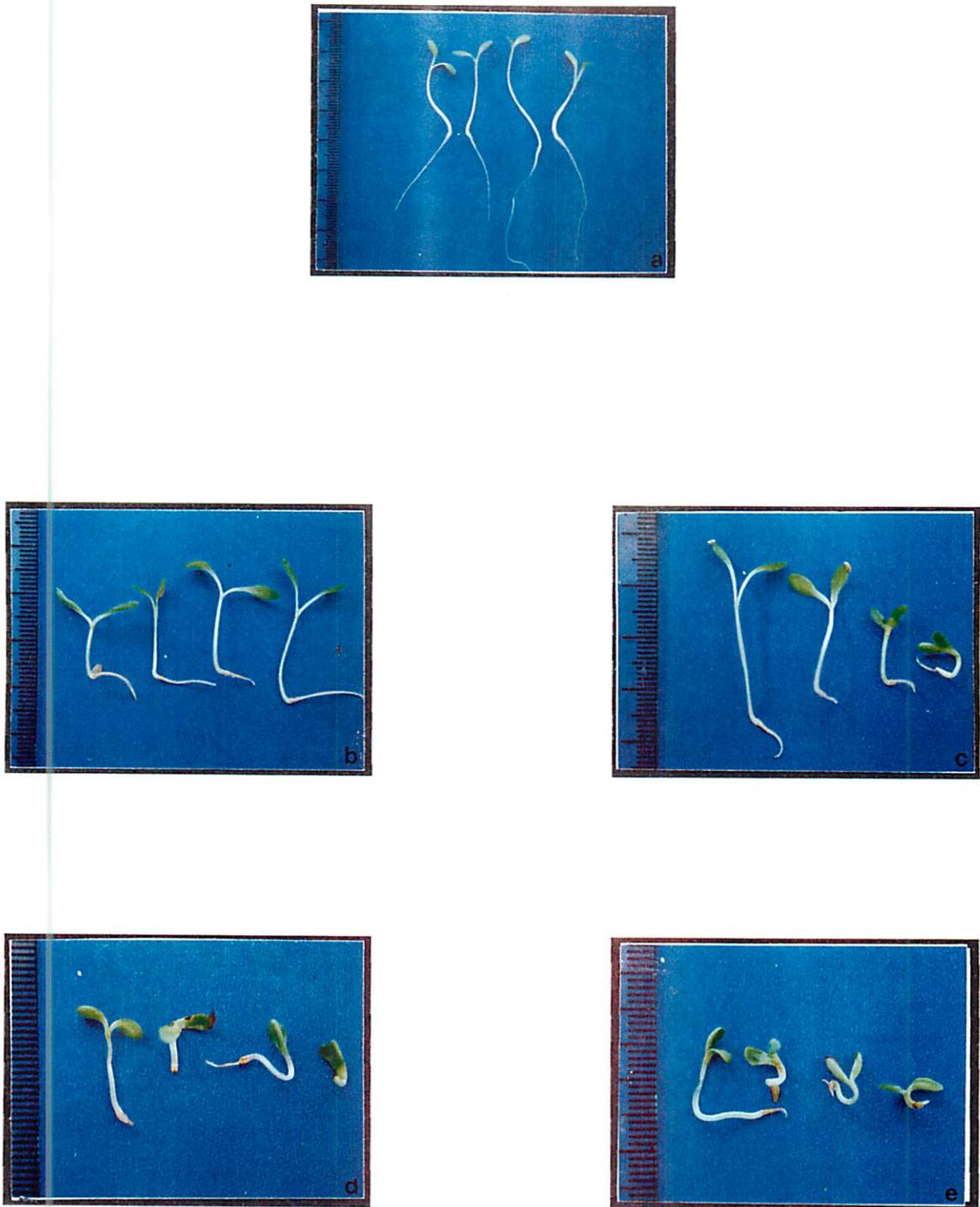


FIGURA 5 - Plântulas de alface submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas adultas de angico-vermelho.. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 % ; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997.

As plântulas de canafistula não foram avaliadas sob o aspecto visual de sintomas da fitotoxicidade, pois com apenas 7 dias de germinação, as plântulas apresentavam um desenvolvimento muito desuniforme, mesmo na testemunha (Figuras 6 e 7), o que dificultaram muito as avaliações, e poderia levar a erros de interpretação. Além do mais, não se tem na literatura uma regra definida para se considerar plântulas normais de canafistula.

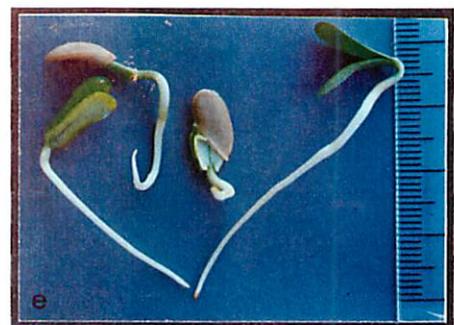


FIGURA 6- Plântulas de canafistula submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas de mudas de angico-vermelho.. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 %; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997.

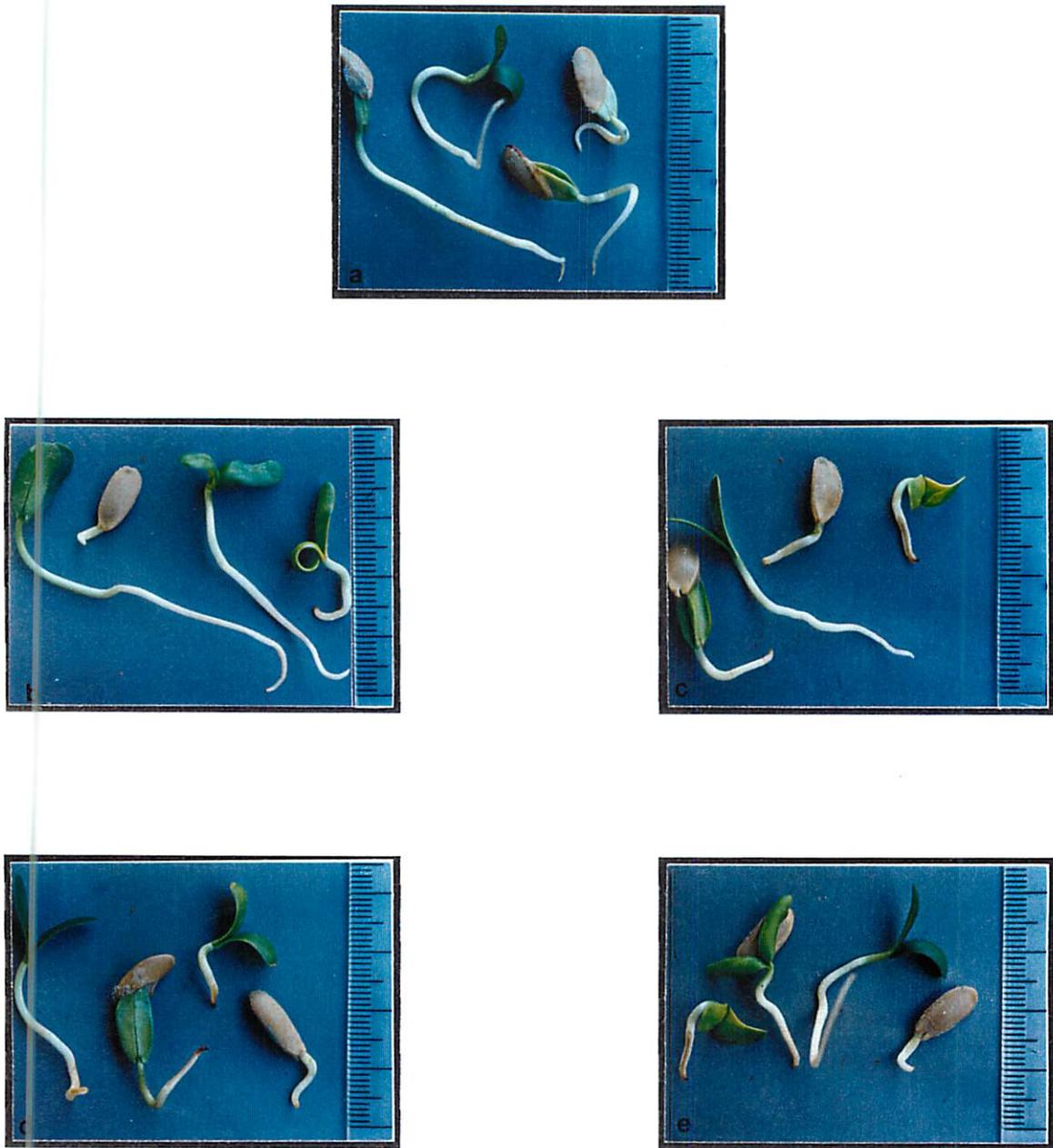


FIGURA 7 - Plântulas de canafistula submetidas às diversas concentrações dos extratos aquosos de folhas adultas de angico-vermelho.. a - testemunha; b, c, d, e - extratos a 2 %; 4 %; 8 % e 16 %, respectivamente. UFLA, Lavras, 1997.

No estudo feito com canafistula, não foi possível comparar os dois critérios de germinação (tecnológico e botânico), por problemas de contaminação com fungos. Mas, foi possível verificar que os extratos de angico-vermelho inibiram a germinação das sementes, o comprimento das raízes e hipocótilos das plântulas e reduziram os valores do IVG.

Na Tabela 4 verificou-se que somente o fator concentração interferiu significativamente sobre a germinação de canafistula. Em relação ao IVG, pôde-se também verificar que este mostrou-se mais efetivo para detectar diferenças, pois ocorreu diferença significativa entre os extratos aquosos, apesar da interação extrato x concentração não ter sido significativa. Na Figura 8 pode-se observar que o efeito dos extratos aquosos foi inversamente proporcional às concentrações, tanto para germinação como para o IVG de sementes de canafistula.

TABELA 4 - Resumo das análise de variância para os valores de germinação (GERM), IVG, comprimento de raiz (CR.), comprimento de hipocótilo (CH.) em canafistula. UFLA, Lavras, 1997

F.V.	G L	QUADRADO MÉDIO			
		GERM.	IVG.	CR.	CH.
EXTRATO (E)	1	12.80	2.55 *	1301.28 **	36.12 **
CONCENTRAÇÃO (C)	4	532.00 **	9.36 **	114.29 **	28.89 **
Int (E X C)	4	182.80	1.02	176.13 **	13.88 *
C. d. Extrato (muda)	4			26.41	16.05 **
Modelo	2	--	--	37.38	15.54 *
Desvio do modelo	2	--	--	15.45	17.68
C. d. Extrato (adulta)	4			264.01 **	26.72 **
Modelo	2	--	--	838.94 **	102.76 **
Desvio do modelo	2	--	--	2.79	1.38
RESÍDUO	70	113.20	0.56	22.17	4.43
CV (%)		22.40	22.17	22.74	21.71

(*) e (**), significativo aos níveis de 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

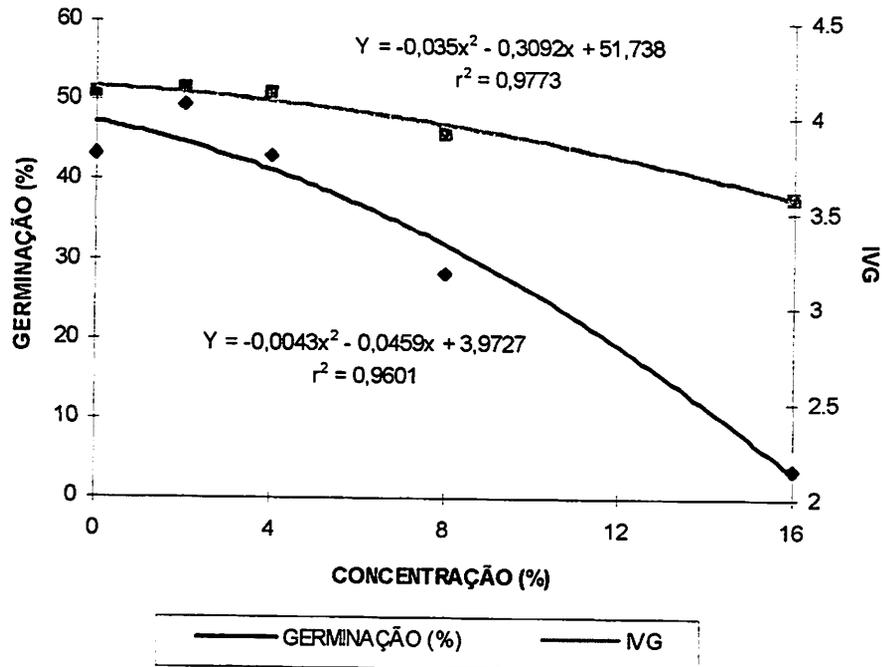


FIGURA 8 - Efeito dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho sobre a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) de canafistula. UFLA, Lavras, 1997.

Apesar de não se avaliar a plântula de canafistula até seu desenvolvimento completo (20 dias), pode-se, aos 7 dias de desenvolvimento, obter medidas do comprimento do hipocótilo e da raiz (Tabela 4).

Verificou-se, na análise do comprimento da raiz, que todas as causas de variação foram significativas, porém, quando se procedeu o desdobramento da análise de variância, observou-se que o fator concentração, dentro do extrato de folhas de mudas, não foi significativo (Tabela 4 e 5). Em relação ao comprimento do hipocótilo, observaram-se no quadro de análise de variância (Tabela 4), que todas as causas de variação foram significativas; porém, verificaram-se na Tabela 5 que as médias do comprimento do hipocótilo submetido ao extrato de folhas de mudas não apresentaram uma relação de proporcionalidade. Todavia, pode-se observar nas próximas Figuras 9 e 10 que o extrato de folhas adulta apresentou efeito alelopático sobre o comprimento de raiz e hipocótilo. Na Figura 9 observou-se que o extrato de folha adulta diminuiu o comprimento da raiz de canafistula à medida que, aumentaram-se as concentrações, apresentando um coeficiente de determinação de 0,7944.

TABELA 5 - Valores médios do comprimento de raiz e do hipocótilo de canafistula, submetidos ao extrato de folhas de mudas. UFLA, Lavras, 1997.

CONCENTRAÇÃO (%)	COMPRIMENTO RAIZ (mm)	COMPRIMENTO HIPOCÓTILO (mm)
0	24.04	9.22
2	24.61	11.24
4	24.42	8.73
8	27.88	7.34
16	24.39	8.62

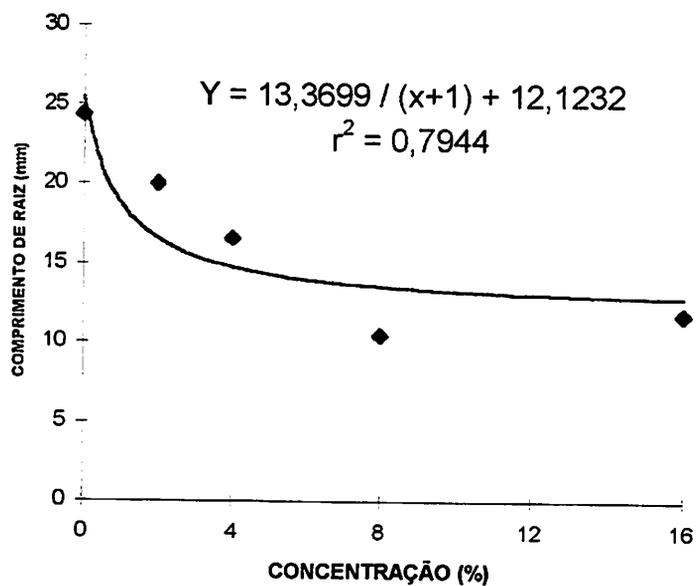


FIGURA 9 - Comprimento de raiz de canafistula, submetida a extrato aquoso de folhas adultas de angico-vermelho . UFLA, Lavras, 1997.

A Figura 10 demonstrou que o efeito do extrato de folhas adultas sobre o comprimento do hipocótilo de canafistula foi tão maior quanto maior foi a concentração.

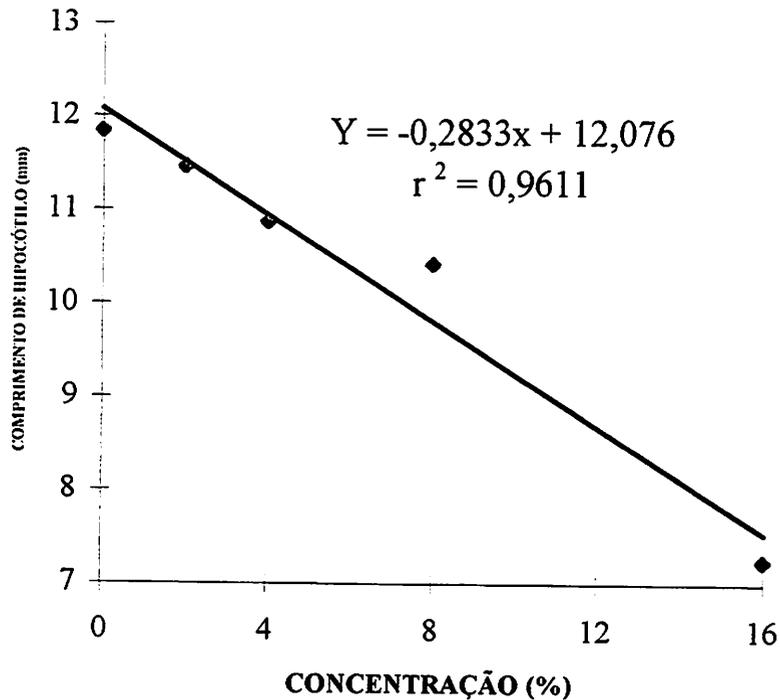


FIGURA 10- Comprimento de hipocótilo de canafistula, submetido ao extrato aquoso de folhas adultas de angico-vermelho . UFLA, Lavras, 1997.

O fato de ter ocorrido efeito diferenciado dos dois extratos sobre o comprimento da raiz e do hipocótilo de canafistula, pode ser explicado pela ocorrência de dormência em suas sementes e, a superação desta, pode ter afetado os resultados. Outro fator complicador pode ser o tamanho da semente, que em canafistula apresenta uma variação muito grande no mesmo lote. Carvalho (1986) determina que as sementes menores, por necessitarem de menor volume de água, são as primeiras a germinar; em contrapartida, as de maior tamanho, por possuírem mais tecido de reserva, originam plântulas de maior tamanho ou peso. Além disso, o experimento com canafistula foi avaliado em somente 7 dias, esse fato também pode ter afetado os resultados.

Nem sempre os estudos a nível de laboratório podem ser extrapolados para o campo, mas sem eles ficaria muito difícil determinar as potencialidades alelopáticas de uma espécie, pois no campo vários outros fatores podem estar atuando (competição e outros tipos de interferências,

além das alelopáticas) e estes poderiam mascarar as interpretações sobre o potencial de uma dada espécie. Corrêa (1996) sugere que a alelopatia só poderá ser aplicada de maneira mais segura e objetiva, à medida que estudos mais aprofundados sejam realizados, a nível de campo, casa de vegetação e laboratório, de modo interativo e interdisciplinar.

2.4 CONCLUSÕES

A avaliação da germinação, de acordo com o conceito tecnológico de germinação de sementes, demonstrou ser um método mais criterioso para a avaliação das potencialidades alelopáticas do angico-vermelho sobre a alface, quando comparada ao conceito botânico de germinação.

Os dois extratos (muda e adulta) diminuíram a taxa de germinação, o IVG, o comprimento de raízes e dos hipocótilos das plantas receptoras (alface e canafistula).

Nas maiores concentrações (8 e 16%) dos extratos de angico-vermelho, ocorreram radículas engrossadas, curtas e necrosadas nas plântulas de alface, caracterizando efeito fitotóxico.

CAPÍTULO 3

POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ANGICO-VERMELHO (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.): EFEITO SOBRE O CICLO MITÓTICO EM PONTAS DE RAÍZES DE ALFACE (*Lactuca sativa* L. cv. Babá) E CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)

3.1 INTRODUÇÃO

Por apresentar distribuição nacional e rápido crescimento, o angico-vermelho tem sido utilizado em programas de reflorestamento. Observações feitas a nível de campo, têm demonstrado que o seu bom desempenho pode ser devido ao seu potencial alelopático.

Para Grankhov e Dichyh (1996), alelopátia é a interação fisiológica e bioquímica entre indivíduos, os quais se contactam no espaço (interação alelopática) ou no tempo (ação pós-alelopática) e, é também considerada um dos mais importantes fatores do crescimento e renovação de plantas superiores em comunidade.

Até o momento, as indicações das potencialidades alelopáticas do angico-vermelho são indiretas. Uma delas é a presença de 13,6 % a 20 % de tanino em seus frutos e na casca do caule (Carvalho, 1994). A outra é a existência de uma concentração alta do alcalóide bufotenina nas sementes e partes vegetativas do angico-vermelho. Fellows e Bell (1971) sugerem que a presença dessa substância pode ter papel importante para a sobrevivência da planta, promovendo, provavelmente, proteção contra animais ou insetos predadores. Essa substância poderia também

atuar inibindo o crescimento e/ou desenvolvimento de outras plantas, fazendo com que o angico-vermelho tenha sucesso em testes de competição.

Além disso, no reflorestamento que está sendo realizado nas margens da Represa de Camargos em Itutinga-MG, verificou-se que algumas espécies nativas plantadas próximas ao angico-vermelho não estavam apresentando bom desempenho, o que poderia ser atribuído à liberação de aleloquímicos no ambiente, afetando o crescimento e/ou desenvolvimento das outras espécies ao seu redor.

Os alcalóides promovem interações com o DNA (Wink e Latz-Brüing, 1995), provavelmente, promovendo inibição da divisão celular e, conseqüentemente afetando o crescimento e/ou desenvolvimento das espécies.

Por esses motivos, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito genotóxico dos extratos aquosos de folhas de mudas e adultas do angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.) sobre o ciclo celular de alface e de canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), para se ter uma melhor escolha das espécies a serem utilizadas na recuperação de áreas degradadas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da potencialidade alelopática do angico-vermelho foi feita através de aplicações de extratos aquosos foliares de plantas adultas e de mudas sobre a germinação de uma planta teste, a alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Babá, e de uma das espécies nativas utilizadas no reflorestamento das margens da represa de Camargos em Itutinga-MG, a canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.).

3.2.1 Coleta e preparo das folhas

As folhas de plantas adultas e de mudas foram coletadas numa mata de sucessão secundária do campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde há dominância de angico-

vermelho em vários estádios de desenvolvimento vegetativo. Como mudas, foram consideradas plantas entre 20 a 30 cm de altura, provenientes de sementes retiradas do sub-bosque desta mata.

Após a coleta, as folhas foram colocadas em estufa de secagem a 45° C, até as mesmas atingirem peso constante.

As folhas secas foram trituradas em liquidificador e peneiradas (malha de 0,5 mm) até obtenção de um pó homogêneo. O pó de folhas secas foi estocado em recipientes de vidro, em freezer.

A metodologia empregada foi realizada de acordo com Sangeingha e Swift (1992), com modificações.

3.2.2 Obtenção e aplicação dos extratos aquosos

Os extratos aquosos de folhas foram preparados no Laboratório de Citologia e Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, em diferentes concentrações do pó de folhas secas em peso por volume de água bidestilada e deionizada nas concentrações de 2%, 4%, 8% e 16%, por 2 horas em temperatura ambiente. Para a concentração 0%, foi utilizada água destilada e deionizada.

Como o pó de folhas secas mostrou-se insolúvel em água, promoveu-se uma agitação manual com bastão de vidro até ocorrer homogeneização.

Após um período de 2 horas, os extratos foram filtrados em pano tipo “gaze” e centrifugados a 5000 RPM por 5 minutos, sendo novamente filtrado em papel filtro. Foram tomados os valores do pH das soluções. Estes foram se tornando mais ácidos, à medida que aumentaram as concentrações. Para o extrato aquoso de folhas de mudas, o pH variou de 6,00 a 5,36 e para o extrato de folhas adultas, de 5,70 a 5,20, nas concentrações de 2 a 16%, respectivamente.

3.2.3 Análise citogenética

Para verificar a atividade genotóxica dos extratos aquosos de angico-vermelho, foi montado um experimento no Laboratório de Propagação de Plantas do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, em delineamento inteiramente casualizado (DIC),

em esquema fatorial 2×5 , sendo 2 extratos (folhas adultas e de mudas) e 5 concentrações (0%, 2%, 4%, 8% e 16%) para cada espécie receptora (alface e canafistula). Cada parcela foi constituída de uma caixa gerbox contendo 25 e 50 sementes para canafistula e alface, respectivamente, em 4 repetições por tratamento.

Antes de iniciar a germinação para a coleta das raízes, procedeu-se à quebra de dormência das sementes de canafistula, colocando-as em água imediatamente após fervura e deixando-as resfriar por 24 horas (Davide, Faria e Botelho, 1995). As sementes das duas espécies foram colocadas em caixas gerbox, utilizando-se como substrato papel germibox autoclavado. Os substratos de cada tratamento foram umedecidos com 7 ml dos extratos.

Os gerbox foram colocados em germinadores tipo Mangelsdorf com luz constante, regulados a 20°C para os tratamentos com alface e a 25°C para os tratamentos com canafistula.

Quando as raízes das plântulas receptoras atingiram aproximadamente 5 mm de comprimento foram coletadas, fixadas em Carnoy (álcool etílico absoluto e ácido acético glacial, 3 : 1) por 24 horas e estocadas em álcool 70% em geladeira.

As raízes foram hidrolizadas em ácido clorídrico (HCl) 1N a 60°C , sendo utilizados 8 minutos para alface e 10 minutos para canafistula. O tempo de hidrólise para cada espécie foi previamente determinado em pré-testes. As raízes de alface foram coradas com reativo de Schiff (aproximadamente por 15 minutos) e as de canafistula com Giemsa a 2%, em tampão fosfato, por 10 minutos. As raízes foram esmagadas com ácido acético 45% e as lâminas foram montadas com Entellan.

Utilizaram-se 5 raízes por parcela, onde foram observadas 5000 células/tratamento/espécie. Foram analisados o índice mitótico (n° total de células em divisão/ n° total de células analisadas $\times 100$) e ocorrência de anomalias nas diferentes fases da divisão.

Para verificar o comportamento das fases da mitose, obteve-se um índice para cada fase (prófase - IP; metáfase - IM; anáfase - IA; telófase - IT).

3.2.4 Análise Estatística

Para se realizar as análises estatísticas, foram verificadas algumas pressuposições para a realização da análise de variância. Foram realizados testes de homogeneidade e normalidade dos

erros, sem transformação dos dados. Para a análise de regressão, utilizou-se a equação que melhor se ajustou aos dados.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com exceção do índice de anáfase em alface (Tabela 1) e do índice de telófase em canafistula (Tabela 2), não se observaram diferenças significativas entre os efeitos dos extratos utilizados (folhas de mudas e folhas adultas) sobre as características do ciclo celular.

As diferentes concentrações dos extratos, no entanto, mostraram-se significativamente diferentes para todas as características analisadas em alface (Tabela 1) e para o índice mitótico e de prófase em canafistula (Tabela 2).

Como já havia sido observado no capítulo 2 dessa dissertação, o estágio de desenvolvimento vegetativo das folhas de angico-vermelho não foi um fator determinante do efeito alelopático, uma vez que os dois extratos afetaram o ciclo celular

TABELA 1 - Resumo das análises de variância para os valores de índice mitótico (IMT), índice de prófase (IP), índice de metáfase (IM), índice de anáfase (IA) e índice de telófase (IT) em células meristemáticas de raízes de alface, submetidas aos extratos de folhas de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.

F.V.	G L	QUADRADO MÉDIO				
		IMT	IP	IM	IA	IT
EXTRATO (E)	1	10.48	1.28	0.94	0.26 **	0.29
CONCENTRAÇÃO (C)	4	398.39 **	280.63 **	1.98 **	0.41 **	2.42 **
Int (E X C)	4	57.150	63.49 *	0.10	0.02	0.08
C. d. Extrato (muda)	4		230.64 **			
Modelo	2	--	836.59 **	--	--	--
Desvio do modelo	2	--	28.66	--	--	--
C. d. Extrato (adulta)	4		113.48 *			
Modelo	2	--	114.66 *	--	--	--
Desvio do modelo	2	--	113.08 **	--	--	--
RESÍDUO	70	23.19	22.48	0.12	0.03	0.12
CV (%)		14.11	14.73	37.96	44.27	58.04

(*) e (**) - significância aos níveis de 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

TABELA 2 - Resumo das análises de variância para os valores de índice mitótico (IMT), índice de prófase (IP), índice de metáfase (IM), índice de anáfase (IA) e índice de telófase (IT) em células meristemáticas de raízes de canafistula, submetidas aos extratos de folhas de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.

F.V.	G L	QUADRADO MÉDIO				
		IMT	IP	IM	IA	IT
EXTRATO (E)	1	49.66	47.98	0.11	0.03	0.25 *
CONCENTRAÇÃO (C)	4	152.54 **	139.35 **	0.17	0.12	0.01
Int (E X C)	4	57.05 *	55.43 *	0.15	0.02	0.04
C. d. Extrato (muda)	4	92.99 **	85.04 **			
Modelo	2	122.64 **	111.72 **	--	--	--
Desvio do modelo	2	4.01	5.00	--	--	--
C. d. Extrato (adulta)	4	116.61 **	109.74 **			
Modelo	2	413.05 **	391.09 **	--	--	--
Desvio do modelo	2	17.80	15.96	--	--	--
RESÍDUO	70	19.00	17.87	0.23	0.06	0.05
CV (%)		14.83	15.40	42.76	69.52	57.79

(*) e (**) - significância aos níveis de 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

O efeito dos aleloquímicos do angico-vermelho sobre o ciclo celular de alface foi devido a alterações ocorridas em todas as fases da mitose, enquanto que em canafistula, as alterações na prófase foram as responsáveis pelos resultados. Tanto na Tabela 1, como na Tabela 2, foi possível observar que os coeficientes de variação para as características IM, IA, IT foram altos. Esse fato pode ser explicado pela baixa frequência de células encontradas nas fases de metáfase, anáfase e telófase.

Na Tabela 3 verificaram-se que, em alface, os índices do ciclo celular diminuíram proporcionalmente, à medida que as concentrações dos extratos de folhas de mudas aumentaram. O mesmo não aconteceu com o extrato de folhas adultas, onde houve pouca variação dos índices, a partir da concentração 2%. Esses resultados poderiam justificar o baixo coeficiente de determinação ($r^2 = 0,7424$) observado para o índice mitótico de alface (Figura 1A).

TABELA 3 Índice mitótico (IMT) e das fases da mitose (prófase - IP, metáfase - IM, anáfase - IA, telófase - IT) em células meristemáticas de raízes de alface, submetidas às diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997.

CONCENTRAÇÃO (%)	EXTRATO DE FOLHA DE MUDA					EXTRATO DE FOLHA ADULTA				
	IMT (%)	IP (%)	IM (%)	IA (%)	IT (%)	IMT (%)	IP (%)	IM (%)	IA (%)	IT (%)
0	45.32	41.82	1.36	0.62	1.52	45.32	41.82	1.36	0.62	1.52
2	37.94	36.26	0.98	0.36	0.34	31.40	28.34	1.64	0.58	0.84
4	33.36	31.48	0.92	0.48	0.48	33.84	31.34	1.20	0.76	0.54
8	29.32	28.26	0.58	0.26	0.22	32.26	30.64	0.88	0.44	0.30
16	22.12	22.12	0.0	0.0	0.0	30.36	29.70	0.30	0.14	0.22

TABELA 4 - Índice mitótico (IMT) e das fases da mitose (prófase - IP, metáfase - IM, anáfase - IA, telófase - IT) em células meristemáticas de raízes de canafistula (*P. dubium* (Spreng). Taub.), submetidas às diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997.

CONCENTRAÇÃO (%)	EXTRATO DE FOLHA DE MUDA					EXTRATO DE FOLHA ADULTA				
	IMT (%)	IP (%)	IM (%)	IA (%)	IT (%)	IMT (%)	IP (%)	IM (%)	IA (%)	IT (%)
0	35.38	33.24	1.22	0.52	0.42	35.38	33.24	1.22	0.52	0.42
2	29.48	27.66	1.04	0.42	0.36	30.88	28.92	1.00	0.42	0.54
4	27.28	25.12	1.54	0.41	0.20	29.03	27.07	1.18	0.19	0.59
8	35.47	33.38	1.27	0.44	0.38	25.06	23.25	0.89	0.40	0.52
16	25.82	24.40	0.95	0.20	0.27	22.40	20.72	1.07	0.16	0.45

Em relação ao IP de alface, verificou-se na Tabela 1 que a interação extrato x concentração foi significativa. O comportamento dos dois extratos pode ser verificado na Figura 2A. Nesta, observou-se que o extrato de folhas de mudas apresentou um coeficiente de determinação alto, enquanto o extrato de folhas adultas apresentou um coeficiente baixo ($r^2 = 0,9068$ e $r^2 = 0,2526$, respectivamente).

Em canafistula, notou-se, na Tabela 4, uma atuação inversa do comportamento dos extratos em relação à alface, na qual observou-se que o efeito do extrato de folhas adultas foi inversamente proporcional ao aumento das concentrações, principalmente em relação ao IMT e IP. O efeito do extrato de folhas adultas sobre o IMT e IP de canafistula pode ser observado na Figura 3A.

O comportamento diferenciado observado para cada estágio de desenvolvimento vegetativo da folha de angico-vermelho, isto é, resposta linear do índice mitótico em relação ao extrato de folhas de mudas em alface e em relação ao extrato de folhas adultas em canafistula, pode ser devido à sensibilidade de cada espécie receptora a diferentes concentrações de substâncias obtidas na extração.

Além de promoverem a inibição do ciclo mitótico, estes extratos também levaram ao aparecimento de anomalias no ciclo celular, principalmente em canafistula.

Na Tabela 5 verificou-se que, em alface ocorreu, um baixo número de anomalias (104), sendo que os núcleos fragmentados (Figura 1a) foram os mais frequentes (72 %), seguidos das metáfases colchicínicas (Figura 1b), que apresentaram 26 % das anomalias.

Já em canafistula, comparando-se com a testemunha, observou-se um número bem maior de anomalias (2494) nas células tratadas. As metáfases colchicínicas foram as mais frequentes (79 %) e, 87 % delas apresentaram cromossomos pegajosos (Tabela 4 e Figura 1c). Foram observadas 18,6 % de metáfases laterais com cromossomos desprendidos (Figura 1d). As demais anomalias encontradas em canafistula (pontes e fragmentos nas anáfases e telófases - Figura 1e, e cromossomos condensados na telófase - Figura 1f) ocorreram em pequeno número (2,0 %).

A ocorrência de metáfases colchicínicas e cromossomos desprendidos das metáfases laterais, principalmente em canafistula, pode ser explicada pelos efeitos dos extratos, promovendo alterações na prófase. Durante a prófase, as fibras do fuso estão em formação e qualquer alteração na formação destas fibras pode levar ao aparecimento de anomalias. A não formação das fibras do

TABELA 5 - Anomalias no ciclo mitótico em células meristemáticas de raízes de alface, submetidas às diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997.

CONCENTRAÇÃO (%)	EXTRATO DE FOLHA DE MUDA				EXTRATO DE FOLHA ADULTA			
	MC	PF	NF	TOTAL	MC	PF	NF	TOTAL
0	01	-	-	01	01	-	-	01
2	04	-	-	04	04	-	-	04
4	05	01	-	06	04	02	-	06
8	07	-	-	07	02	-	-	02
16	-	-	32	32	01	-	42	43

MC -metáfase colchicínica ; PF - ponte e fragmento em anáfase e telófase; NF - núcleo interfásico.

TABELA 6 - Anomalias no ciclo mitótico em células meristemáticas de raízes de canafistula (*P. dubium* (Spreng). Taub.), submetidas às diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho (*A. peregrina* (L.) Speg.). UFLA, Lavras, 1997.

CONCENTRAÇÃO (%)	EXTRATO DE FOLHA DE MUDA				EXTRATO DE FOLHA ADULTA			
	MC	MD	CP	TOTAL	MC	MD	CP	TOTAL
0	36	21	118	176	36	21	118	181
2	35	20	170	228	42	48	278	373
4	52	134	353	541	28	24	127	188
8	58	123	410	606	04	13	30	55
16	23	50	217	293	12	53	138	210

MC - metáfase colchicínica; MD - metáfase cromossomo desprendido na metáfase lateral; CP - metáfase cromossomos pegajosos; PF - ponte e fragmento em anáfase e telófase; TC - telófase com cromossomos condensados.

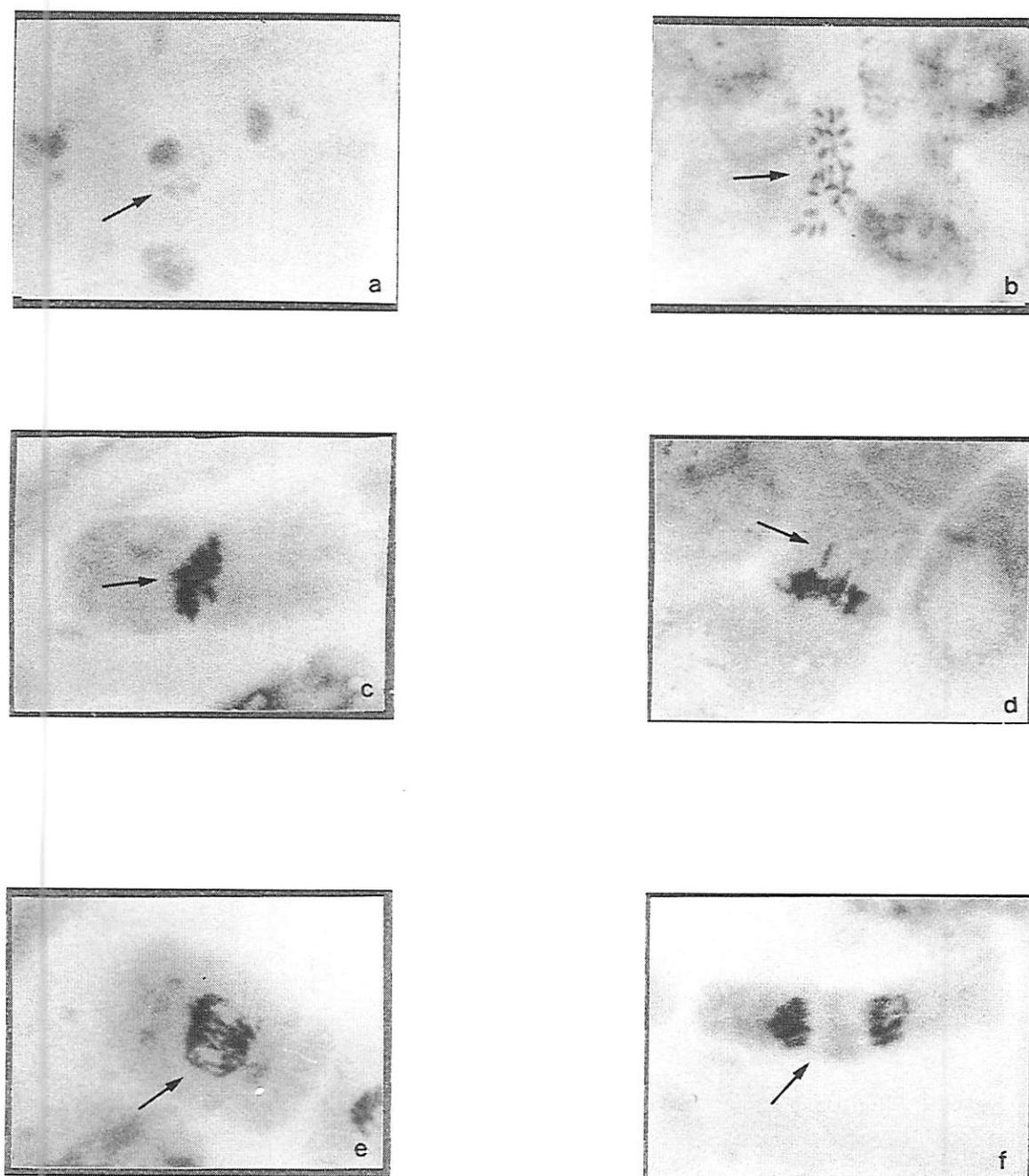


FIGURA 1 - Anomalias em células meristemáticas de raízes de alfaca (a) e canafistula (b - f) submetidas aos extratos foliares de angico-vermelho. a - núcleos fragmentados; b - metáfase colchicínica; c - metáfase com cromossomos pegajosos; d - metáfase lateral com cromossomos desprendidos e - pontes e fragmentos em anáfases e telófase; f - telófase com cromossomos condensados. Aumento total: 1400 X. UFLA, Lavras, 1997.

fuso levam ao aparecimento de metáfases colchicínicas, já a má formação destas fibras levam ao aparecimento de cromossomos desprendidos da metáfase lateral.

A explicação para a ocorrência de anáfases e telófases com pontes e fragmentos pode ser dada pela atuação dos extratos sobre os cromossomos, promovendo quebras cromossômicas. A ocorrência de núcleos interfásicos fragmentados, cromossomos pegajosos e telófases com pontes e fragmentos pode ser explicada pela atuação dos extratos, alterando os constituintes químicos dos cromossomos.

O fenômeno do aparecimento de cromossomos pegajosos já foi observado em várias espécies e é considerado por alguns autores como um comportamento normal (Borzam, 1977). Outros autores atribuem a mutações gênicas (Beadle, 1932) ou a efeitos de substâncias, como o brometo de etídio e solução álcool-acética, como verificado por Mc Gill, Pathak e Hsu (1974) e Marks (1973), respectivamente.

Esses dados vão de encontro com o que foi encontrado nas análises químicas realizadas nas partes aéreas do angico-vermelho. Nestas análises, foi verificado que as mesmas são ricas em alcalóides e muitas bases indol (Fellows e Bell, 1971). Wink e Latz-Brünig (1995) sugerem que a maioria dos alcalóides promovem interações com o DNA. Os extratos de angico-vermelho podem estar atuando de uma forma indireta na inibição do crescimento das plantas receptoras, afetando o DNA.

Os efeitos dos extratos foliares sobre o ciclo celular corroboram com aqueles encontrados para germinação, vigor de sementes e morfologia de plântulas, observados no capítulo 2. Segundo Deuber (1992), a ação indireta de compostos químicos sobre a germinação resulta de uma redução na divisão celular, em função da interferência do composto sobre a síntese de proteínas, enzimas, ácidos nucleicos e hormônios, como o AIA. A ação direta de compostos químicos resulta em alterações na distensão celular, a qual ocorre em função do aumento da plasticidade da parede celular. Com a alteração da plasticidade, as paredes celulares podem deixar de se distender ou apresentar distensões maiores que o normal e desuniformes dentro dos tecidos. O mesmo autor relata, ainda, que no caso de haver inibição da distensão celular, as paredes podem continuar a receber deposição de celulose e/ou lignina, tornando-se mais espessas.

A ocorrência de inibidores de crescimento e de germinação, em folhas de diversas espécies de plantas é fato já bastante conhecido na literatura (Coutinho e Hashimoto, 1971). No

entanto, do ponto de vista citológico, sabe-se muito pouco a respeito do efeito de extratos aquosos de plantas sobre a atividade mitótica (Hegazy, Mansour e Abdel-Hady, 1990).

Observa-se, portanto, que a alelopatia é uma ciência interdisciplinar, pois para o seu entendimento, o pesquisador deve ter conhecimentos nas mais diversas áreas, tais como ecologia, fisiologia, bioquímica, entre outras, e a citogenética ultimamente tem demonstrado ser uma das mais novas ferramentas para o entendimento desta ciência tão complexa.

3.4 CONCLUSÕES

O extrato de folhas de mudas de angico-vermelho causou diminuição no índice mitótico de alface à medida que as concentrações aumentaram, enquanto que, em canafistula, essa proporcionalidade ocorreu para o extrato de folhas adultas.

Os extratos de angico-vermelho elevaram a percentagem de anomalias no ciclo celular, principalmente em canafistula. As anomalias observadas foram: metáfases colchicínicas, cromossomos pegajosos, metáfases laterais com cromossomos desprendidos, pontes e fragmentos em anáfases e telófases, telófases com cromossomos condensados e núcleos fragmentados.

Os extratos foliares de angico-vermelho atuaram principalmente na prófase mitótica, provavelmente causando danos às fibras do fuso de divisão e interagindo com os constituintes cromossômicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F.S. **A alelopatia e as plantas**. Londrina: IAPAR, 1988. 60 p. (Circular, 53).
- ALMEIDA, F.S. de. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais, **Pesquisa. Agropecuária**, Brasília, v. 26, n. 6, p. 221 - 236. fev. 1991.
- ARRIGONI, O.; BITONTI, M.B.; COZZA, R.; INNOCENTI, A.M.; LISO, R.; VELTRI, R. Ascorbic acid effect on pericycle cell line in *Allium cepa* root. **Caryologia**, Italy, v. 42, n. 3/4, p. 213-216, July/Dec. 1989.
- BART HELMESS, A. Chemisch in indzierte multipolare Mitosenentwicklung. **American Journal Botany**, Columbus, v. 54, p. 945, 1957.
- BEADLE, G.W. A gene for sticky chromosomes in *Zea mays*. **Ztschr. f. Abst. Vererbungslehre**, v.63, p.195-217, 1932.
- BOBAK, M. The effects of lauryl alcohol on mitotic index, on defects of division and on cytomixis. **Caryologia**, Italy, v. 19, n. 3, p. 369, 1966.
- ~~f~~BORGES, E.E. de L. e; SILVA, G.F.; LOPES, E. da S. Avaliação de substâncias alelopáticas em vegetação de uma floresta secundária. **Revista Árvore**, Viçosa, v.18, n.3, p. 275-286, set./dez. 1994.
- BORZAN, Z. Contribution to the Karyotype analysis of the Eupean black pine (*Pine nigra* Arn.) **Annual Forest**. v.8, n.3, p.29-50, 1977.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal CLV. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992, 365 p.

- CARVALHO, N.M. Vigor de sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. (coords.). **Atualização em produção de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 270-223.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994, 637 p.
- CARVALHO, S.I.C. de **Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizanta* a. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes Guianensis* var. *Vulgaris***. Viçosa: UFV. 72 p. 1993. (Tese - Mestrado em Zootecnia).
- CHIATANTE, D.; LEVI, M.; SPARVOLI, E. Arrest of cell cycle induced by dibutyryl-cAMP and sodium butyrate in root meristems of lettuce. **Caryologia**, Italy, v. 39, n. 2, p. 143-150, Apr./June 1986.
- CORRÊA, J. de F. **Potencialidades alelopáticas e identificação de algumas substâncias de folhas de *Eupatorium maximiliani* Schrad.** Lavras: UFLA, 1996. 68 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- COUTINHO, L.M.; HASHIMOTO, F. Sobre o efeito inibitório da germinação de sementes produzido por folhas de *Clea cuneifolia* DC. **Ciência e cultura**, São Paulo, v. 23, n.6, p. 759-764, dez. 1971.
- DAVIDE, A.C. FARIA, J.M. R.; BOTELHO, S.A. **Propagação de espécies florestais**. Belo Horizonte: CEMIG. Lavras: UFLA, 1995. 41p.
- DEUBER, R. **Ciências das plantas daninhas: fundamentos**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 432 p.
- DIAS, F.L.; TAKAHASHI, C.S. Cytogenetic evaluation of the effects of aqueous extracts of the medicinal plants *Alpinia nutans* Rosc. (Zingiberaceae) and *Pogostemon heyneanus* Benth (Labiatae) on wistar rats and *Allium cepa* Linn. (Liliaceae) root tip cells. **Revista Brasileira de Genética**, Riberão Preto, v. 17, n. 2, p. 175-180, jun. 1994.
- DURIGAN, J.; ALMEIDA, F.S. **Noções sobre a alelopatia**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 28 p. (Boletim).
- EINHELLIG, F.A. Allelopathy: current status and future goals In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M.; EINHELLIG, F.A. (eds.). **Allelopathy: organisms processes, and applications**. Washington: American Chemical Society, 1995. p. 1-24. (ACS Symposium Series, 582.)

EINHELLIG, F.A. Physiology and mechanisms of action in allelopathy. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.139.

FELLOWS, L.E.; BELL, E.A. Indole metabolim in *Piptadenia peregrina*. **Phytochemistry**, England, v. 10, n. 9, p. 2083 - 2091. Sept. 1971.

GOMIDE, M.B. **Potencialidades alelopáticas dos restos culturais de dois cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), no controle de algumas plantas daninhas**. Piracicaba: ESALQ, 1993. 96 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

→ GRANKHOV, V.P.; DIDYK, N.P. Phytocenotics approach in allelopathy of higher plants. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.52.

HALLAK, A.M.G. **Efeito de exsudatos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) sobre a divisão celular e anatomia de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Lavras: UFLA, 1995. 59 p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

→ HEGAZY, A. K.; MANSOUR, K.S.; ABDEL-HADY, N.F. Allelopathic and autotoxic effects of *Anastatica hierochuntica* L. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 16, n. 7, p. 2183-2194, 1990.

→ HEISEY, R.M. Identification of an allelopathic compound from *Ailanthus altissima* (Simarroubaceae) and characterization of its herbicidal activity. **American Journal of Botany**, Columbus, v.83, n.2, p. 192-200, Feb. 1996.

JACOBI, U.S; FERREIRA, A.G. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.7, p. 935-934, jul. 1991.

JAYABALAN, N.; RAO, G.R. Efect of physical and chemical mutagens on chiasma frequency in *Lycopersicon esculentum* Mill. **Caryologia**, Italy, v. 40, n. 1-2, p. 115-121, Jan./June 1987.

→ LEHMAN, M.E.; BLUM, U.; GERIG, T.M. Simultaneous effects of ferulic and *p*-coumaric acids on cucumber leaf expansion in split-root experiments. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.20, n.7, p.1773-1782, 1994.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras : manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 351p.

→ LOVETT, J.V. Allelopathic and self-defince in plants. **Australian Weed Control Handbook**, Port Melbourne, v. 2, n. 1, p. 33 -36, 1982.

- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MARKS, G.E. A rapid HCL/toluidine blue squash technic for plant chromosomes. **Stain Technology**, Baltimore, v.48, p.229-231, 1973.
- MARQUÊS, M.A. **Potencial alelopático de resíduos de caruru (*Amaranthus viridis* L.), incorporado em três tipos de solos, sobre a germinação e crescimento inicial do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)** Lavras: ESAL, 1992. 125 p. (Dissertação - Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas).
- MC CLURE, J.W. Physiology and functions of flavonoids. In: **THE FLAVONOIDS**. London: Chapman e Hall, 1975. p. 970 - 1055.
- MC GILL, M.; PATHAK, S.; HSU, T.C. Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickiness. **Chromosoma**, New York, v. 47, p.157-166, 1974.
- NOBUCHI-KATO, H.; MIZUTANI, J.; HASEGAWA, K. Allelopathy of oats. II. Allelochemical effect of L-tryptophan and its concentration in oat root exudates. **Journal Chemical Ecology**, New York, v.20, n.12, p.315-319, 1994.
- PATRICK, Z.A. Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. **Soil Science**, Maryland, v.111, n.1, p. 13-18, Jan.1971.
- PRATLEY, J.E.M.An.; HAIG, T. Following a specific protocol to conclusively establish allelopathy an australian case study. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.115.
- PUTNAM, A.R. Weed allelopathy. In: **WEED physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1985. p. 131-155.
- PUTNAM, A.R.; DUKE, W.D. Allelopathy in agroecosystems. **Annual Review of Phytopathology**, v.16, p. 431-451, 1978.
- REIGOSA, M.J.; GONZÁLES, L.; SOUTO, X.C.; SANCHEZ, A.M. Measuring allelopathic effects of trees on ecophysiological parameters in the understory. Methodological considerations frong a plant physiologist's point of view. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.49.
- RICE, E.L. Allelopathy - an uptake. **The Botanical Review**, New York, v.45, n. 1, p. 15 - 109, 1979.

- RODRIGUES, L.R. de A.; RODRIGUES, T. de J. D.; REIS, R.A. **Alelopatia em plantas forrageiras**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 18 p. (Boletim).
- SANGEINGA, N.; SWIFT, M.J. Nutritional effects of *Eucalyptus* litter on tve growth of Maize (*Zea mays*). **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 41, p. 55-56, 1992.
- SHAKHIDOYATOR, Kh. M.; RASHKES, A.M.; KHIDYROVA, N.K.; KIKTEV, M.M. Secondary metabolits of cotton leaves and their effects on growth. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.203.
- SHEHAD, A.S. Comparative cytological studies of the effects of some aliphatic alcohols and the fatty alcohols from *Euphorbia granulata* and *Pulicari crisper* on mitosi of *Allium cepa*. **Cytologia**, Tokyo, v. 45, p. 507-513, 1980.
- SPANÓ, M.A.; TAKAHASHI, C.S. Effects of niridazole on *Drosophila melanogaster* and cytogenetic evaluation in rat bone marrow and onion root-tip cells. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 2, p. 103 -115, jun. 1981.
- STOCCO, R. de C.; CRUZ, G. C.C. da; SALIBA, F.; BEÇAK, W. Cytogenetic effctcs of an organophorus pesticide on cattle and their progeny. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 4, n.1 p. 55-63, mar. 1981.
- TUKEY, J.R.H.B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. **Botany Review**, Lancaster, v. 1, n. 35, p. 1 - 16, 1969.
- WEIDENHAMER, J.D. New strategies for allelopathy bioassays. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.114
- WHITTAKER, R.H. The biochemical ecology of higher plants In: SONDHEIMER, E.; SIMEONE, J.B. **Chemical ecology**. New York: Academic Press, 1970. p. 336.
- WIEGARD, E.; JUTZI, S.C. Allelopathy or decomposition effects ?. In: FRIST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz - Sapin, 1996. **Anais...** Cádiz - Sapin, 1996. p.200.
- WINK, M.; LATZ-BRÜNING, B. Allelopathic properties of alkaloids and other natural products: possible modes of action. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M.; EINHELIG, F.A (eds.). **Allelopathy: organisms processes, and applications**. Washington: American Chemical Society. 1995. p. 117-126. (ACS Symposium Series, 582.).

APÊNDICE

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	página
1A Índice mitótico de células meristemáticas de raízes de alface, submetidas aos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.....	53
2A Índice prófase de células meristemáticas de raízes de alface submetidas, aos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.....	54
3A Índice mitótico e índice de prófase de células meristemáticas de raízes de plântulas de canafistula, submetidas ao extrato aquoso de folha adulta de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.	55

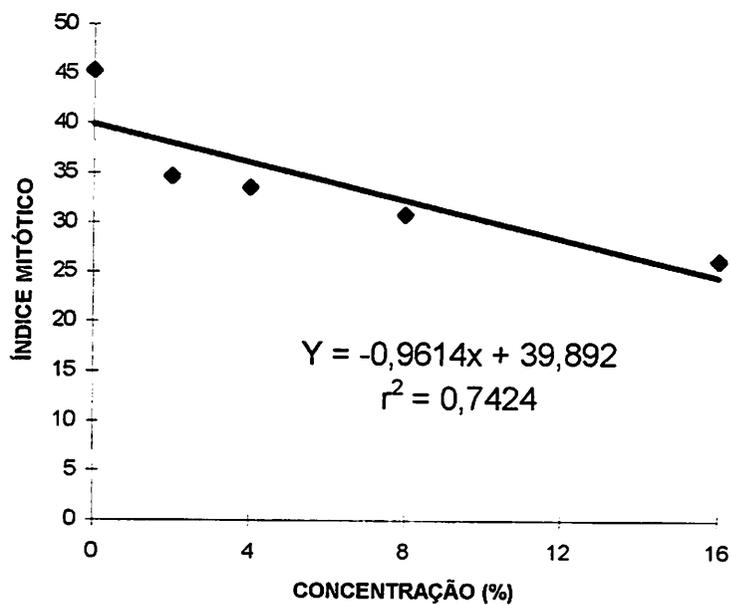


FIGURA 1A - Índice mitótico de células meristemáticas de raízes de alface, submetidas aos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.

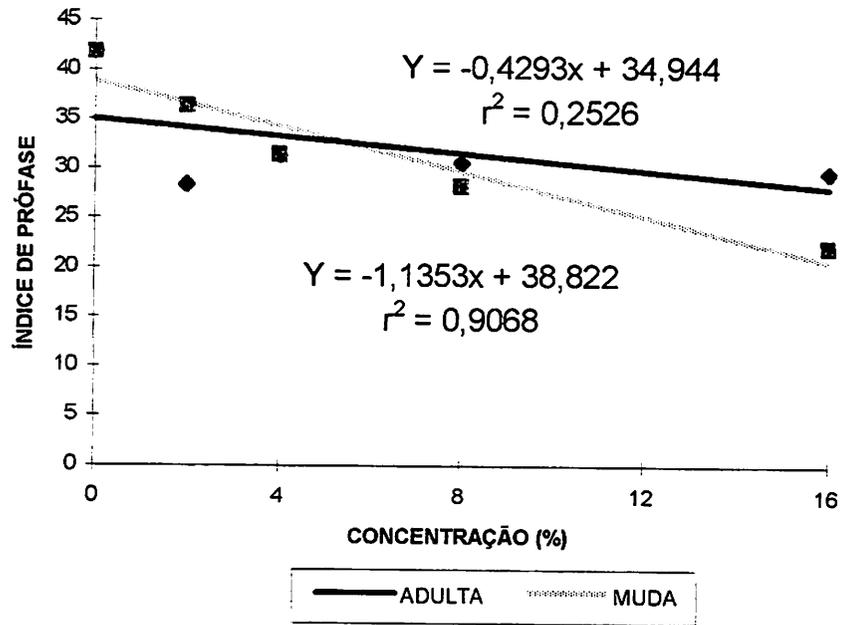


FIGURA 2A - Índice prófase de células meristemáticas de raízes de alface, submetidas aos extratos aquosos de folhas (muda e adulta) de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.

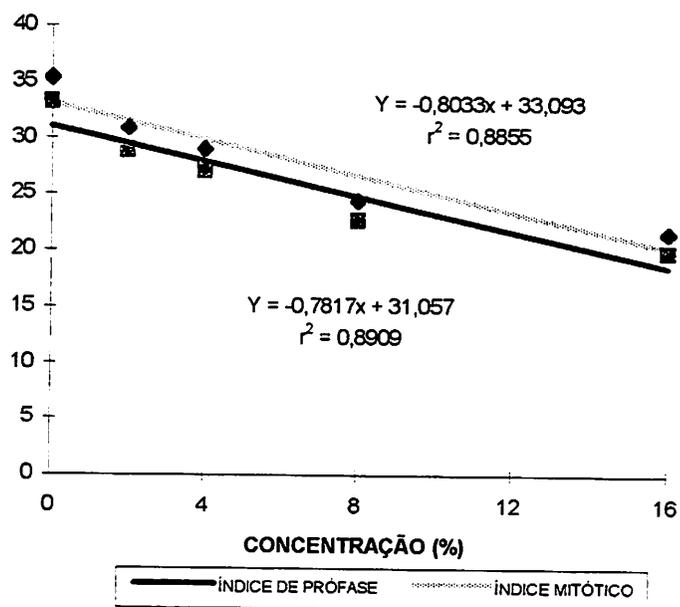


FIGURA 3A - Índice mitótico e índice de prófase de células meristemáticas de raízes de plântulas de canafistula, submetidas ao extrato aquoso de folha adulta de angico-vermelho. UFLA, Lavras, 1997.