

Efeito de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* sobre a germinação e crescimento de *Lactuca sativa* e *Cucumis sativus*

Effect of Different Plant Parts of *Tithonia diversifolia* on the germination and growth of *Lactuca sativa* and *Cucumis sativus*

Efecto de diferentes partes vegetales de *Tithonia diversifolia* en la germinación y crecimiento de *Lactuca sativa* y *Cucumis sativus*

Ana Beatriz Devantier Henzel¹, Isadora Moreira da Luz Real², Ernestino de Souza Gomes Guarino³, Gustavo Schiedeck⁴

¹ Discente no Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Universidade Federal de Pelotas. Mestre em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-2997-5819>. E-mail: anabhenzel@gmail.com

² Discente no Programa de Pós-Graduação em Ambientometria da Universidade Federal do Rio Grande. Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-6333-9437>. E-mail: isadora.real18@hotmail.com

³ Pesquisador. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, Brasil. Doutor em Botânica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. <https://orcid.org/0000-0001-8286-4889>. E-mail: ernestino.guarino@embrapa.br

⁴ Pesquisador. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, Brasil. Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas. <https://orcid.org/0000-0003-3157-3365>. E-mail: gustavo.schiedeck@embrapa.br

Recebido em: 06 jun 2024 - Aceito em: 31 out 2024

Resumo

Alelopatia é o processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, podendo inibir ou estimular o crescimento de outras plantas relativamente próximas. Diante do amplo uso de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray em agroflorestas, este estudo teve por objetivo avaliar os potenciais efeitos biológicos do extrato de diferentes partes vegetais de *T. diversifolia* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de duas espécies indicadoras, *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e cinco tratamentos, constituídos de extratos aquosos de *T. diversifolia*: folhas [1], flores [2], hastes [3], parte aérea [4] (folhas+flores+hastes) e água previamente fervida [5], como testemunha. O tratamento que resultou no efeito mais significativo foi o tratamento 2, seguido do tratamento 4, porém os extratos inibiram o desenvolvimento da radícula em todos os tratamentos, quando comparados ao controle. Extratos vegetais de diferentes partes *T. diversifolia* inibiram os parâmetros de crescimento de *L. sativa* e *C. sativus* na seguinte ordem: flores > parte aérea > folhas > hastes.

Palavras-chave: Alelopatia, bioinsumo, margaridão, teste de germinação.

Abstract

Allelopathy is the process by which secondary metabolites of a specific plant are released, potentially inhibiting or stimulating the growth of other plants near. Given the extensive use of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray in agroforestry systems, this study aimed to evaluate the potential biological effects of extracts from different plant parts of *T. diversifolia* on the germination and initial development of two indicator species, *Lactuca sativa* L. and *Cucumis sativus* L. The experimental design was in randomized blocks, with four replications and five treatments, consisting of aqueous extracts of *T. diversifolia*: leaves [1], flowers [2], stems [3], aerial part [4] (leaves + flowers + stems), and previously boiled water [5], as a control. The treatment that resulted in the most significant effect was treatment 2, followed by treatment 4; however, the extracts inhibited radicle development in all treatments compared to the control. Plant extracts from different parts of *T. diversifolia* inhibited the growth parameters of *L. sativa* and *C. sativus* in the following order: flowers > aerial part > leaves > stems.

Keywords: Allelopathy, organic input, mexican sunflower, germination test.

Resumen

Alelopatía es el proceso por el cual los productos del metabolismo secundario de una planta específica se liberan, pudiendo inhibir o estimular el crecimiento de otras plantas cercanas. Ante el amplio uso de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray en sistemas agroforestales, este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos biológicos potenciales del extracto de diferentes partes vegetales de *T. diversifolia* en la germinación y desarrollo inicial de dos especies indicadoras, *Lactuca sativa* L. y *Cucumis sativus* L. El diseño experimental fue en bloques al azar, con cuatro repeticiones y cinco tratamientos, consistiendo en extractos acuosos de *T. diversifolia*: hojas [1], flores [2], tallos [3], parte aérea [4] (hojas + flores + tallos) y agua previamente hervida [5], como control. El tratamiento que resultó en el efecto más significativo fue el tratamiento 2, seguido por el tratamiento 4; sin embargo, los extractos inhibieron el desarrollo de la radícula en todos los tratamientos en comparación con el control. Los extractos de diferentes partes de *T. diversifolia* inhibieron los parámetros de crecimiento de *L. sativa* y *C. sativus* en el siguiente orden: flores > parte aérea > hojas > tallos.

Palabras clave: Alelopatía, insumo orgánico, botón de oro, prueba de germinación.

INTRODUÇÃO

No extremo sul do Brasil, agricultores tem se dedicado ao desenvolvimento de agroflorestas como alternativa na busca por segurança alimentar e nutricional, geração de renda e conservação de agroecossistemas (Henzel *et al.*, 2021). Entretanto, um dos gargalos relativos ao desenvolvimento das agroflorestas diz respeito ao pouco conhecimento sobre a interação entre as espécies vegetais, pois são raras as informações científicas sobre espécies que podem ou não ser cultivadas no mesmo ambiente.

O cultivo de diversas espécies no mesmo agroecossistema pode trazer a vantagem de propiciar um ambiente ecologicamente mais equilibrado, porém, as plantas, além de competir por recursos, podem produzir, e adicionar ao meio, aleloquímicos nocivos a outras plantas, interferindo na comunidade vegetal. Este resultado é potencializado quando são introduzidas, em um mesmo ambiente, espécies que não coevoluíram. A alelopatia se dá porque algumas plantas apresentam, na sua composição, terpenos, fenóis, taninos e alcaloides que, quando em contato com outras espécies vegetais, podem tanto estimular, como inibir o desenvolvimento dessas (Souza Filho, 2006).

Conhecida popularmente como margaridão, *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae), é uma espécie arbustiva originária do México, com ampla distribuição nas Américas, Ásia e África, sendo considerada uma espécie invasora preocupante em diversos países (Shackleton *et al.*, 2019). A espécie se desenvolve muito bem em solos degradados e com baixa fertilidade, além de ser uma excelente cicladora de nutrientes como N e P (Silveira *et al.*, 2018). Por esses motivos, *T. diversifolia* vem sendo utilizada em sistemas agroflorestais como planta adubadora. Entretanto, estudos apontam a espécie como alelopática (Oke *et al.*, 2011; Kato-Noguchi, 2020), o que pode ser prejudicial para culturas de interesse que estejam consorciadas com ela, ou que estejam sendo adubadas com os seus restos vegetais.

A partir de entrevistas e visitas a agricultores e extensionistas rurais do Sul do Brasil, com o objetivo de melhor entender e colaborar com o desenvolvimento de agroflorestas na região, constata-se a ampla utilização de *T. diversifolia* nas agroflorestas. Os agricultores usam a planta para sombreamento de culturas, quebra-ventos, cobertura de solo e,

principalmente, a podam para usar o material vegetal na adubação. Porém, alguns agricultores consideram a espécie como excelente cicladora e adubadora. Por outro lado, outros reclamam que onde plantam o margaridão, ou quando utilizam seu material vegetal para cobrir e/ou adubar o solo, as culturas não se desenvolvem ou têm seu desenvolvimento retardado. Essa interferência negativa foi observada pelos agricultores principalmente nas hortaliças.

Posterior a uma ampla revisão bibliográfica verificou-se que existem diversos estudos que também apresentam resultados contraditórios (Garsaball; Natera, 2013; Miranda *et al.*, 2015; Silveira, *et al.*, 2018; Banza *et al.*, 2019). Surgindo a indagação do porquê destes resultados divergentes. As informações passadas pelos agricultores e extensionistas rurais, somadas as demandas em relação a pesquisas com agroflorestas, nas quais os entrevistados relataram que as principais dúvidas que os aflige em relação às agroflorestas, diz respeito à interação das plantas companheiras e as espécies indicadas para adubação verde. Isto sugere a necessidade de pesquisas sobre este tema como sendo uma das principais demandas tanto dos agricultores como dos extensionistas.

Partindo da hipótese de que estes resultados contraditórios possam estar relacionados com a parte vegetal de *T. diversifolia* utilizada tanto nos estudos como nas agroflorestas, pois é possível que as substâncias alelopáticas estejam fortemente concentradas em determinada estrutura vegetal da espécie, este trabalho tem como objetivo avaliar os potenciais efeitos biológicos de diferentes partes vegetais de *T. diversifolia* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de duas espécies indicadoras, *Lactuca sativa* L. (alface) e *Cucumis sativus* L. (pepino).

METODOLOGIA

O experimento foi realizado em outubro de 2022, na Estação Experimental Cascata, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul (31°37'07.3" S, 52°30'58.6" W., altitude 180 m.a.n.m.), Sul do Brasil, onde foi coletado material vegetativo de *T. diversifolia* proveniente de uma plantação com aproximadamente 11 anos. Para determinação da atividade alelopática de diferentes partes vegetais da planta, foi realizado

um bioensaio no qual foi avaliado o efeito de extratos produzidos a partir das partes aéreas de *T. diversifolia*, classificadas em folhas, hastes, flores (inflorescências e botões) e uma mistura dos três (folhas+hastes+flores). As plantas foram coletadas, separadas as partes vegetais e dispostas em bandejas para secar em temperatura ambiente até alcançar peso constante. As hastes foram picadas em pedaços de aproximadamente 15 cm. Posteriormente o material foi triturado, primeiramente em um triturador de resíduos orgânicos e, após, em liquidificador industrial.

O preparo dos extratos aquosos foi realizado pelo método de infusão, na concentração de 15% (150 g de material vegetal em 1 L de água) em base seca (massa:volume), usando água fervida como testemunha. Os extratos foram armazenados em frascos de 2 L, por 24 horas em temperatura ambiente. Para a filtragem dos extratos foi utilizado um coador com fios finos no momento da instalação do experimento (Henzel *et al.*, 2022).

Duas espécies foram submetidas ao teste: *Lactuca sativa* L. (alface) e *Cucumis sativus* L. (pepino). As sementes de alface variedade Regina e pepino foram semeadas em caixas Gerbox sobre papel filtro, conforme o procedimento descrito em Brasil (2009), na quantidade de 25 sementes por caixa, com quatro repetições. Foram cinco tratamentos, considerando o controle. Cada tratamento com quatro repetições de 25 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento. O percentual de sementes viáveis, de fato, foi de 82,72% para alface e 82,8% para pepino, sendo esse valor usado como parâmetro para o controle, tomado como base (100%). Portanto, o número mínimo necessário de sementes para cada repetição em cada um dos tratamentos é de 24 para alface e pepino, totalizando 96 sementes por tratamento. A quantidade de extrato utilizada para umedecer o papel filtro foi de 15 ml de extrato para cada Gerbox, seguindo a regra de 2,5 vezes a massa do papel seco (Alves; Silva; Cândido, 2015). A fim de evitar a interação dos componentes, e uma possível alteração na realidade dos resultados, optou-se pelo não uso de qualquer tipo de tratamento antifúngico.

As caixas Gerbox foram mantidas em um germinador de sementes (modelo Magelsdorf), sob temperatura constante de 20° C e iluminação natural, durante sete dias para *L. sativa* e oito para o *C. sativus*, sendo realizada a contagem diária de plântulas germinadas, a partir do quarto dia para *L. sativa* e do quinto dia para o *C. sativus* (Brasil, 2009), quando foi

avaliada a porcentagem de germinação e estado da semente. Foram consideradas germinadas aquelas em que a radícula atingiu, no mínimo, 2 mm de comprimento (Alves; Silva; Cândido, 2015), classificadas como normais as sementes que emitiram radícula intacta ou com pequenos defeitos e, como anormais, as sementes que emitiram radículas danificadas, deformadas, enoveladas ou deterioradas. As sementes que não germinaram foram classificadas em mortas [aquelas em estado de decomposição; aquelas aparentemente saudáveis, porém ainda sem emitir a radícula; e aquelas que apresentavam consistência maciça e rija (Brasil, 2009)].

O delineamento experimental foi bifatorial, com quatro tratamentos, além do tratamento controle, e com quatro repetições inteiramente ao acaso. E os parâmetros observados foram: número de sementes germinadas, índice de velocidade de germinação (IVG) (Santos; Silva-Mann; Ferreira, 2011), Tempo médio de germinação (TMG) (Santos; Silva-Mann; Ferreira, 2011), comprimento eixo hipocótilo-radícula (cm), anomalia de plântulas (necrose da radícula, escurecimento da coifa da radícula, espessamento da radícula) e peso.

As análises estatísticas do conjunto de dados foram realizadas através do software R (versão 4.1.0 – R CORE TEAM, 2021). Realizada estatística descritiva, o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resíduos e o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variâncias. Para verificar se há diferença entre os tratamentos foi realizada a análise de variância (ANOVA one way) para variâncias homogêneas e não homogêneas e o teste H de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos. Para os testes post hoc foi utilizado o teste Tukey para dados normais, teste de Dunn para dados não paramétricos e teste de Games Well para dados com variância não homogênea. Todos os testes foram realizados a 5% de significância.

Os tratamentos serão mencionados como: Tratamento 1: extrato de folhas; Tratamento 2: extrato de flores; Tratamento 3: extrato das hastes; Tratamento 4: extrato de toda parte aérea da planta (folhas+flores+hastes) e o Tratamento Controle (5): água previamente fervida. Os dados são apresentados no formato média \pm desvio-padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato aquoso de *T. diversifolia* interferiu significativamente na germinação (ANOVA Germinação (%): $F(4,75) = 87.88$, $p = 1.56 \times 10^{-27}$; Kruskal-Wallis IVG (germinação/dia): $X^2(4) = 50.66$, $p = \geq 0.0001$; ANOVA para variâncias não iguais TMG (dias): $F(3,5) = 5.89$, $p = 0.04$), no processo germinativo das sementes de *L. sativa*. Nas sementes submetidas ao tratamento 2, a germinação final foi zero, ou seja, nenhuma semente de *L. sativa* foi capaz de germinar quando submetida ao tratamento com extrato das flores de *T. diversifolia*. Os tratamentos 3 e 4 não diferiram estatisticamente entre si, porém tiveram menor germinação do que as sementes expostas ao tratamento controle (**Tabela 1**).

Sementes de *L. sativa* submetidas ao tratamento 4 apresentaram menor velocidade de germinação quando comparadas com as sementes germinadas expostas ao tratamento controle. Já os tratamentos 1 e 3, embora apresentem menor IVG que o controle, não diferiram estatisticamente. Por último, o Tempo Médio de Germinação (TMG) não apresentou diferença entre os tratamentos (**Tabela 1**).

Tabela 1: Percentual de Germinação; Tempo Médio de Germinação (TMG) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) exposta a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae).

Tratamento	Germinação (%)	IVG (germ/dia)	TMG
(1) Folhas	84,89±3,59 ^{ab}	3,258±0,71 ^{ab}	4,41±0,30 ^a
(2) Flor	0 ^d	0 ^d	0 ^b
(3) Hastes	72,80±2,69 ^{bc}	2,79±0,47 ^{bc}	4,52±0,44 ^a
(4) Parte Aérea	61,02±5,09 ^c	2,36±1,05 ^c	4,23±0,18 ^a
(5) Controle	100±3,38 ^a	3,92±1,05 ^a	4,01±0,02 ^a

Nota: Os números entre parênteses é o número do tratamento referente a metodologia. Média (± desvio padrão). Diferentes letras minúsculas na coluna indicam uma diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

No que diz respeito a germinação de *C. sativus*, observa-se que os tratamentos resultaram em diferentes taxas (teste H Kruskal-Wallis - Germinação (%): $X^2(4) = 58.83$, $p = \geq 0.0001$; ANOVA para variâncias não iguais IVG (germ/dia) = $F(4,45) = 93.30$, $p = \geq 0.0001$; ANOVA para variâncias não iguais TMG (dias): $F(4,15) = 41.92$, $p = p = \geq 0.0001$). Sendo que a maior germinação ocorreu nos tratamentos: controle, 1 e 3.

Diferente de *L. sativa*, algumas sementes de *C. sativus* germinaram quando expostas ao tratamento 2, porém, quando comparado ao controle, constata-se que houve uma significativa redução no número de sementes germinadas, apenas $35\% \pm 3,38$ (Tab. 2), sendo este o tratamento que mais afetou, de forma negativa, a germinação de sementes de *C. sativus*. Já quanto ao IVG das sementes de *C. sativus*, o único tratamento que diminuiu a taxa diária de germinação foi o extrato de flores (tratamento 2), sendo que o mesmo padrão também ocorreu com o TMG (Tabela 2).

Tabela 2: Percentual de Germinação; Tempo Médio de Germinação (TMG) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *Cucumis sativus* L. exposto a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae).

Parte	Germinação (%)	IVG (germ/dia)	TMG (dias)
(1) Folhas	$99,03 \pm 3^a$	$3,52 \pm 0,56^a$	$4,42 \pm 0,28^a$
(2) Flor	$35,02 \pm 3,38^c$	$1,17 \pm 0,37^b$	$6,06 \pm 0,44^b$
(3) Hastes	$100 \pm 2,51^a$	$3,71 \pm 1,05^a$	4 ± 0^a
(4) Parte Aérea	$85,02 \pm 2,89^b$	$3,04 \pm 0,67^a$	$4,23 \pm 0,18^a$
(5) Controle	$100 \pm 1,34^a$	$3,62 \pm 0,81^a$	$4,12 \pm 0,18^a$

Nota: os números entre parênteses é o número do tratamento referente a metodologia. Média (\pm desvio padrão). Diferentes letras minúsculas na coluna indicam uma diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Na variável comprimento do eixo hipocótilo-radicular houve diferença estatística entre os tratamentos para as duas espécies (teste H - Kruskal-Wallis *L. sativa* : $X^2(4) = 295.54$, $p < 2.20 \times 10^{-16}$; Kruskal-Wallis *C. sativus* : $X^2(3) = 200.94$, $p = \geq 0.0001$) em que se constatou que os maiores comprimento de eixo ocorreram no tratamento controle, *L. sativa* com 5.78 ± 1.47 cm e *C. sativus* 11.1 ± 3.76 cm, e os menores eixos no tratamento 2 (extrato de flores), *C. sativus* com 0.34 ± 0.10 cm e a *L. sativa* não germinou (**Figura 1**).

Além do comprimento, também foi avaliado se as plântulas apresentavam diferenciação visível quanto às partes hipocótilo e radícula, pois é um parâmetro que mostra o grau de desenvolvimento da planta e não apenas o seu comprimento. Neste quesito os resultados mostram que o controle é o tratamento que possui o maior número de sementes germinadas com caule e raiz bem definidos para ambas as espécies, em seguida, em ordem decrescente, o extrato de haste, parte aérea, folhas e flor (**Figura 2**).

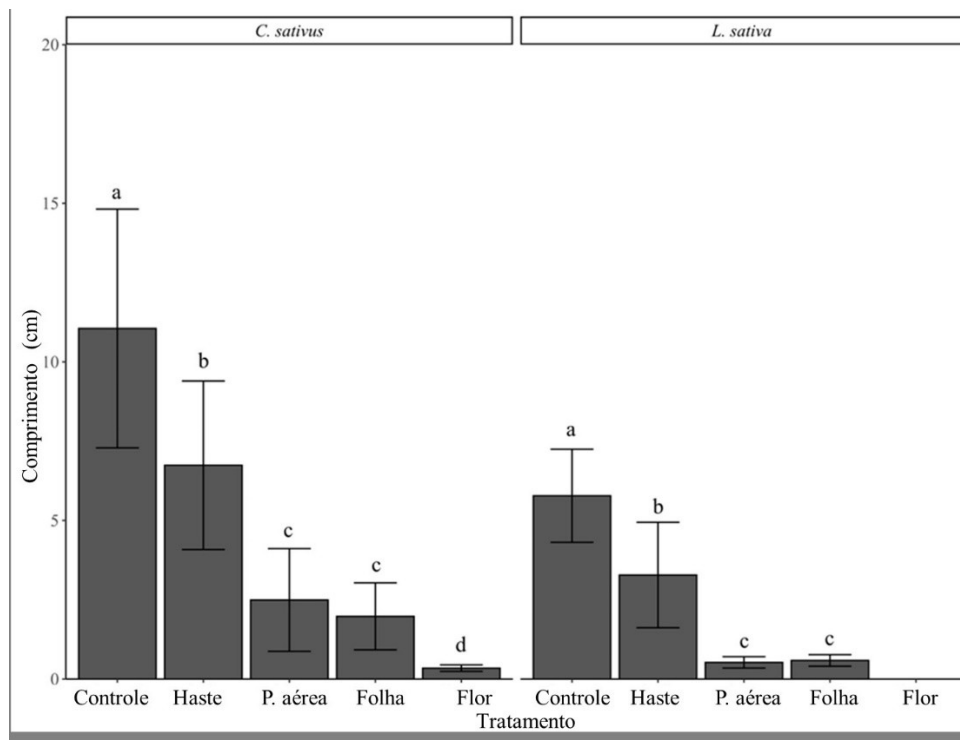


Figura 1: Gráfico de barra (média ± desvio padrão) do comprimento do eixo hipocótilo-radícula (cm), de sementes germinadas de *Cucumis sativus* e *Lactuca sativa* expostas a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

Nota: Diferentes letras minúsculas indicam uma diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

Este quesito foi avaliado com a intenção de discutir o atraso no desenvolvimento das plantas provocado pelo contato com os extratos, pois nem sempre a germinação é afetada e sim a saúde da plântula. Quando o crescimento é retardado devido a perda do vigor, acaba prejudicando o estabelecimento da mesma em campo, um atraso que pode significar perda de espaço por competição com outras espécies que se estabelecem primeiro. Em outro bioensaio de germinação com extratos de folhas e botões de *T. diversifolia*, foi constatado que o tamanho de radícula de *L. sativa* foi menor quando essa foi exposta ao extrato de folhas, do que quando exposta ao extrato de botões, porém o hipocótilo se manteve igual em todos os casos. (Rodrigues-Cala; González-Oliva, 2017). Miranda *et al.* (2015) identificaram lactonas sesquiterpênicas presentes em extratos de *T. diversifolia* como as principais responsáveis pelo estiolamento de mudas de *Triticum aestivum* L. (trigo).

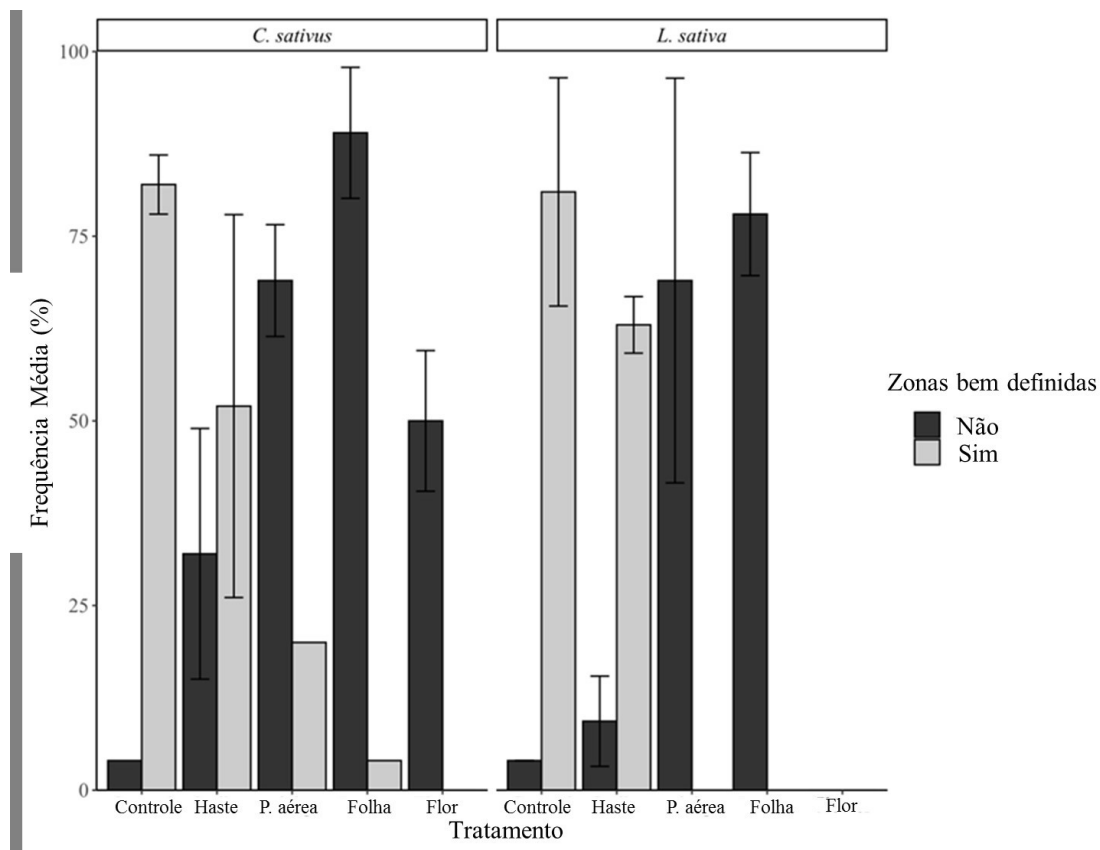


Figura 2: Gráfico de barra (média \pm desvio padrão) da avaliação do número de plântulas que apresentam ou não estruturas de caule e raiz claramente definidas, de sementes germinadas de *Cucumis sativus* e *Lactuca sativa* expostas a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

Além de afetar o tamanho das plântulas, anomalias do epicótilo e radícula também foram visíveis, sendo que as plântulas apresentaram sintomas intensificados nos tratamentos referentes a parte aérea, folhas e flor tanto para *L. sativa* quanto para o *C. sativus* (**Figura 3**). Houve redução de formação de plântulas normais e maior sensibilidade na raiz, podendo ser observadas necroses e anomalias, como engrossamento e encurvamento (**Figura 4**). Estes tratamentos apresentaram anomalias, como escurecimento, engrossamento e encurvamento da radícula. No tratamento controle as plântulas desenvolveram-se saudáveis, o que tornou possível a observação de zona pilífera e ramificações da raiz e não foram observadas anomalias no epicótilo, necrose, escurecimento, encurvamento ou engrossamento da raiz (**Figura 3: 1e e 2e**).

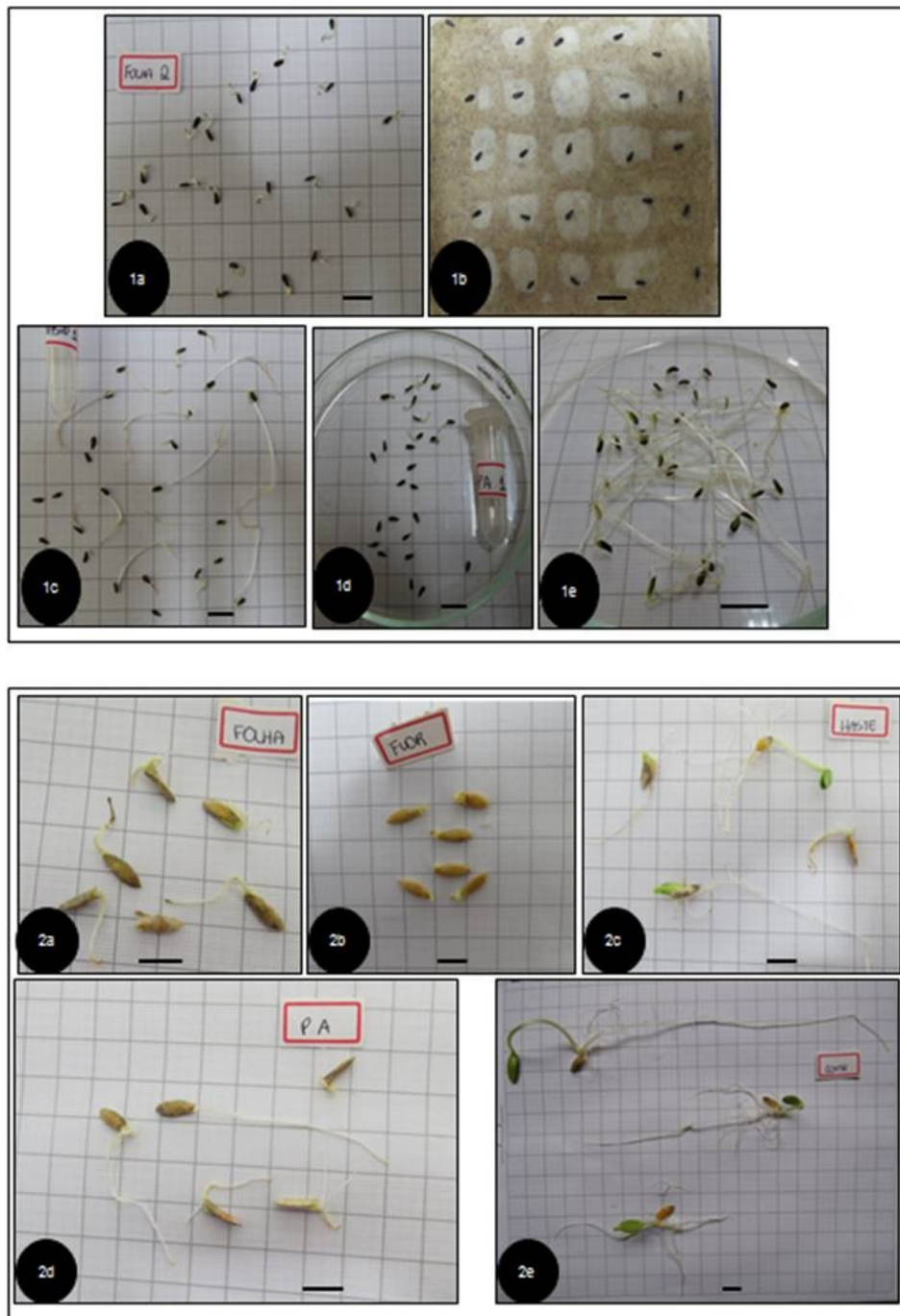


Figura 3: Fotos ao final do experimento. De 1a à 1e: sementes de *Lactuca sativa* no sétimo dia de experimento. De 2a à 2e: sementes de *L. sativus* ao oitavo dia de experimento. 1a e 2a: sementes expostas ao extrato de folhas de *T. diversifolia*. 1b e 2b: sementes expostas ao extrato de flores de *T. diversifolia*. 1c e 2c: sementes expostas ao extrato de hastes de *T. diversifolia*. 1d e 2d: sementes expostas ao extrato da parte aérea de *T. diversifolia*. 1e e 2e: sementes expostas ao tratamento controle. O traço preto nas imagens da figura indica escala de 1 cm.

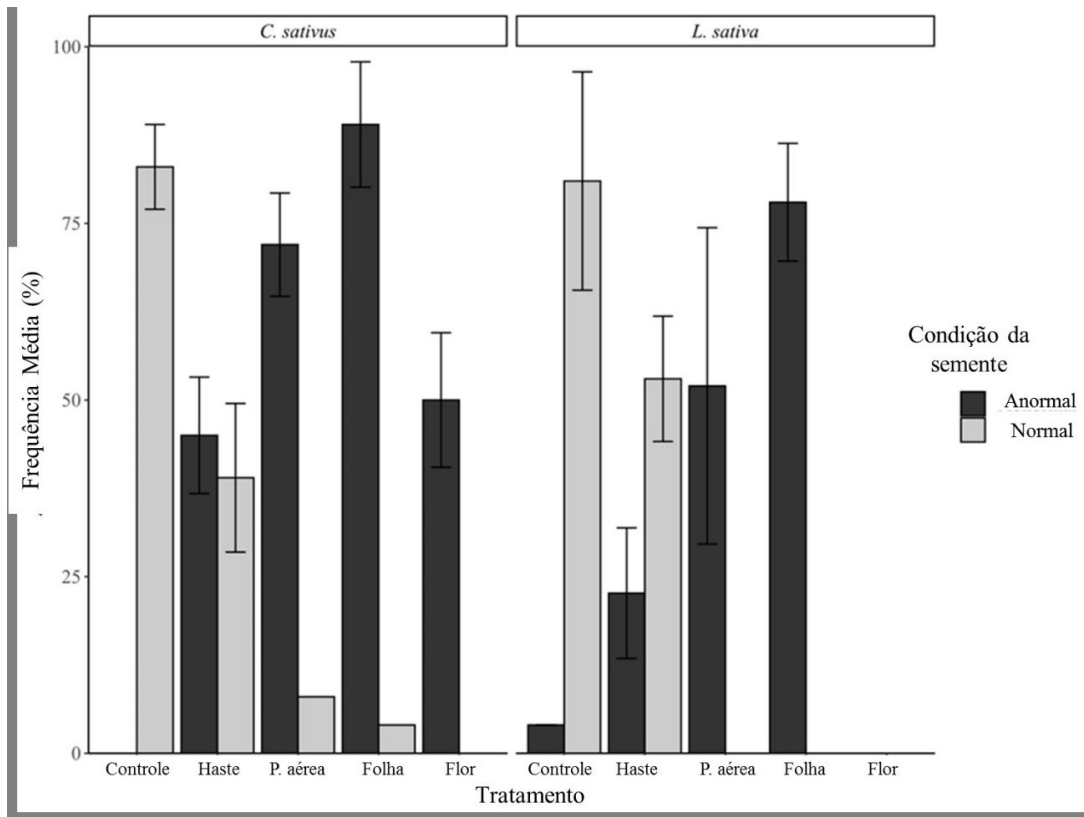


Figura 4: Gráfico de barra (média ± desvio padrão) das condições das sementes germinadas, de sementes germinadas de *Cucumis sativus* e *Lactuca sativa* expostas a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

Após avaliar a quantidade de plântulas anormais, e apenas como essas se comportam, a fim de identificar os possíveis efeitos que os extratos provocam nas plântulas que resulta em anomalias, identificou-se três tipos de anomalias: enovelamento (*C. sativus* 26.49% e *L. sativa* 46.28%), espessamento da radícula (*C. sativus* 33.59% e *L. sativa* 2.19%) e coifa preta (*C. sativus* 48.69% e *L. sativa* 43.88%) (Figura 5).

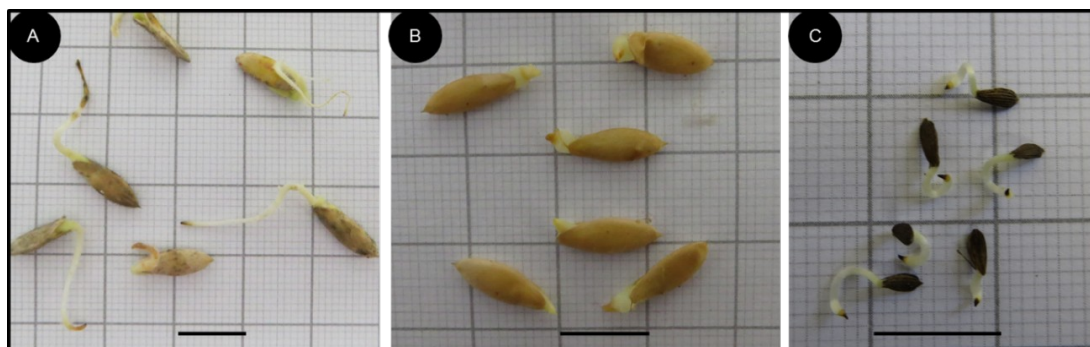


Figura 5: A – Sementes de *Cucumis sativus* enoveladas e com coifa preta. B – Sementes de *Cucumis sativus* com espessamento de radícula. C – Sementes de *Cucumis sativus* enoveladas e com coifa preta. O traço preto nas imagens da figura indica a escala de 1 cm.

Diante deste resultado analisamos que, do total de sementes de *L. sativa* expostas ao tratamento 1 (folhas), $78 \pm 8,38\%$ apresentaram anomalias e, dentro desta anomalia, $64 \pm 11,31\%$ foi enovelamento, $89 \pm 8,86\%$ coifa oxidada e $48 \pm 11,31\%$ engrossamento da radícula) (Tabela 3). O presente estudo demonstrou anomalias nas plântulas de *L. sativa* e *C. sativus* quando submetidas ao extrato aquoso de margaridão. As anomalias na radícula de *L. sativa* e *C. sativus* caracterizaram-se como redução de tamanho e interferência na formação, observando-se engrossamento, encurvamento e necrose.

Tabela 3: Médias (\pm desvios padrão) para as variáveis tipos de anomalias: Espessamento da radícula (%), Coifa Preta (%) e Enovelamento (%) de sementes de *Cucumis sativus* e *Lactuca sativa* expostas a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

Planta	Tratamento	Espessamento da radícula (%)	Coifa oxidada (%)	Enovelamento (%)
<i>C. sativus</i>	(1) Folhas	$48 \pm 11,31$	$89 \pm 8,86$	$64 \pm 11,31$
	(2) Flores	$47 \pm 7,57$	$43 \pm 8,86$	$6 \pm 2,82$
	(3) Hastes	$6 \pm 2,82$	16 ± 0	$12 \pm 11,31$
	(4) Parte Aérea	$31 \pm 18,29$	$51 \pm 20,49$	$29 \pm 16,12$
	(5) Controle	0	0	0
<i>L. sativa</i>	(1) Folhas	$10 \pm 8,48$	$84 \pm 13,46$	$73 \pm 11,48$
	(2) Flores	0	0	0
	(3) Hastes	4 ± 0	$6 \pm 2,82$	$18,66 \pm 9,23$
	(4) Parte Aérea	4 ± 0	$52 \pm 22,39$	$44 \pm 27,12$
	(5) Controle	0	4 ± 0	0

Os metabolitos existentes em extratos de margaridão não só reduzem o crescimento das plântulas, como também causam alterações em seu aspecto morfológico. Expostas a extratos de margaridão, plântulas de *L. sativa* sofreram alterações como debilidade nos talos, que não suportaram o porte ereto das plantas, além de escurecimento dos tecidos e, finalmente, a morte das plântulas (Garsaball; Natera, 2013). O modo de ação dos aleloquímicos é variável, se ligando às membranas da célula vegetal da planta receptora ou penetrando nas células. Estas ações interferem diretamente no metabolismo da planta receptora e podem resultar em uma série de reações com vários tipos de feedback, quando rotas inteiras podem ser alteradas, mudando processos complexos fundamentais para a sobrevivência do organismo (Formagio *et al.*, 2014). Além disso, o tempo de residência dos aleloquímicos, a persistência e a transformação podem aumentar, diminuir ou fazer

cessar seu efeito alelopático (Formagio *et al.*, 2014). Nesse contexto, substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Assim, a avaliação da normalidade das plântulas é um instrumento valioso e quantitativo (Formagio *et al.*, 2014).

Foi medida a massa úmida do total de sementes de cada Gerbox. Observa-se que, como não houve germinação nas sementes de *L. sativa* submetidas ao tratamento Flor, estas apresentaram o menor peso e, já para as sementes submetidas ao tratamento controle, o peso foi o maior, visto que as plantas apresentaram desenvolvimento considerado normal (**Figura 6**). Tanto para *L. sativa* quanto para o *C. sativus*, os tratamentos seguiram a classificação em ordem crescente de pesos da seguinte forma: flor, parte aérea, folhas, hastes e controle. Como as duas espécies apresentaram resultados semelhantes, evidencia-se que o maior efeito sobre o peso se deu no tratamento que testou o extrato aquoso das flores de margaridão.

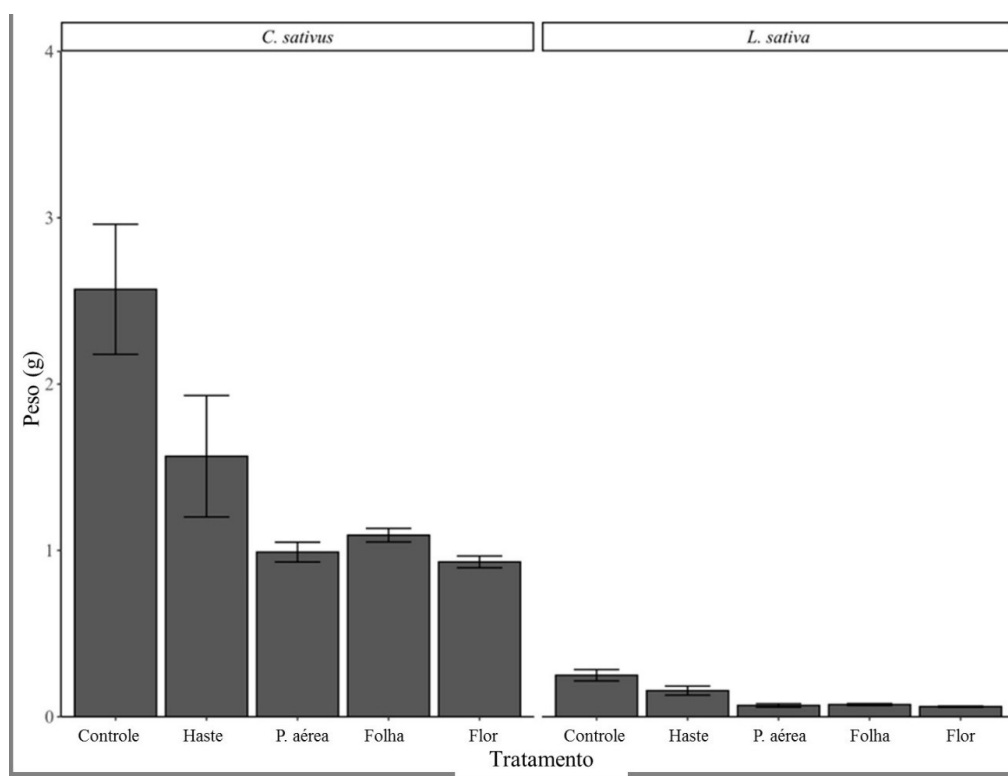


Figura 6: Gráfico de barras (média ± desvio padrão) do peso das sementes germinadas de *Cucumis sativus* e *Lactuca sativa* expostas a extratos aquosos de diferentes partes vegetais de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

Os resultados obtidos neste bioensaio demonstraram o potencial alelopático do extrato aquoso do margaridão, tendo em vista sua influência na germinação de sementes, inibição do crescimento, diminuição em medidas de peso e comprimento, além de formação de anomalias em *L. sativa* e *C. sativus*. Tendo em vista que o margaridão é usado em agroecossistemas com a maior parte da destinação para agricultura, e o potencial alelopático que este possui, torna-se de grande importância que estudos sugiram novas opções de uso da espécie e práticas de manejo para prevenção da poluição de ecossistemas, assim como testes com plantas invasoras. O potencial aleloquímico das flores deve ser testado na criação de herbicidas naturais, menos agressivos ao ambiente, à base de *T. diversifolia*. Kato-Noguchi (2020), alerta para as substâncias fitotóxicas liberadas no solo, seja pelos exsudatos de tecidos vegetais vivos ou pela decomposição de resíduos vegetais de *T. diversifolia*, pois mesmo a planta servindo como adubo verde e aumentando a produtividade nas lavouras, ainda assim, a espécie é alelopática e contém várias substâncias fitotóxicas, que, provavelmente, são liberadas no solo.

Ao comparar óleos voláteis constituintes de folhas e inflorescências de *T. diversifolia*, Sampaio e Costa (2018), identificaram monoterpenos como principal constituinte, tanto para as folhas quanto para as flores, no qual cis-Crisantenol é o principal constituinte discriminante dos óleos voláteis das inflorescências, e α e β -Pineno das folhas. Os monoterpenos são relatados como substâncias responsáveis por atividades alelopáticas em diversas espécies vegetais (Souza Filho *et al.*, 2009) capazes de causar danos às membranas e ao processo respiratório das células das plantas, uma vez que podem ser sequestrados pelas estruturas secretoras das mesmas (Gershenzon; Mcconkey; Croteau, 2000). Além disso, embora no estudo de Sampaio e Costa (2018) haja predominância de monoterpenos como componentes principais na constituição de extratos de *T. diversifolia*, também foram detectados metabólitos que não pertencem ao grupo dos terpenos, porém que também estão relacionados a atividades alelopáticas como ácidos graxos (Santos *et al.*, 2012), aldeídos (Bitencourt; Santos; Souza Filho, 2007), éteres cíclicos (Inoue *et al.*, 2010) e hidrocarbonetos, que, em sua grande maioria, foram encontrados em amostras de óleos voláteis apenas das inflorescências (Sampaio e Costa, 2018).

As substâncias responsáveis pela alelopatia não estão necessariamente distribuídas por toda a planta, e podem estar concentradas em diferentes partes vegetais. Espécies como *Trichilia silvatica* C.DC. (Meliaceae) apresentaram efeito inibitório mais acentuado com extratos das flores do que de outras partes vegetais da planta (Formagio *et al.*, 2014). Em um estudo conduzido por Silva *et al.* (2021) quanto ao uso dos extratos de *Achillea millefolium* L (Asteraceae), os extratos do caule e da raiz da planta provocaram estímulos no desenvolvimento de *L. sativa*, enquanto o extrato produzido com as flores causou efeito inibitório. Os autores relacionam o resultado com a provável diferença na composição química das diferentes partes da planta, sendo que, possivelmente, nas flores haja maior quantidade de moléculas com efeitos alelopáticos inibitórios.

Objetivando avaliar o potencial alelopático do margaridão por meio de testes de germinação e emergência de plântulas de *L. sativa*, Rodríguez-Cala e González-Oliva (2017) concluíram que a espécie não possui capacidade alelopática. Porém, extratos aquosos de *T. diversifolia* inibiram uma porcentagem de germinação, plumulação e de crescimento radical de mudas de milho (Chukwuka; Obiakara; Ogunsumi, 2014), e foram fitotóxicos para a germinação e para o crescimento de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. (Otusanya; Ilori, 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A hipótese de que as diferentes respostas ao uso de *T. diversifolia* estão relacionadas com a parte vegetal utilizada foi confirmada. As respostas das espécies testadas (alface e pepino) não foram idênticas, indicando que o efeito alelopático potencial de *T. diversifolia* pode ser espécie-específico, quando os sinais de efeito (positivo ou negativo) dependem da espécie receptora. No entanto, tanto *C. sativus* como *L. sativa* tiveram seu desenvolvimento prejudicado pelos extratos.

Conclui-se que, em condições controladas, extratos produzidos de partes vegetais reprodutivas de *T. diversifolia* (inflorescências e botões), afetam negativamente o desenvolvimento inicial de *L. sativa* (alface) e *C. sativus* (pepino) em maior intensidade do que extratos de folhas e hastes. Os parâmetros de crescimento de *L. sativa* e *C. sativus*

sofreram inibição quando expostos aos extratos de diferentes partes *T. diversifolia* na seguinte ordem: flores > parte aérea > folhas > hastes.

Diante desses resultados cabe refletir sobre os efeitos que *T. diversifolia*, principalmente suas partes reprodutivas, podem causar nas plantas que compartilham do mesmo ambiente que ela ou que são adubadas com o seu material vegetal. Portanto, este estudo serve como um alerta para que agricultores observem com mais atenção os efeitos provocados pelo uso da espécie em suas agroflorestas. Entretanto, cabe ressaltar que estudos conduzidos sob condições controladas de laboratório, podem comprovar que os tecidos vegetais de uma planta específica produzem substâncias bioativas que afetam as funções de uma espécie-alvo, ou seja, que a planta doadora produz compostos bioativos e apenas sugere que, em condições naturais, possa prejudicar as espécies vizinhas. Portanto, para avaliar se os efeitos alelopáticos são exercidos da mesma forma e sua intensidade em condições naturais, é preciso reproduzir o experimento em campo. Neste sentido, para responder de forma mais completa a inquietação dos agricultores quanto ao potencial alelopático de *T. diversifolia* é necessário dar continuidade as pesquisas com a espécie.

Por fim, recomenda-se que futuras pesquisas testem o uso da parte reprodutiva de *T. diversifolia* no controle de plantas espontâneas para a produção de bioherbicidas. A fim de gerar um produto capaz de facilitar o manejo agroecológico de maneira sustentável, evitando os impactos negativos no meio ambiente causados por maquinários pesados e insumos sintéticos.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida a primeira autora.

Copyright (©) 2024 – Ana Beatriz Devantier Henzel, Isadora Moreira da Luz Real, Ernestino de Souza Gomes Guarino, Gustavo Schiedeck.

REFERÊNCIAS

ALVES, Charline Zaratini; SILVA, Josué Bispo da; CÂNDIDO, Ana Carina da Silva. Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de goiaba. *Revista Ciência Agronômica*, v. 46, p. 615-621, 2015.

- BANZA, Mukalay John *et al.* Evaluation de la réponse du maïs (*Zea mays* L.) installé entre les haies de *Tithonia diversifolia* à Lubumbashi, RD Congo. **Journal of Applied Biosciences**, v. 134, p. 13643-13655, 2019.
- BITENCOURT, Heriberto R.; SANTOS, Lourivaldo da Silva; SOUZA FILHO, Antônio Pedro S. Atividade alelopática de chalcona sintética, de seus precursores e de cetonas e aldeídos relacionados. **Planta daninha**, v. 25, p. 747-753, 2007.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 2009. 398p.
- CHUKWUKA, Kanayo S.; OBIAKARA, Maxwell C.; OGUNSUMI, Israel A. Effects of aqueous plant extracts and inorganic fertilizer on the germination, growth and development of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural Sciences**, v. 59, n. 3, p. 243-254, 2014.
- FORMAGIO, Anelise S. N. *et al.* Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Biosci. J**, v. 30, p. 629-638, 2014.
- GARSABALL, José Alberto Laynez; NATERA, Jesús Rafael Méndez. Efectos alelopáticos de extractos acuosos de hojas de botón de oro [*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.] sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). **Scientia agropecuaria**, v. 4, n. 3, p. 229-241, 2013.
- GERSHENZON, Jonathan; MCCONKEY, Marie E.; CROTEAU, Rodney B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v. 122, p. 205-13, 2000.
- HENZEL, Ana Beatriz D. *et al.* Vozes Rurais: a racionalidade nos Sistemas Agroflorestais do sul do Brasil. **Revista IDEAS**, v. 15, n. 1, p. e021011-e021011, 2021.
- HENZEL, Ana Beatriz D. *et al.* Allelopathic potential of aqueous extracts from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 21, n. 4, p. 398-403, 2022.
- INOUE, Miriam H. *et al.* Potencial alelopático de *Annona crassiflora*: efeitos sobre plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 488-498, 2010.
- KATO-NOGUCHI, Hisashi. Involvement of allelopathy in the invasive potential of *Tithonia diversifolia*. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 766, 2020.
- MIRANDA, Maria A. F. M. *et al.* Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 78, n. 5, p. 1083-1092, 2015.
- OKE, Samson O. *et al.* Effects of aqueous shoot extract of *Tithonia diversifolia* on the growth of seedlings of *Monodora tenuifolia* (Benth.), *Dialium guineense* (Willd.) and *Hildegardia barteri* (Mast.). **Kosterm. Not. Sci. Biol.** v. 3, p. 64-70, 2011.
- OTUSANYA, Olutobi; ILORI, Olasupo. Phytochemical screening and the phytotoxic effects of aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) a. Gray. **International Journal of Biology**, v. 4, n. 3, p. 97, 2012.
- R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2021.
- RODRÍGUEZ-CALA, Diana; GONZÁLEZ-OLIVA, Lisbet. Testing the allelopathic effect of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) on a model species. **Acta Botánica Cubana**, v. 216, n. 3, p. 167-174, 2017.
- SAMPAIO, Bruno L.; COSTA, Fernando B. Influence of abiotic environmental factors on the main constituents of the volatile oils of *Tithonia diversifolia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 135-144, 2018.
- SANTOS, Allívia R. F.; SILVA-MANN, Renata; FERREIRA, Robério Anastácio. Restrição hídrica em sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Árvore**, v. 35, n. 2, p. 213-220, 2011.
- SANTOS, Igor L. V. L. *et al.* Sorgoleone: benzoquinona lipídica de sorgo com efeitos alelopáticos na agricultura como herbicida. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 135-144, 2012.

SHACKLETON, Ross. T. *et al.* Distribution of invasive alien *Tithonia* (Asteraceae) species in eastern and southern Africa and the socioecological impacts of *T. diversifolia* in Zambia. **Bothalia-African Biodiversity & Conservation**, v. 49, n. 1, p. 1-11, 2019.

SILVA, Diônvera C. *et al.* Atividade alelopática de diferentes partes vegetais de *Achillea millefolium* e *Cymbopogon citratus* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de sementes e plântulas de *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 21, p. 123-131, 2021.

SILVEIRA, Carlos Augusto P. *et al.* **Produção de biomassa e acúmulo de nutrientes em plantas de *Tithonia diversifolia* a partir de diferentes agrominerais**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2018. (Série Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 297).

SOUZA FILHO, Antônio Pedro S. *et al.* **Alelopatia e as plantas**. 1 ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006.

_____. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 389-395, 2009.