

Desempenho fisiológico e metabolismo antioxidativo de plântulas de arroz-vermelho sob ação do extrato de *Philodendron bipinnatifidum* Schott¹

Tiago Zanatta Aumonde², Emanuela Garbin Martinazzo³, Tiago Pedó², Junior Borella⁴,
Luciano do Amarante⁴, Francisco Amaral Villela² & Dario Munt de Moraes^{2,4}

¹ Parte integrante da Tese de Doutorado do primeiro autor no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, da Universidade Federal de Pelotas.

² Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitotécnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Av. Eliseu Maciel, s/n, Campus Capão do Leão, Caixa Postal .354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. tiago.aumonde@gmail.com, tiago.pedo@gmail.com, francisco.villela@pq.cnpq.br; moraesdm@ufpel.edu.br

³ Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Itália, s/n, Campus Carreiros, Caixa Postal .474, CEP 96203-900, Rio Grande, RS, Brasil. emartinazzo@furg.br

⁴ Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Botânica, Av. Eliseu Maciel, s/n, Campus Capão do Leão, Caixa Postal .354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. borellaj@gmail.com, moraesdm@ufpel.edu.br

Recebido em 25.III.2014. Aceito em 11.V.2015.

RESUMO – O trabalho objetivou avaliar a influência da concentração do extrato de folhas de *Philodendron bipinnatifidum* Schott sobre características fisiológicas de sementes e plântulas de arroz-vermelho (*Oryza sativa* L.). Foram avaliados germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e raiz primária, condutividade elétrica, teores de clorofila, atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, peroxidação lipídica e teor de peróxido de hidrogênio, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea e de raiz e massa seca total das plântulas emergidas. Observou-se redução da germinação, dos teores de clorofila e do comprimento de raiz com o aumento da concentração do extrato. Houve incremento na peroxidação lipídica e na atividade das enzimas superóxido-dismutase e ascorbato-peroxidase, ao aumentar a concentração do extrato. O extrato de *P. bipinnatifidum* apresenta toxidez nas sementes e nas plântulas de arroz-vermelho dependendo da concentração.

Palavras-chave: clorofila, enzimas antioxidantes, germinação, crescimento inicial

ABSTRACT – **Physiological performance and antioxidant metabolism of red rice seedlings due actions to *Philodendron* extract.** This research aimed to evaluate the leaves extract concentration influence of *Philodendron bipinnatifidum* Shott on physiological characteristics of red rice seeds (*Oryza sativa* L.) and seedlings. It was evaluated germination, first count germination, speed and germination speed index, length of shoot and root, chlorophyll content, electrical conductivity, activity of the enzymes superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase, lipid peroxidation, content of hydrogen peroxide and seedling emergence, length of organs and total dry mass of seedlings emerged. Observed reducing the germination, the contents of chlorophyll and root length was reduced with increasing concentration of the extract was observed. There was an increase in the lipid peroxidation and activity of the enzymes superoxide dismutase and ascorbate peroxidase, with the concentration of the extract. The extract of *P. bipinnatifidum* show toxicity in the seeds and in seedlings of red rice depending on the concentration.

Keywords: chlorophyll, antioxidants enzymes, germination, initial growth

INTRODUÇÃO

O arroz-vermelho (*Oryza sativa* L.), planta daninha que apresenta elevado nível de degrane natural, é infestante de áreas cultivadas com arroz irrigado e, por ser dotado de elevada capacidade competitiva, influencia negativamente diversos atributos físicos e fisiológicos de genótipos cultivados, resultando em redução na produtividade. Além disso, por ser de difícil controle, constitui-se na principal daninha do arroz comercial (Noldin *et al.* 2004).

Estudos envolvendo extratos e compostos de origem vegetal têm sido conduzidos com vistas a avaliar seu efeito sobre a germinação e o crescimento inicial de plantas cultivadas e daninhas. O favorecimento ou a inibição destes eventos fisiológicos são processos mediados por compostos tóxicos oriundos do metabolismo secundário vegetal e conhecidos como aleloquímicos. A síntese e concentração destes compostos são dependentes da espécie e do órgão vegetal, ecossistema e nível de estresse imposto (Oliveira Jr. *et al.* 2011).

Os aleloquímicos podem atuar diretamente sobre estruturas das sementes e das plântulas, ou como sinalizadores em processos de degradação celular, desencadeando a produção e o acúmulo de formas reativas de oxigênio, influenciando a permeabilidade e seletividade de membranas celulares, com reflexo na redução da velocidade e da porcentagem de germinação, ou ainda, promovendo modificações em nível hormonal e fotossintético (Carillo *et al.* 2010, Abugre *et al.* 2011), refletindo-se no retardamento do crescimento inicial de plântulas.

Entre os principais metabólitos secundários com função alelopática temos os esteróides, os fenóis, os terpenos, os alcalóides, os taninos, as cumarinas e os flavonóides (Kupidowska *et al.* 2006, Mendes *et al.* 2013). A espécie *Philodendron bipinnatifidum* Schott, conhecida por banana-de-macaco ou filodendro, é uma planta cujo gênero apresenta na sua constituição limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, além de outros compostos (Feitosa *et al.* 2007) que a tornam potencialmente tóxica as sementes e as plântulas de arroz-vermelho.

A fitotoxicidade e a deterioração de sementes tem sido relacionadas com a alteração da atividade de enzimas do metabolismo antioxidativo, envolvidas na remoção de radicais livres (Rosa *et al.* 2005) ou em plântulas sob condição de estresse. Desse modo, a determinação da atividade destas enzimas concomitantemente à avaliação de teores de clorofila

e atributos de qualidade fisiológica de sementes, permite a melhor elucidação do nível de estresse e da toxicidade ocasionados pelo extrato sobre a semente ou plântula. Neste contexto, este trabalho objetivou avaliar a influência da concentração do extrato de *P. bipinnatifidum* sobre características fisiológicas de sementes e plântulas de arroz-vermelho.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes da espécie alvo arroz-vermelho (*Oryza sativa* L.) não dormentes, cujo estado fisiológico foi verificado previamente pela avaliação da germinação e pelo teste de tetrazólio. Os tratamentos foram compostos pelas concentrações 0; 12; 25; 50 e 75% de extrato de filodendro, empregando-se a relação v/v entre extrato vegetal e água destilada. Os extratos das diferentes concentrações tiveram o pH e o potencial osmótico aferidos, mantendo-se dentro de limites não prejudiciais a germinação e ao crescimento inicial (Borella *et al.* 2012).

O extrato concentrado de plantas de filodendro foi obtido a partir de folhas maduras, completamente expandidas e provenientes de plantas de sombra. As folhas, dotadas de pecíolo carnoso foram previamente lavadas em água destilada e secas com papel toalha. Em razão da elevada quantidade de água na constituição, as folhas foram trituradas sem adição de tal elemento. O extrato obtido, considerado de concentração 100%, foi armazenado em recipiente âmbar sob temperatura de 10 °C, em refrigerador. Após 24 horas, o extrato concentrado foi submetido à filtração simples e o filtrado armazenado nas mesmas condições. A partir do extrato concentrado foram estabelecidas as concentrações 12; 25; 50 e 75%, a partir da diluição do extrato concentrado em água destilada, sendo o controle somente com este solvente.

A germinação foi avaliada pelo teste de germinação em B.O.D., conduzido em quatro amostras com quatro subamostras de 50 sementes, sendo as sementes previamente colocadas entre folhas de papel toalha, umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco por 10 minutos, objetivando evitar dano por embebição. Posteriormente, as sementes foram embebidas nos extratos de diferentes concentrações por uma hora e semeadas em rolos formados por três folhas de papel toalha, umedecidos com água destilada. Os rolos foram transferidos para câmara de germinação sob condições preconizadas e assim como a avaliação

de sementes germinadas, realizado conforme Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009).

Conjuntamente ao teste de germinação, foi conduzido o teste de primeira contagem da germinação avaliado aos cinco dias após a semeadura, conforme indicado pelas Regras de Análise de Sementes (Brasil 2009). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado a partir de contagens diárias das sementes germinadas (protrusão radicular mínima de 3 a 4 mm) e calculado de acordo com Nakagawa (1994).

Os teores de clorofila *a*, *b* e *total* de plântulas crescidas em BOD foram quantificados na parte aérea das plântulas ao final do teste de germinação, por meio de quatro amostras de 0,2 g de tecido vegetal por tratamento, conforme metodologia (Arnon 1949). Os dados obtidos foram calculados segundo Lichtenthaler (1987) e expressos em mg de clorofila g⁻¹ massa fresca.

O teste de condutividade elétrica massal foi realizado de acordo com metodologia de Krzyzanowski *et al.* (1991), utilizando quatro subamostras de 25 sementes. As sementes tiveram sua massa previamente aferida e foram submetidas à embebição nos extratos das diferentes concentrações, por uma hora. A condutividade elétrica foi determinada após 3, 6 e 24 horas e os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes.

O comprimento de parte aérea e de raiz primária de plântulas em B.O.D. e casa de vegetação foram utilizadas quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação, aos 14 e 21 dias, respectivamente. O comprimento de parte aérea foi obtido pela medida da distância entre a inserção da porção basal da raiz primária ao ápice da parte aérea, enquanto, o comprimento de raiz foi mensurado pela medida da distância entre sua parte apical e basal. Os resultados foram expressos em milímetros por plântula (mm plântula^{-1}).

A massa seca total de plântulas em B.O.D e casa de vegetação foram mensuradas pela aferição da massa de quatro subamostras de 10 plântulas, ao final dos testes de germinação aos 14 e 21 dias, respectivamente. As plântulas foram acondicionadas em envelopes de papel pardo e submetidas à secagem em estufa com ventilação forçada, sob temperatura de 70 °C (72 horas). Os resultados foram expressos em miligramas por plântula (mg plântula^{-1}).

O teste de emergência de plântulas em casa de vegetação foi conduzido no período de cultivo do arroz, em quatro subamostras de 50 sementes. As sementes foram previamente colocadas entre três

folhas de papel toalha umedecido com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel por 5 minutos, objetivando evitar dano por embebição. E, decorrido o tempo, as sementes foram embebidas nos extratos de diferentes concentrações por uma hora e semeadas em bandejas de poliestireno expandido contendo como substrato areia lavada, na profundidade de semeadura recomendada para a cultura do arroz. Vinte e um dias após a semeadura foi realizada a contagem final do número de plântulas emergidas, sendo os resultados expressos em porcentagem (Nakagawa 1994).

A partir da matéria fresca de plântulas obtidas ao final do teste de germinação em B.O.D foram quantificados o conteúdo de H₂O₂, a peroxidação lipídica e a atividade das enzimas antioxidantes. Para a avaliação do conteúdo de H₂O₂ e peroxidação lipídica, as plântulas foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 13.000 g, durante 20 min a 4 °C, e o sobrenadante utilizado para determinar o conteúdo de H₂O₂ e malondialdeído (MDA). Os níveis de peróxido de hidrogênio foram determinados de acordo com Velikova *et al.* (2000). Em tubos de ensaio contendo 0,7 mL de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1 M, foram adicionados 0,3 mL do sobrenadante, e incubado por 10 minutos a 30 °C. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 390 nm e a concentração de H₂O₂ expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa fresca.

A peroxidação lipídica foi obtida via acúmulo de malondialdeído (MDA) e determinada por metodologia descrita por Cakmak & Horst (1991). Na determinação da atividade das enzimas antioxidantes as plântulas foram maceradas em gral e pistilo com nitrogênio líquido, contendo polivinilpirrolidona (PVPP) 20% e homogeneizados em 1,8 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8) contendo EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 20 mM. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 20 min a 4 °C e o sobrenadante utilizado para mensuração da atividade enzimática.

A enzima superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1) teve sua atividade avaliada pela capacidade de inibição da fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), conforme Giannopolitis & Ries (1997). Enquanto, a catalase (CAT - EC 1.11.1.6) foi determinada conforme descrito por Azevedo *et al.* (1998) e a ascorbato peroxidase (APX - EC 1.15.1.1) conforme metodologia proposta por Nakano e Asada (1981).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e havendo significância a 5%, ajustados por polinômios ortogonais. Os dados de germinação, emergência de plântulas, massa seca total e comprimento de parte aérea e de raiz foram submetidos análise de correlação de Pearson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação de sementes de arroz-vermelho foi afetada negativamente pelo incremento da concentração do extrato de folhas de filodendro

(Fig. 1a). Houve redução menos evidente neste processo fisiológico ao submeter às sementes à concentração 12%, o que pode ser explicado, em parte, pela maior tolerância do processo germinativo aos aleloquímicos em comparação ao crescimento inicial das plântulas (Ferreira & Aquila 2000). Tal ocorrência também pode ser relacionada à elevada tolerância de plantas daninhas a agentes estressores e a condições adversas do meio (Aarestrup *et al.* 2008, Santos *et al.* 2008). Inibição mais expressiva ocorreu em sementes submetidas às concentrações 25; 50 e 75%, cuja germinação se reduziu em 29; 36 e 44%, comparativamente à concentração zero (controle).

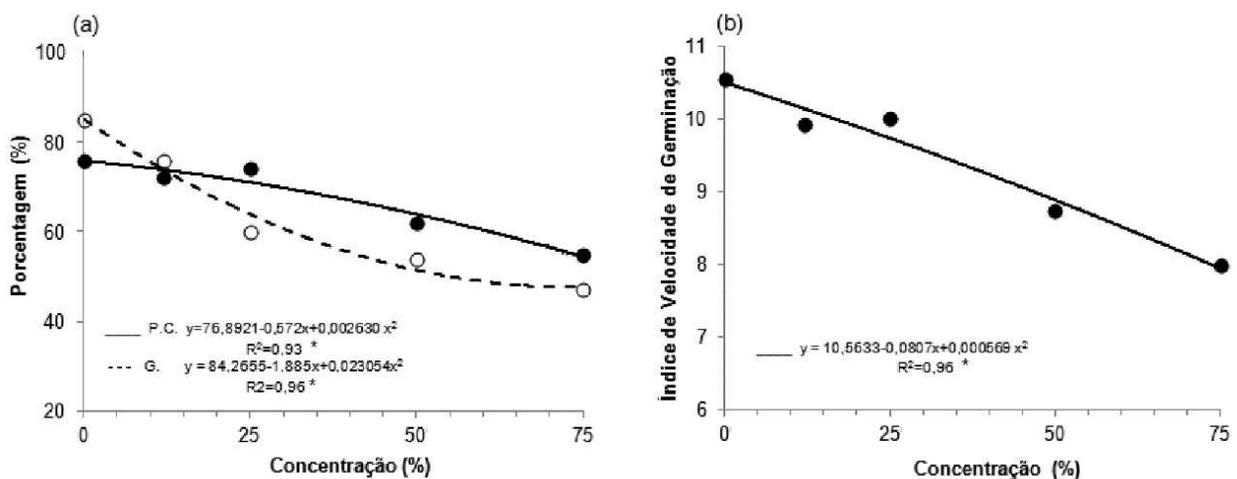


Fig. 1. Germinação (G) e primeira contagem (PC) (a), índice de velocidade de germinação (b) de sementes de arroz-vermelho sob ação de concentrações do extrato de filodendro (significativo a 5% *). G - avaliação após 14 dias; PC - avaliação após 5 dias.

A redução da germinação, por meio da inibição da retomada de crescimento adequado do embrião, foi intensificada pela redução do número de plântulas normais, parâmetro considerado na avaliação da germinação (Fig. 1a). Tal alteração morfológica pode apresentar relação com a desorganização do sistema de membranas celulares (Peske *et al.* 2012). Feitosa *et al.* (2007) relatam a presença de limonóides, esteróides, isopalmitato e palmitato de etila, além de outros compostos em espécies do gênero filodendro, os quais podem ocasionar alterações fisiológicas no processo germinativo.

A primeira contagem de germinação apresentou tendência ao decréscimo com o aumento da concentração do extrato (Fig. 1a). Ocorreu similaridade entre a primeira contagem de germinação entre as concentrações 0; 12 e 25%, demonstrando que baixas concentrações do extrato, não foram eficientes em reduzir o vigor de sementes de arroz-vermelho. As concentrações 50 e

75% reduziram o vigor das sementes em 18 e 26% e indicam que elevadas concentrações do extrato proporcionaram toxidez às sementes no início do processo germinativo. Tal efeito pode ser atribuído ao aumento na concentração de compostos tóxicos (Wu *et al.* 2009), devido a elevação na concentração do extrato.

O índice de velocidade de germinação apresentou redução com o aumento da concentração do extrato (Fig. 1b). Ocorreram resultados mais expressivos em ambas as variáveis a partir da concentração 25%, o que permite inferir que, a elevação na concentração do extrato retardou o processo germinativo e refletiu na diminuição do número de sementes germinadas diariamente. Esta ocorrência pode ter sido causada pela redução da velocidade da germinação ou da diminuição da capacidade de hidrólise e mobilização de reservas do endosperma ao embrião pelo efeito negativo gerado sobre a α -amilase como observado por Muniz *et al.* (2007).

Os teores de clorofila foram alterados com o aumento da concentração do extrato (Fig. 2a). Houve similaridade nos teores de clorofila *a* e *b* e *total* até a concentração 12%, enquanto que a partir de 25%, ocorreu redução dos teores. Tal modificação representa redução quali-quantitativa na síntese de pigmentos de captação de energia radiante, permitindo verificar em relação à concentração zero (controle), menor investimento de compostos para a formação da clorofila.

A redução nos teores de clorofila pode estar relacionada à interferência de compostos tóxicos ou aleloquímicos na fotossíntese (Abu-Romman *et al.* 2010). Estas alterações podem ser mediadas por enzimas clorofilases, afetando o transporte de elétrons e a afetando a fotossíntese pela redução da eficiência do fotossistema II ou ainda, ocorrendo pela inibição da síntese de precursores da porfirina, um constituinte da clorofila (Carillo *et al.* 2010).

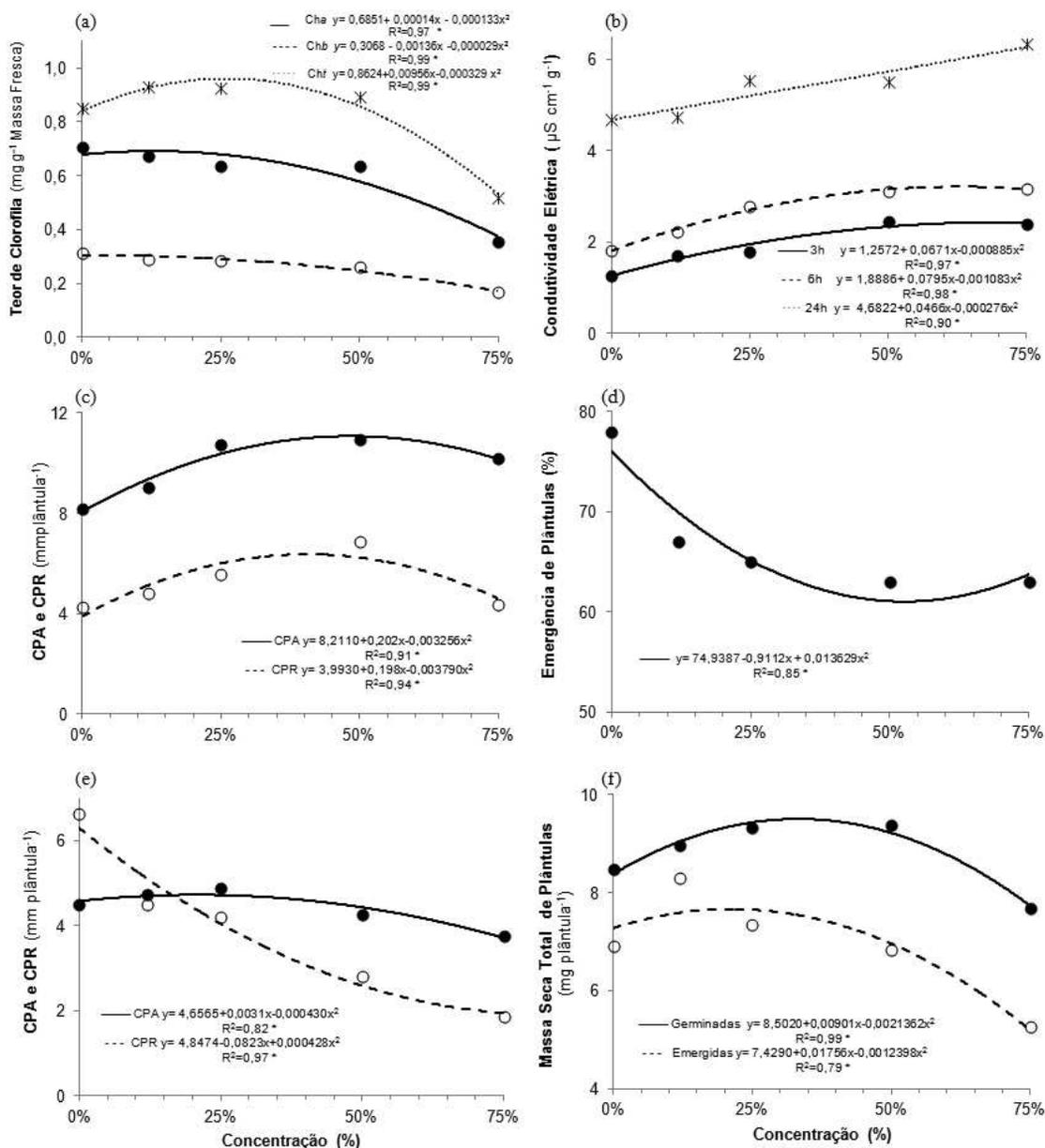


Fig. 2. Teores de clorofila *a* (*cha*), *b* (*chb*) e *total* (*chf*) de plântulas provenientes do teste de germinação (a), condutividade elétrica de sementes após 3, 6 e 24h (b), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) de plântulas do teste de germinação (c), emergência de plântulas em casa de vegetação (d), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CPR) de plântulas emergidas em casa de vegetação (e) e massa seca total de arroz-vermelho (f) sob ação de concentrações do extrato de filodendro (significativo a 5%*). Germinadas – sementes avaliadas no teste de germinação; Emergidas – sementes avaliadas no teste de emergência em casa de vegetação.

A condutividade elétrica, nos três períodos de incubação avaliados, mostrou tendência ao aumento com a concentração do extrato, indicando que, independentemente ao período, houve tendência de aumento na liberação de eletrólitos ao incrementar a concentração do extrato (Fig. 2b). A elevação na liberação de eletrólitos é explicada pelo dano ou redução da capacidade de reorganização da bicamada fosfolipídica, constituinte de membranas celulares (Peske *et al.* 2012).

Hipoteticamente, danos às membranas possuem relação com a produção de formas reativas de oxigênio, cuja formação neste caso foi desencadeada pela ação do extrato, podendo ser evidenciada em plântulas pelo aumento da produção de peróxido de hidrogênio conjuntamente à elevação da peroxidação lipídica (Figs. 3a, b). A avaria destas estruturas resulta em perda da seletividade e na liberação exacerbada de compostos destinados à retomada do crescimento do embrião (Peske *et al.* 2012). Efeitos estes que refletem na redução do número de plântulas normais (Fig. 1a) e na diminuição do vigor de sementes de arroz-vermelho, conforme verificado na primeira contagem de germinação (Fig. 1a).

O comprimento de parte aérea e de raiz de plântulas desenvolvidas em B.O.D. e em casa de vegetação foi alterado pela concentração do extrato (Figs. 2c, e). Em condições de crescimento em B.O.D., foi observado um aumento do comprimento de parte aérea e de raiz primária até a concentração do extrato de 50%. Ainda, foi observado o aumento da massa seca total das plântulas até a concentração aproximada de 25% do extrato (Fig. 2f). Entretanto, o comprimento de parte aérea e de raiz apresentou tendência à redução nas plântulas tratadas com a concentração de 75% do extrato, sendo os efeitos mais marcantes sobre a raiz comparativamente à parte aérea.

Por outro lado, plântulas emergidas em casa de vegetação apresentaram similaridade no comprimento de parte aérea quando submetidas a concentração de 25%, com posterior tendência ao decréscimo, nas duas maiores concentrações do extrato (Fig. 2e). A redução ou incremento nas dimensões de raiz e parte aérea podem ser explicados pela influência do extrato sobre o balanço hormonal da plântula (Alves & Santos 2002).

O comprimento da raiz primária em plântulas foi afetado drasticamente pela concentração do extrato (Fig. 2e). Houve, em relação à concentração zero (controle), redução acima de 30% no comprimento, nas concentrações 12 e 25%, enquanto, nas

concentrações 50 e 75%, ultrapassou a 57%. Os efeitos mais drásticos e negativos do extrato de filodendro sobre a raiz são explicados pela maior sensibilidade dos tecidos deste órgão comparativamente à parte aérea (Labbafy *et al.* 2009). Efeitos semelhantes foram obtidos por Han *et al.* (2008) que observaram redução no comprimento de parte aérea e de raiz em plântulas de cebola e soja ao aumentar a concentração do extrato de *Zingiber officinale* Rosc.

A emergência de plântulas em casa de vegetação apresentou relação dose-resposta com a elevação da concentração do extrato (Fig. 2d). Resultados marcantes foram obtidos a partir da concentração 12%, responsável pela redução de 11% na emergência de plântulas de arroz-vermelho, comparativamente à concentração zero. Tal processo fisiológico foi reduzido em 16% em sementes expostas à concentração de 25% do extrato, enquanto naquelas submetidas às concentrações 50 e 75%, houve diminuição de 15% na emergência de plântulas. Neste contexto, mesmo em baixas concentrações, o extrato apresentou potencial de reduzir o vigor de sementes de arroz-vermelho.

O efeito negativo do extrato sobre o vigor das sementes mantém estreita relação com a perda da seletividade do sistema de membranas demonstrada pela elevação da peroxidação lipídica (Fig. 3b) em plântulas, e também evidenciado pelo aumento da condutividade elétrica em sementes (Fig. 2b) e ao incrementar a concentração do extrato.

A massa seca total de plântulas obtidas em B.O.D. foi crescente até a concentração 25% e apresentou similaridade àquela de plântulas sob ação da concentração 50% (Fig. 2f). Tais concentrações induziram, em relação à concentração zero, aumento de 10% na massa seca total de plântula. Similarmente, plântulas emergidas em casa de vegetação apresentaram tendência a incrementar a massa seca total ao serem submetidas ao extrato, até a concentração 25% quando a quantidade de carbono alocada na plântula pode ter sido foi menos expressiva, comparativamente a plântulas sob condições laboratoriais.

Houve a partir da concentração 50% tendência à redução na massa seca total, ocasionando diminuição de 9,5% em plântulas sob condições laboratoriais e de 23% em plântulas emergidas sob ação da concentração 75% (Fig. 2f). Assim, há indicativo que concentrações mais elevadas do extrato resultam em toxidez sobre plântulas de arroz-vermelho. Tal resultado pode possuir relação direta com o efeito negativo do extrato sobre a atividade de enzimas

hidrolíticas (Muniz *et al.* 2007) ou ainda efeitos indiretos, como a inibição na síntese do ácido giberélico (Politycka & Gmerek 2008).

A produção de peróxido de hidrogênio, em plântulas desenvolvidas em B.O.D., apresentou tendência à redução até a concentração do extrato igual a 25% (Fig. 3a) e corrobora a reduzida peroxidação lipídica sob as mesmas concentrações do extrato (Fig. 3b). Plântulas submetidas às

concentrações de 50 e 75% do extrato de filodendro, aumentaram acentuadamente a produção de peróxido de hidrogênio e colaboraram para o incremento na peroxidação lipídica (Figs. 3a, b). Estas observações confirmariam o efeito tóxico do extrato de filodendro sobre a redução da capacidade seletiva das membranas celulares, como evidenciado pelo aumento da condutividade elétrica em sementes de arroz vermelho (Fig. 2b).

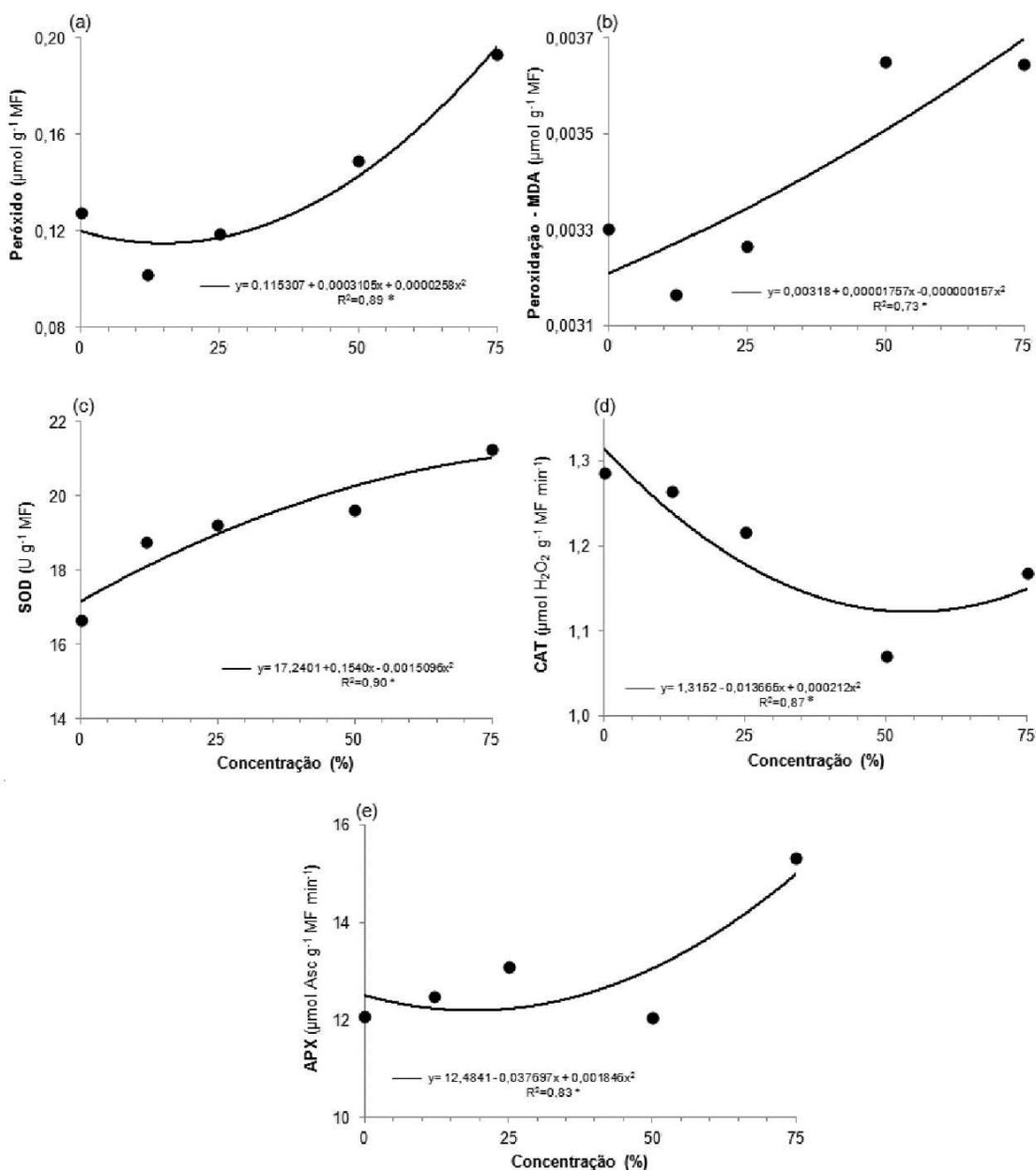


Fig. 3. Peróxido de hidrogênio (a), peroxidação lipídica - MDA (b), atividade das enzimas: superóxido-dismutase - SOD (c), catalase - CAT (d), ascorbato-peroxidase - APX (e) em plântulas arroz-vermelho obtidas a partir do teste de germinação em laboratório sob ação de concentrações do extrato de *P. bipinnatifidum* (significativo a 5%*).

A atividade das enzimas do sistema antioxidante de plântulas obtidas em B.O.D. foi alterada pelo aumento da concentração do extrato (Figs. 3c-e). Observou-se aumento acentuado na atividade das enzimas superóxido-dismutase (SOD) e ascorbato-peroxidase (APX) a partir da concentração 12%. Aliado, a redução na atividade da enzima catalase (CAT) até a concentração 50% do extrato. Existem evidências de que a diminuição da atividade da CAT pode estar relacionada com a baixa afinidade ao peróxido de hidrogênio (Carvalho *et al.* 2011).

O incremento na atividade da enzima superóxido-dismutase ocorreu devido a presença do extrato sobre a provável elevação nos níveis de radicais superóxido (O_2^{\bullet}) produzidos pelo bloqueio parcial da cadeia de transporte de elétrons, conjuntamente à geração de elétrons livres ou, pela reação de transferência de elétrons do NADPH para o oxigênio molecular. Os radicais O_2^{\bullet} , em um processo mediado pela enzima superóxido-dismutase, foram convertidos em peróxido de hidrogênio, indicando que este radical é potencialmente causador de dano celular (Sinha & Saxena 2006).

A elevação nos níveis deste radical livre pode ter resultado na elevação na atividade da enzima ascorbato-peroxidase, que até certo ponto, degradou o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular (Barreiros *et al.* 2006), corroborando aos baixos níveis de peróxido de hidrogênio até a concentração 25% do extrato (Fig. 3a) e aos níveis mínimos de toxidez proporcionados ao crescimento de plântulas sob condições de laboratório, até a referida concentração (Figs. 2c, f). Cabe salientar que, como a própria cadeia respiratória pode apresentar escape de oxigênio reativo, a aplicação do extrato pode ter aumentado tal evento.

Entretanto, a partir da concentração 50%, a elevação da atividade das enzimas SOD e APX parece não ter sido suficiente para manter o equilíbrio entre a quantidade de radicais livres produzidos e degradados, resultando em exacerbado acúmulo de peróxido de hidrogênio em plântulas expostas a concentração de 75%. A elevação dos níveis de peróxido de hidrogênio pode atuar como agente

indutor na atividade da enzima catalase (Carvalho *et al.* 2011).

Neste sentido, é possível que a redução da germinação possua relação ao efeito tóxico de radicais livres sobre a semente e a plântula, ocasionando à elevação da peroxidação lipídica (Fig. 3b). Por outro lado, em sementes submetidas a baixas concentrações do extrato, supõe-se que o sistema antioxidativo foi eficiente na detoxicação dos tecidos por meio da degradação de radicais livres, similarmente ao evidenciado em plântulas sob os mesmos tratamentos (Figs. 3c-e). Além disso, o aumento na quantidade de carbono alocado na plântula via degradação e mobilização de reservas do endosperma pode possuir relação com a eficiência do sistema antioxidativo da plântula pelo estresse ocasionado pela presença do extrato (baixas concentrações) (Figs. 3c-e), indicativo da tolerância do genótipo de arroz-vermelho.

Os dados de germinação, emergência de plântulas, massa seca total e comprimento de parte aérea e de raiz submetidos a análise de correlação de Pearson apresentaram grau de associação entre as variáveis do teste de germinação e de emergência, indicando moderada perspectiva de correlação (Tabela 1). Os resultados da análise de correlação apresentaram correlação positiva ($p < 0,01$) entre o teste de germinação e de emergência com alta correlação (0,87). No entanto, os resultados obtidos entre os comprimentos de parte aérea e de raiz de plântulas do teste de germinação com as demais variáveis apresentaram correlação negativa (Tab.1). Para os comprimentos de parte aérea e de raiz de plântulas do teste de emergência foram observadas correlações positivas, sendo significativa somente para o comprimento de raiz ($p < 0,01$).

Verificou-se que o coeficiente de correlação, correspondente entre as variáveis do teste de germinação e de emergência não apresentaram elevada correlação entre as variáveis entre os testes (Tab.1), evidenciando que, embora os testes apresentem as mesmas variáveis de crescimento, estas podem não correlacionar-se entre si.

Tabela 1. Coeficientes de correlação de Pearson analisados no teste de germinação e emergência de plântulas de arroz vermelho sob efeito de concentrações do extrato de filodendro. Sendo: Germinação (G), emergência (E), comprimento de parte aérea (CPA_L) e raiz (CPR_L) na germinação, comprimento de parte aérea (CPA_E) e raiz (CPR_E) na emergência, matéria seca total na germinação (W_L) e na emergência (W_E). ** Significativo em nível de probabilidade de 1%. * ns Não significativo.

Variáveis	E	CPA_L	CPR_L	CPA_E	CPR_E	W_L	W_E
G	0,87**	-0,85**	-0,39 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,87**	0,15 ^{ns}	0,63**
E		-0,84**	-0,51 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,65**	-0,15 ^{ns}	0,21 ^{ns}
CPA_L			0,66**	-0,18 ^{ns}	-0,58**	0,29 ^{ns}	-0,28 ^{ns}
CPR_L				0,83 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,72**	0,16 ^{ns}
CPA_E					0,76**	0,65**	0,78**
CPR_E						0,46 ^{ns}	0,82**
W_L							0,72**

A partir da análise conjunta das variáveis estudadas, é possível verificar que baixas concentrações do extrato influenciaram negativamente no processo germinativo, com reflexos na redução do vigor das sementes de arroz-vermelho. Toxidez elevada foi constatada sobre atributos de crescimento em plântulas submetidas às concentrações 50 e 75% do extrato. O teor de pigmentos fotossintéticos de plântulas obtidas em BOD e o comprimento da raiz primária de plântulas emergidas em casa de vegetação foram reduzidos com o aumento da concentração do extrato. Aliado a isso, foi observado uma elevação dos níveis de peróxido de hidrogênio e da peroxidação lipídica, alterações que indicam a atividade das enzimas antioxidativas demonstrando a ineficiência na detoxicação dos tecidos de plântulas de arroz vermelho tratada com as duas maiores concentrações do extrato de filodendro.

Segundo Borella *et al.* (2012) o surgimento de plantas daninhas tolerantes a herbicidas, resulta na necessidade de novos compostos com potencial de inibição da germinação ou do crescimento. Que tais compostos devem ser passíveis de síntese por meios industriais objetivando a comercialização em larga escala, ou ainda, produzidos visando seu suprimento para a produção de base ecológica, que tem apresentado potencialidade para atender um nicho de mercado. Neste trabalho existem indícios, que devem ser mais estudados, que o extrato de filodendro poderá ser utilizado para o controle do arroz vermelho auxiliando no cultivo sustentável do arroz.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsas de Doutorado e de Pós-Doutorado.

REFERÊNCIAS

- Aarestrup, J.R., Karam, D., Correa, E.J.A. & Fernandes, G.W. 2008. Análise da viabilidade de sementes de *Euphorbia heterophylla*. *Planta Daninha* 26(3):515-519.
- Abu-Romman, S., Shatnawi, M. & Shibli, R. 2010. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 7:298-302.
- Abugre, S., Apetorgbor, A.K., Antwiwaa, A. & Apetorgbor, M.M. 2011. Allelopathic effects of ten tree species on germination and growth of four traditional food crops in Ghana. *Journal of Agricultural Technology* 7:825-834.
- Alves, S.M. & Santos, L.S. 2002. Natureza química dos agentes alelopáticos. In *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais* (A.P.S. Souza Filho & S.M. Alves, eds.). Embrapa Amazônia Oriental, Belém, p.25-47.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24:1-15.
- Azevedo, R.A., Alas, R.M., Smith, R.J. & Lea, P.J. 1998. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104:280-292.
- Barreiros, A.L.B.S., David, J.M. & David, J.P. 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies

- reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29:113-123.
- Brasil. 2009. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília. 399p.
- Borella, J., Martinazzo, E.G., Aumonde, T.Z., Amarante, L., Moraes, D.M. & Villela, F.A. 2012. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikianum* (Kunth) Steudel. *Acta Botânica Brasileira* 26(2):404-409.
- Cakmak, I. & Horst, W.J. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83:463-468.
- Carillo, P., Cozzolino, C., D'Ambrosia, B., Nacca, F., Della Greca, M., Fiorentino, A. & Fuggi, A. 2010. Effects of the allelochemicals dihydrodiconiferyl alcohol and larciresinol on metabolism of *Lactuca sativa*. *The Open Bioactive Compounds Journal* 3:18-24.
- Carvalho, F.E.L., Lobo, A.K.M., Bonifacio, A., Martins, M.O., Lima Neto, M.C. & Silveira, J.A.G. 2011. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15:416-423.
- Feitosa, C.M., Bezerra, M.Z.B., Citó, A.M.G.L., Costa Júnior, J.S., Lopes, J.A.D. & Moita Neto, J.M. 2007. Constituintes químicos de *Philodendron imbé* Schott. *Química Nova* 30:41-44.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12:175-204
- Giannopolitis, C.N. & Ries, S.K. 1997. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59:309-314.
- Han, C., Pan, K., Wu, N., Wang, J. & Li, W. 2008. Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. *Scientia Horticulturae* 116:330-336.
- Krzyzanowski, F.C., França-Neto, J.B. & Henning, A.A. 1991. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. *Informativo Abrates* 1:15-50.
- Kupidłowska, E., Gniazdowska, A., Stepien, J., Corbineau, F., Vinel, D., Skoczowski, A., Janeczko, A. & Bogatek, R. 2006. Impact of sunflower (*Helianthus annuus* L.) extracts upon reserve mobilization and energy metabolism in germinating mustard (*Sinapis alba* L.) seeds. *Journal of Chemical Ecology* 32:2569-2583.
- Labbafy, F., Maighany, F., Hejazy, A., Khalaj, H., Baghestany, A.M., Allahdady, I. & Mehrafarin, A. 2009. Study of allelopathic interaction of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereal* L.) using equal-compartment-agar method. *Asian Journal of Agricultural Sciences* 1:25-28.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Mendes, C.E., Casarin, F., Sperandio, S.L., Moura, N.F. & Denardin, R.B.N. 2013. Avaliação do potencial fitotóxico de *Persea venosa* Nees & Mart. (Lauraceae) sobre sementes e plântulas de diferentes espécies cultivadas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 15:337-346.
- Muniz, F.R., Cardoso, M.G., Von Pinho, E.V.R. & Villela, M. 2007. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. *Revista Brasileira de Sementes* 29:195-204.
- Nakagawa, J. 1994. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. *In* Testes de vigor em sementes (R.D. Vieira & N.M. Carvalho, eds.). Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão, Jaboticabal. p.49-85.
- Nakano, Y. & Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22:867-880.
- Noldin, J.A., Yokoyama, S., Stuker, H., Rampelotti, F.T., Gonçalves, M.I.F., Eberhardt, D.S., Abreu, A., Antunes, P. & Vieira, J. 2004. Desempenho de populações híbridas F2 de arroz-vermelho (*Oryza sativa*) com arroz transgênico (*O. sativa*) resistentes ao herbicida amônio-glufosinate. *Planta Daninha* 22:381-395.
- Oliveira Jr., R.S., Constantin, J. & Inoue, M.H. 2011. *Biologia e manejo de plantas daninhas*. Curitiba, PR, Editora Omnipax. 348p.
- Peske, S.T., Villela, F.A. & Meneguello, G.E. 2012. *Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos*. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 573p.
- Politycka, B. & Gmerek, J. 2008. Effect of ferulic and p-coumaric acidson the activity of hydrolytic enzymes and growth of radicals in germinating seeds of cucumber and pea. *Allelopathy Journal* 21:227-238.
- Rosa, S.D.V.F., Rezende, E.V.R.V.P., Vieira, E.S.N., Veiga, R.D. & Veiga, A.D. 2005. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *lea* associadas à tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. *Revista Brasileira de Sementes* 27:91-101.
- Santos, J.B., Lázari, T.M., Camelo, G.N., Oliveira, T.A. & Figueiredo, J.L.A. 2008. Competição entre soja resistente ao glyphosate e plantas daninhas em solo compactado. *Planta Daninha* 26:123-130.
- Sinha, S. & Saxena, R. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymatic antioxidants and bacoside-a content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere* 62:1340-1350.
- Velikova, V., Yordanov, I. & Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science* 151:59-66.
- Wu, A.P., Yu, H., Gao, S.Q., Huang, Z.Y., He, W.M., Miao, S.L. & Dong, M. 2009. Differential belowground allelopathic effects of eaf and root of *Mikania micrantha*. *Trees Structure and Function* 23:11-17.