

ALELOPATIA DE FRUTOS DE ERVA-MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) NO DESENVOLVIMENTO DO MILHO¹

CÍNTIA PILOTTI MIRÓ², ALFREDO GUI FERREIRA³ e MARIA ESTEFÂNIA ALVES AQUILA⁴

RESUMO - Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o efeito alelopático dos frutos maduros de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.) sobre a germinação e crescimento do milho híbrido SAVE 484 (*Zea mays* L.), e, subsidiariamente, se o tempo de permanência dos frutos no solo interferiria em seu efeito alelopático. Frutos maduros de erva-mate (erveira) foram adicionados a vasos com solo corrigido com vistas à cultura do milho. Sementes foram semeadas logo após a incorporação dos frutos e 30 e 60 dias depois. Também foram realizados experimentos em laboratório com extratos dos frutos e PEG 6000, agente osmótico, em concentrações semelhantes aos extratos, para se poder separar o efeito osmótico do alelopático. A germinação e a emergência do milho não foram afetadas, nem em solo de campo, nem em laboratório com substrato papel; porém, seu crescimento e desenvolvimento foram afetados. Altura da planta, comprimento do primeiro entre-nó, peso seco da parte aérea e da raiz, comprimento das folhas, número de raízes adventícias e comprimento da raiz primária foram afetados pela presença dos frutos ou dos seus extratos, o que mostra uma inibição do desenvolvimento, causada pelos possíveis aleloquímicos presentes. O número de pêlos absorventes das raízes do milho mostraram ser um parâmetro extremamente sensível a substâncias alelopáticas, as quais perduram no solo pelo menos por 60 dias após a incorporação dos frutos maduros da erva-mate.

Termos para indexação: potencial osmótico, reação aleloquímica, *Zea mays*.

ALLELOPATHY OF RIPE FRUITS OF *ILEX PARAGUARIENSIS* ("MATE") ON CORN CULTIVATION

ABSTRACT - This work was carried out to study the allelopathic effect of ripe fruits of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on the germination and growth of hybrid corn SAVE 484 (*Zea mays* L.) and, in addition, to determine if the time of permanence of the fruits on the soil affected the allelopathic effect on corn. Ripe fruits of *Ilex paraguariensis* ("mate") were added to plastic vases with soil adjusted to corn cultivation. Seeds of maize were sowed right away to the incorporation of the fruits either 30 or 60 days after. Experiments were also performed in laboratory with extracts of "mate" fruits and PEG 6000, osmotic substances in concentration similar to those from the extracts, in order to distinguish the osmotic from allelopathic effect. In soil, as well as in laboratory using paper as substrate, the germination and the emergence of the corn were not affected, but the growth and the development were. Plant height, length of the first node, length of the leaves, dry matter of shoot and root, number of adventitious roots, length of the tap root were affected either by the presence of fruits or by their extracts showing an inhibition of development, possibly caused by the allelochemicals present. The number of root hairs in corn seedlings showed to be a very sensible measurement to allelopathic substances, which rested in soil for 60 days, at least, after the addition of the fruits of "mate".

Index terms: *Zea mays*, extracts of "mate" fruit, osmotic potential, allelochemical reaction.

¹ Aceito para publicação em 9 de outubro de 1997.

Extraído da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

² Eng^a Agr^a, M.Sc. Cooperativa Ecológica Colmeia. Av. J. Bonifácio, n.645, CEP 90040-130 Porto Alegre, RS.

³ Biólogo, Dr., Prof. Titular, Dep. de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), CEP 90060-900 Porto Alegre, RS, Brasil. Bolsista do CNPq. E-mail: agferrei@dna.cbiot.ufrgs.br

⁴ Bióloga, Dr^a, Prof^a Adjunto, UFRGS. Bolsista da CAPES.

INTRODUÇÃO

A alelopatia foi definida por Molisch (Rice,1984) como qualquer efeito danoso ou benéfico de uma planta sobre outra (incluindo microrganismos), através da produção de compostos químicos liberados no ambiente.

Efeitos danosos são mais comuns que os benéficos. Poucos casos foram relatados de estímulo do crescimento de uma planta sobre outra (Rizvi et al.,1989; Sogaard & Doll,1992). Em muitos casos observa-se

que uma substância pode estimular o crescimento vegetal em baixas concentrações e inibir em concentrações mais altas (Rice,1984; Leather & Einhellig,1988).

Alelopatia tem sido reconhecida como um importante mecanismo ecológico que influencia a dominância vegetal, a sucessão, formação de comunidades vegetais e de vegetação clímax, bem como na produtividade e manejo de culturas (Chou,1986; Melkania,1992; Waller et al.,1993).

As substâncias alelopáticas captadas pelas raízes e transportadas através da planta podem agir sobre a divisão, o alongamento e ultraestrutura das células, na permeabilidade das membranas, e interferir nos mecanismos hormonais de indução do crescimento, na síntese protéica, no metabolismo de lipídios e de ácidos orgânicos. Fenômenos fisiológicos como abertura estomática, fotossíntese e respiração podem ser alterados por compostos alelopáticos, da mesma forma como esses compostos, no solo, podem interferir na absorção de nutrientes (Rice, 1984).

A fitotoxicidade das substâncias liberadas depende de sua permanência no solo, sendo agente alelopático mais efetivo o que não for rapidamente degradado (Stowe & Kil,1983). Os microrganismos do solo podem transformar rapidamente os compostos liberados, desativando-os (Woods,1960) ou dando origem a compostos de efeito alelopático mais potente ligados à matriz do solo (Elliot et al., 1978; Katase, 1981). As características alelopáticas de determinadas plantas têm sido aplicadas pelo homem no controle de invasoras da cultura (Corcuera et al., 1992; Rizvi & Rizvi, 1992).

Extrações e procedimento para testes que simulam processos naturais são desejáveis quando se querem resultados de significado ecológico (Stowe & Kil,1983).

A maior parte dos produtos secundários com ação alelopática é liberada na forma de solutos aquosos (Almeida, 1990). Por isso, costuma-se realizar, em laboratório, testes de germinação e crescimento de plântulas em extratos aquosos, uma vez que esse é o solvente na natureza (Singh et al., 1989). Diferentes parâmetros podem ser utilizados para detecção dos efeitos alelopáticos como: porcentagem de germinação (Mallik, 1987; Mukherjee, 1988; Luu et al., 1989), comprimento total da plântula (Touchette et al., 1988), comprimento da raiz (Roder et al., 1988; Chou & Lee, 1991), comprimento da parte aérea (Datta & Ghosh, 1987; Goel et al., 1988), número e comprimento de raízes adventícias e de raízes secundárias (Pardales Junior et al., 1992) e peso seco da raiz e da parte aérea (Smith, 1989; Ferreira et al., 1992; Wardle et al., 1992). O número de nós e o comprimento dos internós também podem ser usados na avaliação (Bhowmik & Doll, 1982; Inderjit & Dakshini, 1992). Comprimento e número de pêlos absorventes, muito evidentes em plântulas como o milho, podem ser utilizados como parâmetros significativos (Meguro,1969).

Embora seja assumido, com freqüência, que a resposta de sementes e plântulas a extratos vegetais deva ser alelopática, é importante destacar que nos extratos aquosos há a possibilidade de os resultados inibitórios refletirem apenas, ou em parte, efeitos puramente osmóticos (Coutinho & Hashimoto, 1971; Wardle et al., 1992), já tendo sido enfatizado que se deve medir ou considerar o potencial osmótico do extrato (Anderson & Loucks, 1966; Astarita et al., 1996). O polietilenoglicol, freqüentemente utilizado para controlar potencial hídrico em estudos de germinação de sementes (Emmerich & Hardegree, 1990), pode ser utilizado na simulação de pressão osmótica em trabalhos de alelopatia (Smith,1989).

A erva-mate ou erva-de-são é uma espécie nativa do sul do Brasil, Paraguai e Norte da Argentina (Giberti,1979) e importante cultura na economia do Rio Grande do Sul (Tormen,1995). Na formação dos ervais é recomendado que se pratique a policultura (Kaspary,1991), sendo comum a cultura de milho e hortaliças (Ferreira,1995).

Já foi constatado que partes da planta, especialmente as folhas, têm efeito alelopático (Ferreira et al., 1992). Também foi observado que após a frutificação, de janeiro a março (Heuser et al., 1993), há grande concentração de frutos em torno das árvores, no solo, onde serão instaladas as culturas sazonais. Interfeririam esses frutos sobre essas culturas intercalares (Miró,1994).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o efeito alelopático dos frutos maduros de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.) sobre a germinação e crescimento do milho híbrido SAVE 484 (*Zea mays* L.), e, subsidiariamente, se o tempo de permanência dos frutos no solo interferiria em seu efeito alelopático.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois conjuntos de experimentos: um, em vaso, em casa de vegetação da PLANTEC- Assessoria Produção e Comércio de Plantas; o outro, em placas gerbox, no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Foram utilizados frutos maduros de *Ilex paraguariensis* St.Hil. (erva-mate) de cor vermelho-arroxeadas, colhidos de várias árvores na Estação Experimental da Secretaria de Agricultura em Veranópolis, RS, em fevereiro de 1992. O solo

para os vasos foi coletado na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul, RS. A medida do pH do solo e a recomendação para sua correção foram feitos pelo Laboratório de Análises do Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia da UFRGS. As sementes utilizadas foram de milho híbrido SAVE 394 (*Zea mays*), da safra de 1991, provenientes de Venâncio Aires e cedidos pelo Instituto de Pesquisas Agronômicas (IPAGRO) da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Rio Grande do Sul.

Experimento em casa de vegetação

Cada vaso recebeu 1kg de solo destorroado e corrigido com calcário para pH= 6,0. Foram montados 90 vasos, sendo 30 para cada experimento, com dez vasos por tratamento. Os tratamentos consistiram de incorporação de frutos frescos maduros colocados superficialmente nos vasos em camadas rasas, nas quantidades de 50 g e 22,5 g, e do controle, sem frutos, designados como tratamentos A, B, C. Essas quantidades foram estabelecidas anteriormente em experimentos piloto. No controle, para simular a mesma quantidade de frutos, incorporou-se material inerte (bolinhas de isopor) de diâmetro similar ao dos frutos. Foram realizadas regas com água de torneira em intervalos de 48 horas.

Foram preparados vasos para três experimentos. No experimento 1, a semeadura do milho foi feita no mesmo dia da preparação dos vasos, e os tratamentos foram identificados como: A1, B1, C1; no experimento 2, a semeadura do milho foi feita 30 dias após, e os tratamentos foram identificados como: A2, B2, C2; no experimento 3, a semeadura foi feita 60 dias após, e os tratamentos, identificados como: A3, B3, C3.

Os experimentos foram mantidos por 30 dias com acompanhamento diário. O crescimento do milho foi avaliado segundo as seguintes variáveis: emergência, altura da planta, diâmetro do caule e número de folhas. No fim dos 30 dias, as plantas foram retiradas dos vasos. Foram avaliados o número de raízes adventícias, a altura do primeiro nó, e o peso seco das partes aérea e da raiz.

Devido à impossibilidade de controlar as variáveis ambientais na casa de vegetação, o delineamento experimental foi de blocos casualizados, com cinco blocos. Para os fatores medidos ao longo do mês, o delineamento foi do tipo parcela/sub-parcela (Little & Hills, 1978), estando o fator quantidade de frutos por vaso como parcela principal, e o fator tempo, como sub-parcela. Para as análises estatísticas foi usado o programa SANEST (Sistema de Análise Estatística). No módulo “análise da variação de classificações múltiplas balanceadas”, foram utilizados o teste de Tukey ou a análise de regressão polinomial.

Experimento em laboratório

Os efeitos dos extratos de frutos maduros de erva-mate foram analisados quanto a sua possível alelopatia sobre a germinação de sementes de milho.

Os frutos recém coletados foram mantidos em estufa (Estufa Retilínea da FANEM) a 40°C por 2 dias. Em seguida, foram triturados em liquidificador e guardados em dessecador. Esse pó foi diluído em água estéril, nas seguintes proporções 1:4 (peso/volume) [tratamento 1:4], 1:8 (p/v) [tratamento 1:8] e 1:16 (p/v) [tratamento 1:16]. Como tratamento-controle, foi utilizada água. Para minimizar a proliferação de fungos, foi escolhida a extração a frio (4°C) por 24 horas (Jacobi & Ferreira, 1991). Após esse período, os extratos foram submetidos a centrifugação a 2000 rpm, por 15 minutos, e o sobrenadante constituiu o extrato no qual as sementes foram colocadas a germinar.

As sementes de milho foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, por 15 minutos, seguido de cinco enxágues com água estéril. A manipulação do material foi realizada em ambiente asséptico.

Foram preparadas soluções de polietilenoglicol 6000 (PEG 6000 - Merck) nas concentrações equivalentes às soluções de extratos de frutos, para discriminar o efeito osmótico do aleloquímico (Touchette et al., 1988).

A pressão osmótica de cada extrato foi medida mediante a determinação da concentração molar pelo método de Chardakov (Salisbury & Ross, 1969). Em seguida, as concentrações molares foram convertidas em atmosferas. Os valores obtidos foram multiplicados por 0,987 (Baker, 1984), para obtenção dos valores em bares (conversão necessária para a determinação das quantidades de PEG 6000). Os resultados foram -2,37 bares no extrato 1:16; -4,64 bares no extrato 1:8 e -9,77 bares no extrato 1:4

A quantidade de PEG 6000 necessária para serem obtidas soluções de mesma concentração dos extratos foi conseguida por meio da equação proposta por Michel & Kaufmann (1973):

$$Y = -(1,18 \times 10^{-2})C - (1,18 \times 10^{-4})C^2 + (2,67 \times 10^{-4})CT + (8,39 \times 10^{-7})C^2T$$

onde: Y = potencial osmótico em bares; C = gramas de PEG 6000 por litro de água; T = temperatura, no caso, 25°C.

Os valores obtidos foram de 132,06 g/L; 193,84 g/L e 292,03 g/L respectivamente para soluções de potenciais osmóticos de -2,37 bares, -4,64 bares e -9,77 bares, determinando os tratamentos PEG 1, PEG 2 e PEG 3.

Cada placa gerbox recebeu uma folha de papel Germitest, dez sementes de milho e 30 mL da solução em teste ou água (controle). As placas gerbox foram seladas com película de PVC e incubadas em câmara a 25±2°C. O critério de germinação foi a protrusão da radícula, e a germinabilidade final foi obtida após quatro dias.

O experimento teve um delineamento experimental de blocos casualizados com cinco blocos e sete tratamentos por bloco. Foi feita a análise estatística através da ANOVA seguindo-se teste de Tukey (Zar, 1984) a 5% de probabilidade.

Experimento com plântulas em placas gerbox

No experimento que envolveu o crescimento inicial do milho em extrato de frutos maduros de erva-mate, o material vegetal, os procedimentos e o tratamento estatístico foram os mesmos do experimento de germinação.

As sementes de milho foram colocadas para germinar em placas-de-Petri, com papel filtro e água. As placas foram seladas com película de plástico e incubadas em câmara de cultivo a $25\pm 2^\circ\text{C}$. No terceiro dia, foram selecionadas as sementes com mais ou menos 1 cm de radícula e estas foram transferidas para a caixa gerbox contendo uma folha de papel Germitest e 30 mL de cada uma das soluções em teste ou água. As placas foram seladas com filme de PVC. O tempo de incubação foi de cinco dias em câmara de cultivo a $25\pm 2^\circ\text{C}$ com fotoperíodo de doze horas e intensidade luminosa de $90 \mu\text{Es}^{-1}\text{m}^{-2}$.

Foram escolhidos como parâmetro para comparação de tratamentos, o comprimento da raiz primária, o comprimento da parte aérea, o comprimento da primeira folha, o número e comprimento de raízes adventícias, o número de pêlos absorventes da raiz primária, e o peso seco da parte aérea e da raiz, obtidos pela secagem a 70°C em estufa até peso constante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimentos em casa de vegetação

No experimento 1, no qual a sementeira se deu logo após a adição dos frutos de erva-mate ao solo dos vasos, as plantas de milho mostraram-se afetadas (Tabela 1). Houve redução no ganho de altura da planta, do peso seco da raiz e da parte aérea, da altura do primeiro nó e do diâmetro do caule, indicando um distúrbio geral no crescimento e desenvolvimento do milho. O coeficiente de determinação variou entre 0,99 e 0,84.

No experimento 2, no qual a sementeira do milho se deu 30 dias após a adição dos frutos aos vasos com regas regulares, não se observou diferença na maioria dos parâmetros analisados nos três tratamentos (Tabela 2). Houve redução significativa no peso seco das raízes das plântulas de milho, e na concentração mais alta, no número de raízes.

TABELA 1. Frutos maduros incorporados ao vaso, com sementeira do milho imediatamente após a incorporação. Tratamentos: A₁= 50 g de frutos/vaso, B₁= 22,5 g de frutos/vaso e C₁= controle, sem frutos.

Parâmetros (30 dias após sementeira)	Tratamento ¹		
	A ₁	B ₁	C ₁
Altura da planta (cm)	16,53a	23,74b	27,54c
Número de folhas/planta	4,90a	5,10a	5,50a
Diâmetro do caule (cm)	0,32a	0,35b	0,37c
Peso seco da parte aérea (g)	0,12a	0,18b	0,26c
Número de raízes adventícias	7,40a	7,60a	9,10a
Peso seco da raiz (g)	0,09a	0,18b	0,21c
Emergência (%)	80a	97a	100a

¹ Valores acompanhados de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si com $\alpha = 0,05$. Teste de Tukey.

TABELA 2. Frutos maduros incorporados ao vaso, 30 dias antes da sementeira do milho. Tratamentos: A₂ 50 g de frutos/vaso, B₂= 22,5 g de frutos/vaso e C₂= controle, sem frutos. Delineamento: blocos casualizados.

Parâmetro (30 dias após sementeira)	Tratamento ¹		
	A ₂	B ₂	C ₂
Altura da planta (cm)	53,52a	48,04a	57,16a
Altura do primeiro nó (cm)	5,65a	5,25a	5,53a
Número de folhas/planta	4,90a	4,90a	5,20a
Diâmetro do caule (cm)	0,40a	0,38a	0,38a
Peso seco da parte aérea (g)	0,24a	0,21a	0,27a
Número de raízes adventícias	7,30ab	6,70a	9,10b
Peso seco da raiz (g)	0,11a	0,13b	0,15c
Emergência (%)	90a	100a	97a

¹ Valores acompanhados de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si com $\alpha = 0,05$. Teste de Tukey.

No experimento 3, no qual os frutos maduros de erva-mate permaneceram por 60 dias no solo do vaso, antes da sementeira do milho, novamente observaram-se diferenças significativas em quase todos os parâmetros avaliados (Tabela 3).

TABELA 3. Frutos maduros incorporados ao vaso, 60 dias antes da semeadura, nas seguintes quantidades por vaso: A₃ = 50 g, B₃ = 22,5 g, C₃ = 0 g (controle, sem frutos).

Parâmetro (30 dias após semeadura)	Tratamento ¹		
	A ₃	B ₃	C ₃
Altura da planta (cm)	19,30a	22,10b	31,18c
Altura do primeiro nó (cm)	4,73a	5,27b	6,09c
Número de folhas/planta	2,90a	3,20b	3,80c
Diâmetro do caule (cm)	0,30a	0,31a	0,32a
Peso seco da parte aérea (g)	0,056a	0,063b	0,097c
Número de raízes adventícias	3,90a	5,10b	6,10c
Peso seco da raiz (g)	0,04a	0,06a	0,06a
Emergência (%)	96,67a	93,33a	60,00b

¹ Valores acompanhados de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente com $\alpha = 0,05$. Teste de Tukey.

Observe-se que no decorrer do tempo as temperaturas foram mais baixas, sendo que nos experimentos 1 e 3 houve bastante variação de temperatura, enquanto no experimento 2 as temperaturas máxima e mínimas tiveram menor variabilidade (Figs. 1, 2 e 3).

Experimentos em laboratório - germinação e desenvolvimento

O efeito osmótico sobre a germinação do milho só foi significativo quando se usou a concentração mais alta (1:4) (Fig. 4). Isso demonstra que o efeito osmótico não está afetando os experimentos de concentrações menores. A não-significância dos resultados germinativos entre os tratamentos PEG 1 e 1:16 do extrato, bem como PEG 2 e 1:8, mostra a ausência de efeito alelopático nessas duas concentrações sobre a germinação do milho. Somente o extrato de concentração mais alta apresenta, além do efeito osmótico, uma ação alelopática.

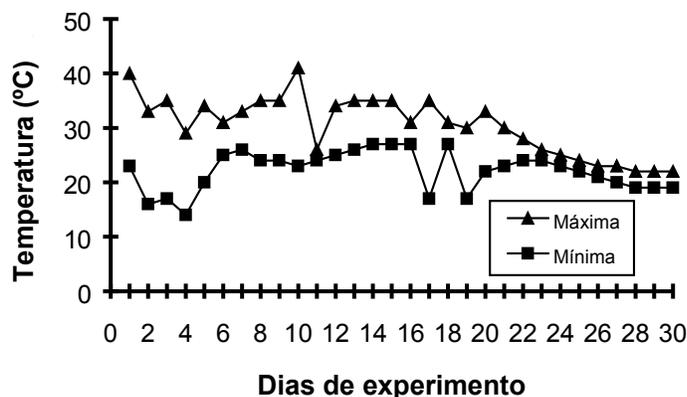


FIG. 1. Temperatura máxima e mínima, na casa de vegetação ao longo do experimento 1. Frutos maduros de *Ilex paraguariensis* recém-incorporados ao solo dos vasos.

De forma geral, o efeito osmótico sobre o desenvolvimento afeta mais os parâmetros da parte aérea do que os da raiz, e, na concentração mais alta da solução de PEG, houve esse efeito nas medidas de comprimento da raiz primária e peso seco das raízes. Na solução de menor concentração de PEG, o potencial osmótico não afeta significativamente os parâmetros de desenvolvimento da raiz, tornando mais evidente a alelopatia (Tabela 4).

O comprimento e o peso seco da parte aérea decrescem significativamente à medida que aumenta a concentração do extrato, apresentando evidências de alelopatia nas concentrações 1:16 e 1:8 dos extratos. Na concentração 1:4 não há diferença estatística entre os resultados com PEG e extrato; é possível que o potencial osmótico se tenha tornado tão negativo que a planta já não podia responder aos diferentes tratamentos. O mascaramento do efeito alelopático também é bem evidente nas medidas da primeira folha (Tabela 4).

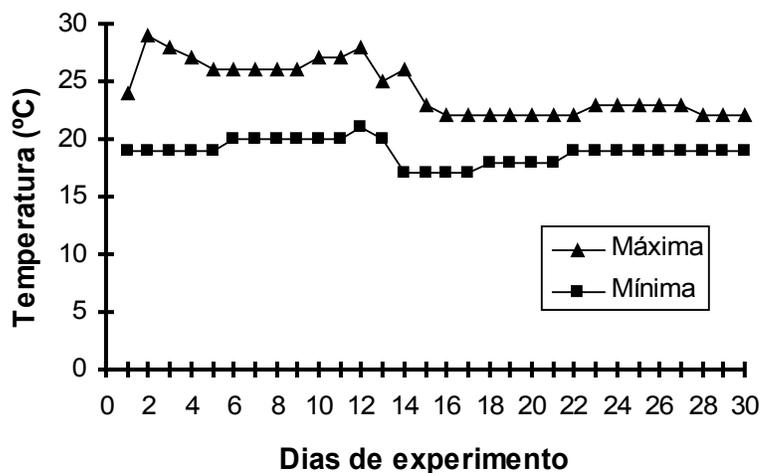


FIG. 2. Temperatura máxima e mínima, na casa de vegetação ao longo do experimento 2. Frutos maduros de *Hex paraguariensis* incorporados ao solo 30 dias antes do plantio do milho.

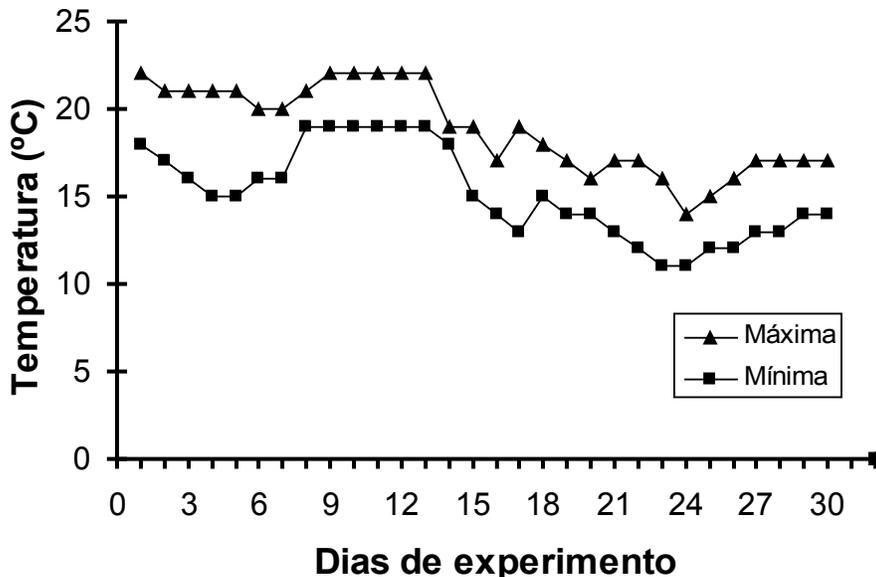


FIG. 3. Temperaturas máxima e mínima, na casa de vegetação, ao longo do experimento 3. Frutos maduros de *Hex paraguariensis* incorporados ao solo 60 dias antes do plantio do milho.

Nas raízes, o efeito alelopático dos extratos mostra-se mais marcante. O comprimento da raiz primária e o número de pêlos absorventes contrastam de maneira expressiva com o controle ou PEG, especialmente, na menor concentração utilizada. Essa diminuição do crescimento da raiz primária e dos pêlos absorventes foi compensada, pelo menos em parte, pelo maior desenvolvimento de raízes adventícias (Tabela 4).

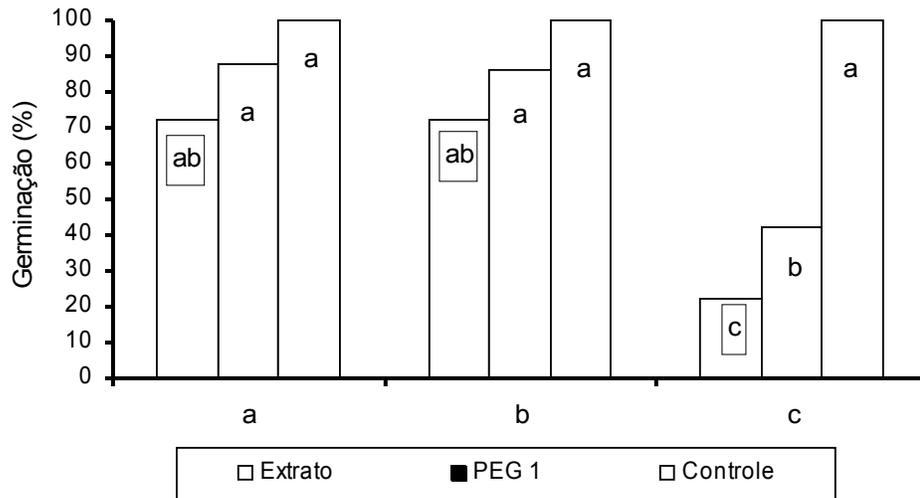


FIG. 4. Porcentagem de germinação do milho no experimento em placas gerbox. As proporções dos extratos representam o peso do pó de frutos maduros em (g) por volume de água em (mL). No eixo das abscissas tem-se: (a) extrato 1:16, solução de PEG com potencial osmótico de -2,37 bares; (b) extrato 1:8, solução de PEG com potencial osmótico de -4,64 bares; (c) extrato 1:4, solução de PEG com potencial osmótico de -9,77 bares. Letras iguais, sobre as barras, indicam que os valores não diferem significativamente com $\alpha = 0,05$. Teste de Tukey.

TABELA 4. Avaliação de parâmetros de crescimento em plantas jovens de milho, submetidas a diferentes concentrações de extratos (peso do pó de frutos maduros/volume de água) de *Ilex paraguariensis* e PEG 6000.

Parâmetros	Potencial osmótico							
	0,0		-2,37 bares		-4,64 bares		-9,77 bares	
	Controle	PEG 1	1:16	PEG 2	1:8	PEG 3	1:4	
Comprimento da parte aérea (cm)	7,05a	5,5b	3,76d	4,6c	2,87e	2,01f	1,93f	
Comprimento da 1ª folha (cm)	4,19a	3,3a	1,08c	2,25b	0,83c	0,56c	0,31c	
Comprimento da raiz primária (cm)	14,85a	14,83a	2,2d	11,81b	1,77d	7,89c	1,44d	
Número de raízes adventícias	4,6a	4,88a	8,77c	4,79a	6,83bc	4,92a	5,72b	
Número de pêlos absorventes	26,99a	22,62ab	4,73c	19,66b	2,98c	5,74c	0,10c	
Peso seco da raiz (g)	0,032a	0,033a	0,023b	0,032a	0,021b	0,026b	0,011c	
Peso seco da parte aérea (g)	0,026a	0,021b	0,018cd	0,020bc	0,015d	0,011e	0,011e	

Como não houve controle de temperatura e fotoperíodo, os resultados obtidos nos três experimentos realizados em casa de vegetação não podem ser comparados. Entre final de fevereiro, quando foi instalado o experimento 1, e final do experimento 3, em maio, houve redução significativa da temperatura e das horas de luz, na latitude em que se localiza Porto Alegre (30°4' Sul). Ainda assim, como em todos os casos, houve um tratamento-controle; comportamentos gerais de respostas aos tratamentos podem ser analisados. A altura das plantas, diâmetro do caule, peso seco da parte aérea e da raiz, número de raízes adventícias e de pêlos absorventes foram maiores nos controles do que nos vasos onde havia a presença de frutos maduros de erva-mate. Isso sugere fortemente um efeito inibitório alelopático dos frutos da erva-mate sobre o crescimento e desenvolvimento do milho. A emergência do milho, no entanto, não foi afetada pela presença do fruto da erva-mate. É comum um comportamento afetar mais a plântula em crescimento do que a sua emergência, feita à custa das reservas da semente (McNaughton, 1968; Shilling et al., 1992). A toxidez dos resíduos pode aumentar por ativação ou por liberação de outros compostos tóxicos (Stowe & Kil, 1983; Chou, 1986).

A absorção de íons pelas raízes é de importância básica para o crescimento e reprodução de organismos, e acumulam-se evidências de que muitos tipos de ajustes alelopáticos afetam a taxa de captação de íons

(Rice,1984). Flavonóides se mostraram inibidores da atividade da ATPase de membrana plasmática de raízes, enquanto compostos fenólicos em raízes excisadas inibiram a captação de minerais por alterações na permeabilidade da membrana (Balke,1985). Ácido clorogênico, ácido isoclorogênico e flavonóides foram encontrados na análise do pó obtido pela trituração de frutos maduros de erva-mate (Miró,1994), podendo ser esses os possíveis agentes alelopáticos dos frutos.

A ação inibitória dos compostos fenólicos pode ser afetada pela temperatura (Einhellig & Eckrich, 1983), e variações mais pronunciadas da temperatura podem ter aumentado os efeitos alelopáticos nos experimentos 1 e 3, onde esses foram mais notáveis (Tabelas 1 e 3).

Plântulas de milho germinadas em extratos de resíduos de soja tiveram decréscimo no seu número de raízes adventícias (Martin et al., 1990), como ocorreu nesse estudo na presença de frutos maduros de erva-mate. As raízes são mais sensíveis do que a parte aérea à presença de inibidores, mesmo em concentrações muito baixas (Achhireddy et al., 1985; Singh et al., 1989).

Embora a parte aérea possa ser menos sensível que as raízes, em quase todos os parâmetros medidos (altura da planta, do primeiro nó, número de folhas e peso seco da parte aérea) diminuíram com o aumento da concentração dos frutos nos vasos, indicando um efeito alelopático.

A presença de compostos fenólicos provoca distúrbios no desenvolvimento da planta, como no comprimento internodal (Inderjit & Dakshini,1992), podendo provocar um decréscimo significativo do ganho de peso de matéria seca na parte aérea (Chaghtai et al., 1986; Hicks et al., 1989; Alsaadawi et al., 1990; Ferreira et al., 1992).

Nos experimentos realizados em laboratório, com condições ambientais mais controladas e substrato mais simples (papel), também não se observou efeito inibitório sobre a germinação, quer dos extratos quer da solução osmótica empregada. Extrato de *Cyperus rotundus*, que apresentam efeito alelopático sobre o crescimento do milho, não o afetou na germinação (Meguro,1969).

O efeito alelopático dos extratos de frutos de erva-mate foram evidentes nos parâmetros de crescimento analisados, embora não seja desprezível o efeito osmótico (Tabela 4). Na concentração mais alta do extrato (1:4) e seu potencial osmótico equivalente de PEG 6000, não houve diferença nos parâmetros altura da planta, comprimento da primeira folha e peso seco da parte aérea. Apenas em alguns parâmetros da raiz, como comprimento da raiz primária e peso da matéria seca, o efeito alelopático ainda se sobrepõe ao efeito osmótico. Em concentrações mais baixas do extrato, tanto no tocante à parte aérea, quanto no que respeita aos parâmetros de raiz, houve efeito alelopático evidente. Neste particular, os pêlos absorventes do milho mostraram-se extremamente sensíveis. Meguro (1969) já havia observado que os pêlos radiculares do milho eram extremamente sensíveis ao extrato de *Cyperus rotundus*. Extratos de *Vicia sativa* afetaram a formação de pêlos absorventes em alfaca (Medeiros & Lucchesi, 1993), e em gimnospermas eles foram suprimidos quando em contato com casca de *Picea engelmannii*, rica em compostos fenólicos (Taylor & Shaw, 1982). Pela rapidez dos testes, no máximo cinco dias, a presença de pêlos absorventes radiculares em milho pode mostrar o potencial alelopático de extratos de plantas, desde que se tome cautela quanto aos possíveis efeitos osmóticos dos extratos em teste.

A comparação dos resultados diante dos controles sugere que a presença dos frutos no solo afeta alelopaticamente a planta de milho, e que essa interferência pode ser atribuída às substâncias que compõem os frutos da erva-mate e que foram libertados nos extratos preparados ou para o solo ao longo do tempo.

O importante papel alelopático dos compostos fenólicos, das saponinas, alcalóides e outras substâncias, mostra que é necessário ser feito um estudo mais detalhado sobre a qualidade e quantidade desses possíveis aleloquímicos nos frutos de erva-mate. Doutra parte, também seria necessário uma investigação mais ampla sobre a ocorrência, no solo, dessas substâncias alelopáticas liberadas pelos frutos, pois só assim, poder-se-á decidir dos reais efeitos alelopáticos sobre as eventuais culturas sazonais, que são realizadas muitos meses após a queda dos frutos da erva-mate.

CONCLUSÕES

1. Os frutos de erva-mate e seus extratos não afetam a germinação e a emergência das plântulas de milho.
2. Os efeitos inibidores dos frutos persistem pelo menos dois meses no solo.
3. As raízes, e em especial os pêlos absorventes do milho, são muito sensíveis aos aleloquímicos presentes na erva-mate.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. João Riboldi pela orientação na análise estatística dos dados; à PLANTEC-ME por viabilizar os experimentos em vasos; ao IPAGRO pelo fornecimento das sementes de milho; ao CNPq pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

- ACHHIREDDY, N.R.; SINGH, M.; ACHHYREDDY, M.; NIGG, H.N.; NAGY, S. Isolation and partial characterization of phytotoxic components from lantana. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.8, p.979-988, 1985.
- ALMEIDA, F.S. A defesa das plantas. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.11, n.62, p.38-45, 1990.
- ALSAADAWI, I.; SAKERI, F.A.K.; AL-DULAIMY, S.M. Allelopathic inhibition of *Cynodon dactylon* (L.) and other plant species by *Euphorbia prostrata* L. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.16, n.9, p.2747-2754, 1990.
- ANDERSON, R.C.; LOUCKS, O.L. Osmotic pressure influence in germination tests for antibiosis. **Science**, Washington, v.152, p.771-773, 1966.
- ASTARITA, L.V.; FERREIRA, A.G.; BERGONCI, J.I. *Mimosa bimucronata*: Allelopathy and osmotic stress. **Allelopathy Journal**, Hisar, v.3, n.1, p.43-50, 1996.
- BAKER, D.A. Water relations. In: WILKINS, M.B. (Ed.). **Advanced Plant Physiology**. Marshfield: Pitman Pub., 1984. p.297-318.
- BALKE, N.E. Effects of allelochemicals on mineral uptake and associated physiological process. In: THOMPSON, A.C. (Ed.). **The Chemistry of Allelopathy**. Washington: Am. Chem. Soc., 1985. p.161-178.
- BHOWMIK, P.C.; DOLL, J.D. Corn and soybean response to allelopathic effects of weed and crop residues. **Agronomy Journal**, Madison, v.74, p.601-606, 1982.
- CHAGHTAI, S.M.; SADIQ, A.; IBRAR, M. Phytotoxicity of *Fumaria indica* on wheat. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v.18, n.1, p.59-64, 1986.
- CHOU, C. The role of allelopathy in subtropical agroecosystems in Taiwan. In: PUTNAM, A.; TANG, C. (Eds.). **The Science of Allelopathy**. New York: Wiley-Interscience, 1986. p.57-73.
- CHOU, C.; LEE, Y. Allelopathic dominance of *Miscanthus transmorrisonensis* in an alpine grassland community in Taiwan. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.17, n.11, p.2267-2281, 1991.
- CORCUERA, L.J.; ARGANDOÑA, V.H.; ZÚÑIGA, G.E. Allelopathicals in wheat and barley: role in plant-insect interaction. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Eds.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p.119-127.
- COUTINHO, L.M.; HASHIMOTO, F. Sobre o efeito inibitório da germinação de sementes produzidas por folhas de *Calea cuneifolia* DC. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.23, n.6, p.759-764, 1971.
- DATTA, S.C.; GHOSH, K.N. Allelopathy in two species of *Chenopodium* - inhibition of germination and seedling growth of certain weeds. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Warsaw, v.56, n.2, p.257-270, 1987.
- EINHELLIG, F.A.; ECKRICH, P.C. Interaction of temperature and ferulic acid stress on grain sorghum and soybean. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.9, p.161-170, 1983.
- ELLIOT, L.F.; McCALLA, T.M.; WAISS JUNIOR, A. Phytotoxicity associated with residue mangement. In: CROP RESIDUE MANAGEMENT SYMPOSIUM, 1976, Houston. Madison: ASA/ CSSA/ SSSA, 1978. p.131-146.
- EMMERICH, W.E.; HARDEGREE, S.P. Polyethylene glycol solution contact effects on seed germination. **Agronomy Journal**, Madison, v.82, p.1003-1007, 1990.
- FERREIRA, A.G. Erva-mate & chimarrão. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.19, n.111, p.47-50, 1995.
- FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A.; JACOBI, U.S.; RIZVI, V. Allelopathy in Brazil. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Eds.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p.243-250.
- GIBERTI, G. Las especies argentinas del género *Ilex* L. (Aquifoliaceae). **Darwiniana**, Buenos Aires, v.22, n.1/3, p.217-240, 1979.

- GOEL, U.; SAXENA, D.B.; KUMAR, B. Comparative study of allelopathy as exhibited by *Prosopis juliflora* Swartz and *Prosopis cineraria* (L.) Druce. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.15, n.2, p.591-600, 1988.
- HEUSER, E.D.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A. *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). Endosperma e embrião durante a embriogênese tardia. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, San Isidro, v.29, n.1/2, p.39-48, 1993.
- HICKS, S.K.; WENDT, C.W.; GANNAWAY, J.R.; BAKER, R.B. Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, emergence, and yield. **Crop Science**, Madison, v.29, n.4, p.1057-1061, 1989.
- INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. Interference potencial of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae): growth and physiological responses of asparagus bean, *Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*. **American Journal of Botany**, Columbus, v.79, n.9, p.977-981, 1992.
- 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.935-943, 1991.
- KASPARY, R. **Erva-mate**: aspectos gerais. Venâncio Aires: Treze de Maio, 1991. 40p.
- KATASE, T. Distribution of different forms of p-hydroxybenzoic acid, vanilic acid, p-coumaric acid, and ferulic acid in forest soil. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.27, p.365-372, 1981.
- LEATHER, G.R.; EINHELLIG, F.A. Bioassay on naturally occurring allelochemicals for phytotoxicity. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.14, n.10, p.1821-1828, 1988.
- LITTLE, T.M.; HILLS, F.J. **Agricultural experimentation**. Design and analysis. New York: John Wiley and Sons, 1978. 350p.
- LUU, K.T.; MATCHES, A.G.; NELSON, C.J.; PETERS, E.J.; GARDNER, G.B. Characterization of inhibitory substances of tall fescue on birdfoot trefoil. **Crop Science**, Madison, v.29, p.407-412, 1989.
- MALLIK, A.U. Allelopathic potential of *Kalmia angustifolia* to black spruce (*Picea mariana*). **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.20, p.43-51, 1987.
- MARTIN, V.L.; McCOY, E.L.; DICK, W.A. Allelopathy of crop residues influences corn seed germination and early growth. **Agronomy Journal**, Madison, v.82, p.555-560, 1990.
- McNAUGHTON, S.J. Autotoxic feedback in relation to germination and seedling growth in *Typha latifolia*. **Ecology**, Tempe, v.49, n.2, p.367-369, 1968.
- MEDEIROS, A.R.M.; LUCCHESI, A.A. Efeitos alelopáticos da ervilhaca (*Vicia sativa* L.) sobre a alface em testes de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p.9-14, 1993.
- MEGURO, M. Substâncias reguladoras de crescimento em rizoma de *Cyperus rotundus* L. Efeito do extrato de rizoma na germinação e crescimento de plantas superiores. **Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo - Botânica**, São Paulo, v.331, n.24, p.127-144, 1969.
- MELKANIA, N.P. Allelopathy in forest and agroecosystems in the Himalayan region. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Eds.). **Allelopathy**. Basic and applied aspects. London: Chapman & Hall, 1992. p.371-388.
- MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potencial of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Rockville, v.51, p.914-916, 1973.
- MIRÓ, C.P. **Efeitos alelopáticos de frutos maduros de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.) sobre a germinação e o crescimento inicial do milho**. Porto Alegre: UFRGS, 1994. 106p. Dissertação de Mestrado.
- MUKHERJEE, A.K. Allelopathy in *Phoenix paludosa* pure stand formation. **Journal of Economic and Taxonomic Botany**, Jodhpur, v.12, n.2, p.409-413, 1988.
- PARDALES JUNIOR, J.R.; KONO, Y.; YAMAUCHI, A.; IJIMA, M. Seminal root in sorghum (*Sorghum bicolor*) under allelopathic influences from residues of taro (*Colocasia esculenta*). **Annals of Botany**, London, v.69, p.493-496, 1992.
- RICE, E.L. **Allelopathy**. Orlando: Academic Press, 1984. 422p.
- RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Eds.). **Allelopathy**: basic and applied aspects. London: Chapman & Hall, 1992. p.443-472.

- RIZVI, S.J.H.; MISHRA, G.P.; RIZVI, V. Allelopathic effects of nicotine on maize. II. Some aspects of its mechanism of action. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.116, p.292-293, 1989.
- RODER, W.; WALLER, S.S.; STUBBENDIECK, J.L. Allelopathic effects of sandbur leachate on switchgrass germination: observations. **Journal of Range Management**, Denver, v.41, n.1, p.86-87, 1988.
- SALISBURY, I.B.; ROSS, C. **Plant Physiology**. Belmont: Wadsworth Pub. Co., 1969. 747p.
- SHILLING, D.G.; DUSKY, J.A.; MOSSLER, M.A.; BEWICK, T.A. Allelopathic potential of celery residues on lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.2, p.308-312, 1992.
- SINGH, M.; TAMMA, R.V.; NIGG, H.N. HPLC identification of allelopathic compounds from *Lantana camara*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.15, n.1, p.81-89, 1989.
- SMITH, A.E. The potential allelopathic of bitter sneezeweed (*Helenium amarum*). **Weed Science**, Champaign, v.37, p.665-669, 1989.
- SOGAARD, B.; DOLL, H. A positive allelopathic effect of corn cockle, *Agrostema githago*, on wheat, *Triticum aestivum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.70, p.1916-1918, 1992.
- STOWE, L.G.; KIL, B. The role of toxins in plant-plant interactions. In: KEELER, R.F.; TU, A.T. (Eds.). **Handbook of natural toxins**. New York: Marcel Dekker, 1983. v.1, p.707-741.
- TAYLOR, R.J.; SHAW, D.C. Allelopathic effects of Engelmann spruce bark stilbenes and tannin-stilbene combination on seed germination and seedling growth of selected conifers. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.61, p.281-289, 1982.
- TORMEN, M.J. Economia da ervateira brasileira. In: WINGE, H.; Ferreira, A.G.; Mariath, J.E.A.; Tarasconi, L.C. (Eds.). **Erva-Mate: biologia e cultura no cone sul**. Porto Alegre: UFRGS, 1995, p.27-40.
- TOUCHETTE, R.; LEROUX, G.D.; DESCHÊNES, J.M. Allelopathic activity of quackgrass (*Agropyron repens*) extracts and residues on alfalfa (*Medicago sativa*). **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.68, p.785-792, 1988.
- WALLER, G.R.; JURZYSTA, M.; THORNE, R.L.A. Allelopathic activity of root saponins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) on weeds and wheat. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v.34, p.1-11, 1993.
- WARDLE, D.A.; NICHOLSON, K.S.; AHMED, M. Comparison of osmotic and allelopathic effects of grass leaf extracts on grass seed germination and radicle elongation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.140, p.315-319, 1992.
- WOODS, F.W. Biological antagonisms due the phytotoxic root exsudates. **The Botanical Review**, Bronx, v.26, p.546-569, 1960.
- ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall Inc., 1984. 718p.