

EFEITO DO CITRONELOL SOBRE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO AMENDOIM-BRAVO (*Euphorbia heterophylla* L.)*

ANTONIO BARIONI GUSMAN^a
GERSON MUCILLO^b
MARIA HELENA PIRES^c

RESUMO

O citronelol (3,7 dimetil-6-octen-ol) extraído de cascas de laranja mostrou agir sobre a germinação e crescimento de *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo). A exposição de sementes ao volátil durante 5 horas à doses de 1,0 μ l (5,5 μ M) a 40 μ l (220 μ M) em placas de petri seladas e posterior embebição, mostrou que a dose 2,9 μ l causou uma redução de 50% na germinação (LD₅₀) conforme indicou a análise por probitos. O índice mitótico estimado para pontas de raízes de 2.0 a 5.0 mm de sementes expostas a dose LD₅₀ por 5 horas, indicou que a inibição do crescimento radicular pelo citronelol pode estar associado a inibição da atividade mitótica ($X^2 = 88,96$; $p < 0,001$). Nestas condições o citronelol também causou ainda redução significativa no comprimento e largura do hipocótilo, e no número, comprimento e largura de células do diâmetro e cortex desta estrutura. Estes dados sugerem outros experimentos em campo para possível controle desta invasora.

PALAVRAS-CHAVE: Planta daninha, citronelol, germinação e crescimento.

1 - INTRODUÇÃO

Dentre as plantas daninhas invasoras de culturas agrícolas, destaca-se a espécie *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo), uma das mais difíceis de se controlar por herbicidas. É caracterizada por sua elevada competitividade e agressividade, apresentando ampla distribuição geográfica no país (CERDEIRA, 1981, WILSON, 1982, LORENZI, 1982). Além disso, a alta capacidade desta espécie na produção de sementes por m², dispersão, e rápido desenvolvimento (EGUNJOBI & KUPOLUGI, 1973, GUSMAN et alii, 1987), conferem à planta a variabilidade genética necessária para uma rápida colonização extremamente prejudicial à produção agrícola, como acontece com a cultura da soja (CHEMALE & FLECK, 1982). O uso de herbicidas no controle de plantas daninhas, pode afetar também as plantas cultivadas a nível de sementes, crescimento inicial e desenvolvimento, além de continuar agindo no solo por ação residual (FREYER & MAKEPEACE, 1977, DE MARINIS & ABSY, 1979). Portanto qualquer método alternativo de controle por produtos naturais a nível de sementes desta espécie, limitando ou bloqueando precocemente a germinação, reduziria sua propagação, evitaria o efeito colateral dos agrotóxicos, e a competitividade.

Este trabalho, surgiu de uma observação casual em áreas de cultura de citrus abandonados, onde ocorria alta infestação pelo amendoim-bravo, exceto nas vizinhanças de amontoados de laranjas, em cujo entôr-

no o solo se mantinha desnudo. Isto evidencia um possível efeito alelopático com inibição drástica sobre as sementes de amendoim-bravo. Dos vários componentes químicos voláteis presentes na casca de citrus, um deles, o citronelol (C₁₀H₂₀O), ou 3,7 dimetil-6 octen-ol, um álcool monoterpênico volátil, é sub-produto na indústria cítrica - matéria prima de grande disponibilidade, apresenta atividades que incluem propriedades citotóxicas, antibióticas e fungistáticas (FARIA, 1987).

Partindo-se da hipótese de um possível efeito alelopático do citronelol, o objetivo do presente trabalho foi o de, utilizando este componente volátil, determinar, em relação à germinação, a dose LD₅₀, e o de contribuir com subsídios quanto à ação do citronelol sobre a germinação, e crescimento de plântulas de sementes sobreviventes àquela dose.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

As sementes utilizadas foram obtidas de plantios efetuados no Jardim Experimental do Setor de Botânica do Campus da USP em Ribeirão Preto. Os frutos foram coletados individual e manualmente, no verão até 9:00 hs, e no inverno até às 14:00 hs, garantindo frutos maduros, e antes da deiscência dos frutos.

As sementes escuras (pretas e marrons) foram selecionadas para os ensaios, pois as claras são dotadas de baixíssima taxa de germinação (GUSMAN et alii, 1987) e estocadas em geladeira a 5°C para utilização a curto prazo (1 a 2 meses) conservando viabilidade.

a. Departamento de Biologia (Botânica) - FFCL Ribeirão Preto - Campus da USP e Bolsita do CNPq.

b. Departamento de Matemática e Estatística - FFCLRP - USP.

c. Técnico Especializado do Departamento de Biologia - FFCLRP - USP

* O presente artigo é parte de um trabalho em andamento sugerido pelo Prof. Dr. Robson A. Pitteli da FCAV - UNESP - Jaboticabal, SP.

de em torno de 97%.

A citronelol foi fornecido pelo Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Área de Eletroquímica.

Os experimentos de germinação foram realizados em placas de Petri (9,0 cm de ϕ x 1,3 cm de profundidade) contendo papel de filtro Whatman nº 1. Foram utilizados volumes de 1 μ l, 2 μ l, 3 μ l, 4 μ l, 5 μ l, 7 μ l, 15 μ l, 20 μ l e 40 μ l do citronelol puro (1 μ l = 5,5 μ moles) para a determinação do LD₅₀. Estes volumes foram distribuídos em recipientes plásticos rasos (3,0 cm x 0,5 cm) e colocados no centro das placas de Petri. As sementes foram espalhadas em torno do pequeno recipiente e as placas seladas por 5 horas. Após este tempo o volátil foi descartado, e as sementes embebidas com 4,0 ml de H₂O destilada. Os tratamentos e controles foram distribuídos em 3 placas de Petri para cada concentração contendo 50 sementes cada, e mantidos em estufa incubadora FANEM B.O.D. modelo 347-F à temperatura constante de 30°C (SANTOS E CORSO, 1987). Após 72 horas foram contadas as sementes germinadas e medidos os comprimentos das raízes. Para o cálculo do desvio padrão a partir do número de sementes germinadas, aplicou-se o teste de proporção (HOEL, 1981). A atividade específica do volátil foi calculada da curva de dose-resposta (Fig. 1). Uma unidade dose foi definida como a concentração ou quantidade de citronelol que inibe a germinação em 50% no ensaio padronizado em relação ao controle (LD₅₀).

Para a determinação mais precisa da dose-resposta LD₅₀, utilizamos a conversão de probitos (BLISS, 1935 e FINNEY, 1971, onde a proporção de sementes germinadas foi convertida a probitos e lançados em gráfico contra concentração de citronelol (Fig. 2).

Após a determinação da dose LD₅₀, a fim de se testar o crescimento radicular de plantas sobreviventes a dose LD₅₀ foi realizado um ensaio expondo-se sementes de *E. heterophylla* a 3,0 μ l de citronelol durante 1/2, 1, 2, 4, 6, 8 e 16 horas, colocadas para germinar nas condições acima descritas, e medidos após 3 dias os tamanhos das radículas, os quais foram expressos como porcentagem de controle.

Hipocótilos das plântulas controles, e plântulas sobreviventes à LD₅₀ foram cortados em peças de 0,5 cm, a partir de 0,5 cm acima da zona de transição caule-raiz, e fixados em FAA. Estas peças após os tratamentos convencionais para o embocamento em parafina foram seccionadas em microtomo longitudinal e transversalmente na espessura de 13 μ m, corados em safranina e montados em bálsamo do Canadá. Foram escolhidas três plantas ao acaso e feitas 30 medidas em ocular micrométrica segundo os seguintes parâmetros de seções longitudinais e transversais: Diâmetro do hipocótilo (média de duas medidas tomadas a ângulos retos em cada seção transversal); número de células do cortex em seção transversal; número de células por diâmetro do hipocotilo; comprimento e largura das células do cortex em seção longitudinal tomadas da região central do cortex.

Pontas de raízes de 2,0-5,0 mm de sementes tratadas com 3,0 μ l de citronelol foram fixadas em mistura de álcool e ácido acético (3:1) por 24 hs e a seguir

as raízes foram lavadas em água destilada, hidrolizadas em HCl 1N a 60°C por 10'. Após a interrupção da hidrólise, procedeu-se nova lavagem, transferindo-se as raízes para o reativo de Schiff por 30 minutos. Para a montagem das lâminas, as raízes foram lavadas em água sulfurosa (10 ml HCl 1N: 1,0 ml metabissulfito de sódio 10%: 18 ml H₂O). Logo após as raízes foram colocadas em lâmina com ácido acético 45% separando-se as extremidades mais coradas, que uma vez esmagadas suavemente com auxílio de lâmina foram deixadas em cubas saturadas com vapor de álcool 70% para evitar dessecação. O descolamento da lâmina foi feito em nitrogênio líquido, e as lâminas secas ao ar, uma vez montadas em bálsamo do Canadá foram analisadas para a determinação do índice mitótico, contando-se as células em divisão na profase, metafase, anafase, telofase e interfase. Foram contadas 114.000 células em microscópio de imersão. A fórmula usada para cálculo do índice mitótico foi:

$$IM = \frac{\text{células em divisão}}{\text{células em divisão} + \text{interfase}} \times 100$$

Aplicou-se o teste de significância qui-quadrado.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela Figura 1, observa-se a inibição da germinação de sementes de amendoim-bravo quando expostos à ação do citronelol. Verifica-se que a menor dose, 1,0 μ l de citronelol, reduz apreciavelmente a germinação enquanto 40 μ l a suprime totalmente, 2,9 (159,5 μ moles) e 40 μ l de citronelol bloqueia 50% (LD₅₀), e suprime totalmente o processo germinativo respectivamente. A Figura 2 mostra, pelo método dos probitos precisamente o valor de 2,6182 μ l para a dose letal (LD₅₀), sendo (1,50; 3,690) os limites de 95% de confiança para dose letal 50%.

As sementes secas submetidas a diferentes períodos de exposição à dose LD₅₀ de citronelol, sofreram intensa inibição no crescimento radicular (Figura 3). A exposição das sementes durante 5 horas, e 16 horas levou à redução e praticamente à supressão do crescimento radicular das plântulas sobreviventes respectivamente. Isto indica que o efeito lesivo do citronelol às sementes secas aumenta com o período de exposição e segundo o quadro 1, podemos afirmar que a inibição do crescimento celular, pelo menos nas primeiras 72 horas de germinação, está associada à inibição da mitose.

As medidas de comprimento e largura de hipocótilo de plântulas de 3 dias sobreviventes mostradas no Quadro 2, indicam uma estreita correspondência com as dimensões celulares. Verificamos, portanto pelos dados, uma ação inibidora do citronelol levando a uma redução no crescimento axial e transversal do hipocótilo, quando comparada com o controle em água, com diferenças altamente significantes a nível de 5%. Baseados nos resultados do Quadro 1, e por analogia ao crescimento radicular, podemos considerar a ação do citronelol não simplesmente sobre a elongação do hipocótilo, mas a nível de inibição mitótica.

Estas respostas morfológicas provocadas pelo ci-

tronelol sugerem a possibilidade de que a aplicação do volátil no solo antes do plantio intenso das culturas, poderá uma vez absorvido e acumulado na semente quiescente invasora, resultar na redução da taxa de germinação e crescimento de plântulas da planta invasora durante as chuvas ou irrigação quando semeadas as sementes das plantas econômicas.

Os resultados desta pesquisa vem corroborar alguns trabalhos realizados com terrenos voláteis oriundos de órgãos vegetais, os quais aleloquimicamente, bloqueiam ou limitam precocemente a germinação e crescimento de outras espécies em ensaios biológicos no laboratório conforme relatado por NÉMEC & STRANÁK (1920), MULLER (1965), HALLIGAN (1975), MOREIRA (1979).

Como os efeitos causados pelo citronelol, foram estudados em plântulas de 72 horas de idade, se faz necessário a realização de pesquisas diretamente no campo para a avaliação do possível potencial lesivo deste volátil a longo prazo, e em estágios mais avan-

çados do desenvolvimento das plantas do amendoim-bravo quanto aos aspectos morfológicos e fisiológicos que impliquem em possíveis efeitos degenerativos, redução de capacidade de competição e reprodutiva.

4 - CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que:

a) A germinação de sementes de *E. heterophylla* L., quando expostas ao citronelol são altamente sensíveis a sua ação, sendo que a dose de 2,9 µl reduz a germinação em 50% em relação ao controle.

As plantas sobreviventes de sementes submetidas a dose LD₅₀ mostraram alterações morfológicas com diferenças significativas em relação ao controle quanto ao comprimento e diâmetro do hipocótilo, diâmetro do cortex, comprimento e largura das células do cortex sendo que a inibição do crescimento radicular está associada à inibição da mitose nas condições do experimento.

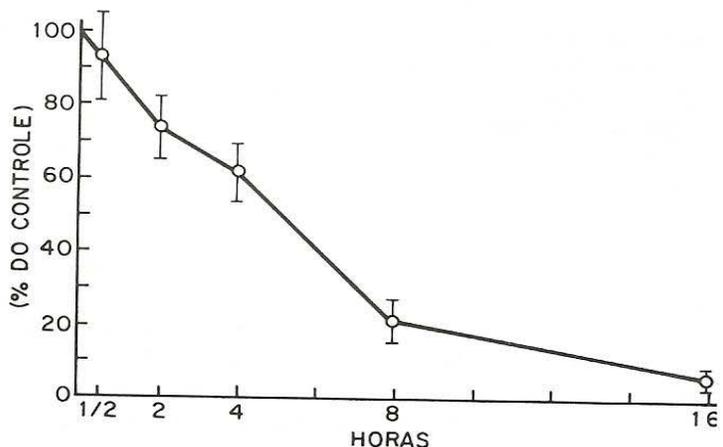
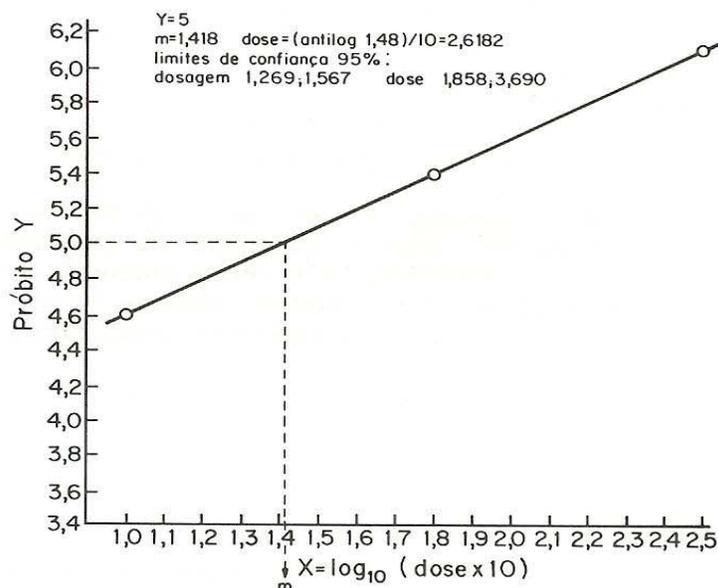
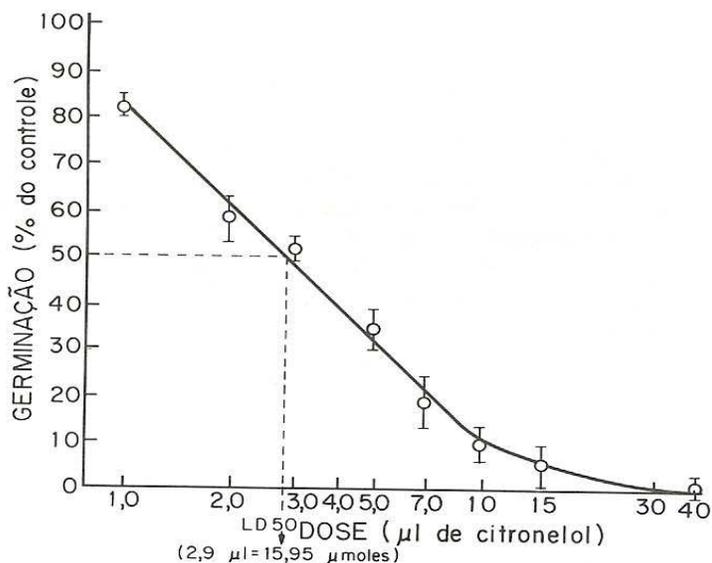


Figura 3: Resposta do crescimento radicular de sementes de *E. heterophylla* L (O) embebidas após 1/2, 2, 4, 8 e 16 horas de exposição ao citronelol em placas não lacradas.

Quadro 1 – Comprimento radicular e inibição mitótica

Comprimento radicular (mm)	Células e mitose (%)		Inibição pelo citronelol (%)
	controle	citronelol (3,0µl)	
2,0 – 5,0	3,6	2,5	30,5

Número total de células contadas nas pontas radiculares: 114.738
 $X^2 = 88,96$ $p < 0,001$

Quadro 2 – Efeito do citronelol na morfologia do hipocotilo de *E. heterophylla* L.

Parâmetros medidos	Controle ^b	Citronelol ^c (3.0 µl)	t ^a
Comprimento do hipocotilo (mm)	2,58 ± 0,24	1,55 ± 0,21	25,1
Diâmetro do hipocotilo (mm)	0,87 ± 0,04	0,66 ± 0,03	11,0
Número de células por diâmetro do hipocotilo	25 ± 3	21 ± 3	7,3
Número de células por diâmetro do cortex (µ m)	10 ± 1	7 ± 1	16,4
Largura da célula do cortex (µ m)	173,6 ± 15,5	125,6 ± 17,9	15,8
Comprimento da célula do cortex (µ m)	65,5 ± 5,4	50,0 ± 5,6	15,3

a: diferença significativa ao nível de 5%

b e c: cortex transversais e longitudinais na região mediana do hipocotilo

ABSTRACT

Citronelol 3,7 dimethyl-6-octen-1-ol, obtained from orange pericarp showed allelopathic action on the germination and growth of Euphorbia heterophylla L. (wild poinsettia). Exposure of seeds to small volumes of citronelol, during 5 hours, ranging 1,0 µl to 40 1,0 µl (5,5 µM to 220 µM), in sealed containers followed by inhibition, showed that the dose of 2,9 µl caused a 50% reduction of germination (LD₅₀), as indicated of probit analysis. The estimated mitotic index between 2.0 and 5.0 mm of root tips from germinated seeds exposed to the LD₅₀ dose for 5 hours indicated that the inhibition of root growth by citronelol, may be associated with mitosis inhibition ($X^2 = 88,9$ $p < 0,001$). At the same conditions citronelol also reduced the length, diameter of hypocotyl, and the length, number of cells representing the diameter and the cortex of hypocotyl. The data presented here indicate the need of further experiments of weed control in the field.

KEY WORDS: weed plant, citronelol, germination and growth.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – CERDEIRA, A.L. & VOLL, E. Germinação e emergências do amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 13^o. Resumos. Ilhéus/Itabuna-Bahia, 1980. p.96.
- 2 – BLISS, G.I. The calculation of dosage-mortality curve. *Ann. Appl. Biol.*, 22: 134-167, 1935.
- 3 – CHEMALE, V.M. & FLECK, N.G. Avaliação de cultivares de soja. (*Glycine max* (L.) Merrill) em competição com *Euphorbia heterophylla* L., sob três densidades e dois períodos de ocorrência. *Planta Daninha*, 4 (2): 36-45, 1982.
- 4 – DE MARINIS, G.; FERREIRA, A.A.A.; DOS SANTOS, R.F. & DELITTI, W.B. C. Alguns efeitos do fluormeturon sobre o crescimento inicial da raiz do feijoeiro (*Phaseous vulgaris* L.). *Rev. Agric. Piracicaba*, 55 (4): 305-309, 1979.
- 5 – DE MARINIS, G. & ABSY, M.L. Alguns efeitos do chlorbromuron sobre a germinação de *Bideus pilosa* L. *Ci. e Cult. São Paulo*, 29 (7): 18, 1977.
- 6 – EGUNJOBI, J.K. & KUPOLUYI, A.O. Biology and control of *Euphorbia heterophylla* L. In: PROCEEDING OF THIRD NIGERIAN WEED COMP. MEETING. Samara, 42-45, 1973.
- 7 – FARIA DE, L.A. Estudos eletroquímicos de oxidação do citronelol: um álcool terpênico. São Carlos, Instituto F.Q. de São Carlos-USP, 1987. Tese (Doutorado). I.F.Q. de São Carlos-USP.
- 8 – FINNEY, D.J. *Probit analysis*. Cambridge University, Press London 1971, p. 81-99.
- 9 – FREYER, J.D. & MAKEPEACE, R.J. *Weed control Handbook*. Blackwell, Scientific Publications, 1977. p.510.
- 10 – GUSMAN, A.B.; MUCCILLO, G. & GIORGINI, J.F. Estudos sobre a germinação das sementes de *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo). *Planta Daninha*. No prelo.
- 11 – HALLIGAN. Toxic terpenes from *Artemisia californica*. *Ecology* 56: 999-1003, 1975.

- 12 - HOEL, P.G. ESTATÍSTICA ELEMENTAR. Maringá, Atlas S/A, 1981. p.430.
- 13 - LORENZI, H.J. PLANTAS DANINHAS DO BRASIL. NOVA ODESSA, 1982. p.425.
- 14 - MOREIRA, I. Implicações da alelopatia na agricultura. In: SOCIEDADE PORTUGUESA DE CIÊNCIAS NATURAIS - COLEÇÃO NATURE, 1979, 5, p.31.
- 15 - MULLER, C.H. Inibitory terpenes volatized from *Salvia shrubs*. *Torrey Bot. Club*, 92: 38-45, 1965.
- 16 - NÉMEC, A. & STRANAK, F. Beitrag zur kenntnisdes toxicocken Cinflusses der terpene anf die hoheren pflanken. *Biochem Z.*, 104: 200-213, 1920.
- 17 - SANTOS, D.M.M. & CORSO, G.M. Germinação pré-plantio, pré-emergência, e pós-emergência de *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo) sob a influência do Diuron. CONGRESSO DA SBSP, 6^o, Campinas, 1987. Anais. Campinas, 1987.
- 18 - WILSON, A.K. *Euphorbia heterophylla*, a review of distribution, importance and control. *Tropical Pest. Managem*, 27 (1): 32-38, 1981.

Recebido para publicação em 8/3/1990

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES SEQUÊNCIAS DE PASTAGENS NO PESO E NO DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE CORTE, DE DOIS GRUPOS GENÉTICOS, COM PRIMEIRA CRIA AO PÉ^a

EDSON LUIS DE AZAMBUJA RIBEIRO^b
JOÃO RESTLE^c
CLEBER CASSOL PIRES^d

RESUMO

O objetivo principal deste trabalho foi verificar o ganho de peso e o desempenho reprodutivo de vacas de corte com primeira cria ao pé. Foram utilizadas 39 vacas Aberdeen Angus e 38 Charolês, submetidas a diferentes tratamentos, onde: T1 - Pastagem natural; T2 - Pastagem cultivada em setembro e outubro; T3 - Pastagem cultivada por duas horas diárias em julho e agosto; T4 - Pastagem cultivada por duas horas diárias em julho e agosto + pastagem cultivada em setembro e outubro. A partir do mês de novembro, as vacas de todos os tratamentos permaneceram em pastagem natural. Tratamento teve efeito significativo ($P < 0,01$) sobre os pesos ao parto, com médias de 342, 374, 346 e 387 Kg para as vacas do T1, T2, T3 e T4, respectivamente. Apesar da diferença de peso ao parto, não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$) sobre a taxa de prenhez, respectivamente, 6,7; 5,3; 0,0 e 11,1%, para T1, T2, T3 e T4. Isto ocorreu, provavelmente, em função das perdas de peso que ocorreram do parto ao final da estação de monta, com médias diárias, citadas na mesma ordem, de -0,073; -0,199; -0,193 e -0,313 Kg ($P < 0,01$). A disponibilidade média de pasto durante o período de monta foi de 716 Kg de MS/ha, com um teor de proteína bruta e digestibilidade na MS, respectivamente, de 5,53% e 37,69%, sendo insuficientes para atender as exigências totais dos animais.

PALAVRAS-CHAVE: Gado de corte; Desempenho reprodutivo; Pesos; Aberdeen Angus; Charolês.

1 - INTRODUÇÃO

Apesar de sua magnitude e potencial de crescimento, a criação de bovinos no Brasil apresenta índices de desempenho bastante modestos. Dados do CONDEPE e EMBRAPA-CNPq segundo CORRÊA (1983), mostram os baixos índices de produtividade no Brasil, com uma taxa de natalidade variando de 50 a

55%, mortalidade até a desmama de 9 a 10%, mortalidade média do rebanho de 5 a 6%, idade das fêmeas a primeira cria de 4 anos, idade de abate dos machos de 4,5 anos e taxa de desfrute de 12%.

O baixo índice reprodutivo existente é o fator mais limitante à obtenção de um maior desfrute e à execução de um programa de seleção a nível de rebanho. O anestro é a causa mais importante da infertili-

a. Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Santa Maria, como um dos requisitos do curso de mestrado em Zootecnia.
b. Departamento Medicina Veterinária Preventiva, Patologia Animal e Zootecnia-CCA/FUEL
c. Departamento de Zootecnia/UFMS - Bolsista do CNPq
d. Departamento de Zootecnia/UFMS