

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

**ALELOPATIA DE CARQUEJA (*Baccharis trimera*  
Less) E AÇÃO DE FUNGOS EM CAPIM-ANNONI  
(*Eragrostis plana* Ness)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Carlos Eduardo Prates Gonçalves**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2014**

**ALELOPATIA DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* Less) E  
AÇÃO DE FUNGOS EM CAPIM-ANNONI (*Eragrostis plana*  
Ness)**

**Carlos Eduardo Prates Gonçalves**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia.**

**Orientador: Prof. Antonio Carlos Ferreira da Silva**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2014**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Gonçalves, Carlos Eduardo Prates

ALELOPATIA DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* Less) E  
AÇÃO DE FUNGOS EM CAPIM-ANNONI (*Eragrostis plana* Ness) /  
Carlos Eduardo Prates Gonçalves.-2014.

88 p. ; 30cm

Orientador: Antonio Carlos Ferreira da Silva  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2014

1. Capim-annoni 2. Espécie invasora 3. Controle  
Biológico 4. Alelopatia 5. Bioma Pampa I. Ferreira da  
Silva, Antonio Carlos II. Título.

**Universidade Federal De Santa Maria  
Centro De Ciências Naturais E Exatas  
Programa De Pós-Graduação Em Agrobiologia**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado**

**ALELOPATIA DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* Less) E AÇÃO DE  
FUNGOS EM CAPIM-ANNONI (*Eragrostis plana* Ness)**

elaborado por  
**Carlos Eduardo Prates Gonçalves**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Agrobiologia**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Antonio Carlos Ferreira da Silva, Dr.**  
(presidente/Orientador)

**Solange Bosio Tedesco, Dra. (UFSM)**

**Naylor Bastiani Perez, Dr. (Embrapa/CPPSul)**

Santa Maria, 12 de março de 2014.

Dedico este trabalho ao amigo Bruno Kräulich (*in memoriam*).

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus.

À minha mãe, Marta, e ao meu pai, José, pelo apoio e dedicação.

À minha irmã, Joseane, pelos conselhos e ajuda nas horas difíceis.

À Fernanda, pelo carinho, paciência e compreensão nos domingos e feriados que não pude estar presente.

Também agradeço ao meu orientador, Professor Antonio Carlos Ferreira da Silva, por me orientar e estar sempre disponível para ajudar.

À Professora Solange Bosio Tedesco, pelo constante auxílio e por ter confiado a mim o projeto inicial dessa dissertação.

Ao Dr. Naylor Bastiani Perez, pela participação.

Ao Professor Luiz Augusto Salles das Neves, sempre solícito.

Ao amigo e colega de longa data, Anderson, pelo estímulo e por continuamente estar pronto para ajudar.

Agradeço ao Falko e ao Marcos, pela amizade e colaboração durante os experimentos.

A todos os amigos, que mesmo não mencionados, auxiliaram de alguma forma.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Santa Maria, por oportunizar todos esses anos de estudo, desde o Ensino Médio, passando pela Graduação e agora Mestrado.

## RESUMO GERAL

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **ALELOPATIA DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* Less) E AÇÃO DE FUNGOS EM CAPIM-ANNONI (*Eragrostis plana* Ness)**

AUTOR: CARLOS EDUARDO PRATES GONÇALVES

ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Data e local da Defesa: Santa Maria, 12 de março de 2014.

A pecuária na Região Sul do Brasil é sustentada, em grande parte, por pastagens nativas, que apresentam grande diversidade de espécies. Esse território faz parte do bioma Pampa. A espécie invasora capim-annoni ameaça essas pastagens. Torna-se necessário o desenvolvimento de métodos alternativos de controle dessa espécie, pois práticas convencionais de controle, embora relativamente eficientes, não tem a preservação da vegetação nativa como princípio. O presente trabalho teve por objetivo estudar o controle de capim-annoni, através do biocontrole por método de isolamento de fungos potencialmente fitopatogênicos, bem como dos efeitos alelopáticos do extrato aquoso de carqueja (*Baccharis trimera*) sobre a germinação do capim-annoni. Os fungos foram isolados a partir de sementes de *E. plana* e incubados por oito dias em câmara de crescimento, a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, em seguida identificados até gênero. Foram identificados cinco gêneros: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. Para testar a interação desses fungos com as sementes de *E. plana*, foi realizada a inoculação dos fungos nas sementes através da técnica de deposição, sendo elas previamente desinfestadas com NaClO 1%, e semeadas em dois tipos de substratos: papel-filtro (experimento *in vitro*) e mistura de substrato e areia (experimento *ex vitro*). Os tratamentos constaram dos cinco fungos identificados, inoculados separadamente nas sementes de *E. plana*. Os gêneros que apresentaram os melhores resultados foram *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp. A carqueja, pertencente à família *Asteraceae*, apresenta vários compostos na sua composição. Dentre os compostos presentes em *B. trimera* pode-se destacar a presença de flavonóides, taninos, ácidos graxos, esteróides, triterpenóides. Para avaliar o efeito alelopático de *B. trimera* em *E. plana* foram aplicadas diferentes doses de extrato bruto aquoso (EBA) de carqueja nas sementes de capim-annoni. As concentrações foram 0; 25; 50; 75 e 100 g.L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram conduzidos *in vitro* e *ex vitro*. Também foi realizada a técnica Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) para identificar os compostos presentes no EBA. Foram encontrados em maior quantidade: ácido cafeico, ácido clorogênico, isoquercitina e ácido elágico. No experimento *in vitro* a inibição da germinação deu-se a partir da concentração 25 g.L<sup>-1</sup>, sendo que a germinação diminuiu conforme a concentração do EBA aumentou. No experimento *ex vitro* a redução da emergência de plântulas foi estatisticamente significativa. Os dados obtidos mostram que os extratos de carqueja interferem no desenvolvimento do capim-annoni para comprimento de folhas e massa seca de parte aérea e raiz.

**Palavras-chave:** Bioma Pampa. Espécie invasora. Controle biológico. Fitoquímicos. Alelopatia.

## ABSTRACT GENERAL

Master Science Dissertation  
Program of Pos-Graduation in Agrobiology  
Federal University of Santa Maria

### ALLELOPATHY OF CARQUEJA (*Baccharis trimera* Less) AND ACTION OF FUNGI IN TOUGH LOVEGRASS (*Eragrostis plana* Ness)

AUTHOR: CARLOS EDUARDO PRATES GONÇALVES

ADVISOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Date and Location of Defense: Santa Maria, 12 de março de 2014.

Livestock in southern Brazil is sustained largely by native pastures, which have large species diversity. This area is part of the Pampa biome. However, invasive species *Eragrostis plana* (tough lovegrass) threat to native grasslands of this biome. Becomes necessary to develop alternative methods of control of this species, since conventional control practices, although fairly efficient, has no as a principle the preservation of native vegetation. The present work aimed to study the control of tough lovegrass through biocontrol method for isolation of potentially pathogenic fungi, as well as the allelopathic effects of aqueous extract of carqueja (*Baccharis trimera*) on the germination of tough lovegrass. The fungi were isolated from seeds of tough lovegrass and incubated for eight days of growth at 25 °C and a photoperiod of 12 hours, then identified to genus chamber. Five genera were identified: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. To test the interaction of these fungi with the seeds of *E. plana*, fungi inoculation was performed in seeds through deposition technique, which were previously sterilized with 1% NaClO, and seeded on two types of substrates: filter paper (*in vitro* experiment) and substrate and sand mixture (*ex vitro* experiment). Treatments consisted of the five identified fungi, inoculated separately in seeds of *E. plana*. The genera showed that the best results were: *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp. The carqueja belongs to the *Asteraceae* family, possessing compounds with many properties. Among the compounds present in *B. trimera* can highlight the presence of flavonoids, tannins, fatty acids, steroids, triterpenoids. To evaluate the allelopathic effect of *B. trimera* on *E. plana* different doses of the crude aqueous extract (CAE) of carqueja were applied on the seeds of tough love-grass. The concentrations where 0; 25; 50; 75 and 100 g.L<sup>-1</sup>. The experiments were conducted *in vitro* and *ex vitro*. The High-performance liquid chromatography (HPLC) was also conducted to identify the compounds present in the CAE. Were found in larger amounts: caffeic acid, chlorogenic acid, ellagic acid and isoquercitina. In the *in vitro* experiment the inhibition of the germination appeared from the concentration of 25 g.L<sup>-1</sup> upwards, causing a diminishing germination with increasingly higher concentrations of the CAE. In the *ex vitro* experiment the reduction of emergence was lower, but was statistically significant. The data show that the carqueja extracts interfere on the development of the tough lovegrass by reducing leaf length and the dry mass of the aerial part and of the roots.

**keywords:** Pampa biome. Invasive species. Biological control. Phytochemicals. Allelopathy.

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

Tabela 1 -	Tratamentos constituintes dos experimentos <i>in vitro</i> e <i>ex vitro</i> .....	33
Tabela 2 -	Fungos associados às sementes de <i>Eragrostis plana</i> , detectados pelos métodos de papel de filtro e plaqueamento em meio de cultura BDA, não submetidos à assepsia com NaClO 1% (S/A) e submetidos à assepsia (C/A) .....	36
Tabela 3 -	Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) de capim-annoni ( <i>Eragrostis plana</i> ) após inoculação com <i>Curvularia</i> sp. (T2), <i>Fusarium</i> sp. (T3), <i>Penicillium</i> sp. (T4), <i>Alternaria</i> sp. (T5), e <i>Aspergillus</i> sp. (T6) e tratamento controle (T1), experimento conduzido em estufa do tipo BOD ( <i>in vitro</i> ). Santa Maria, RS, 2013.....	39
Tabela 4 -	Porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de folhas (CF), número de perfilhos (N°P), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de capim-annoni ( <i>E. plana</i> ) após inoculação com <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., e <i>Aspergillus</i> sp., experimento conduzido em casa de vegetação ( <i>ex vitro</i> ) .....	41

### ARTIGO 2

Tabela 1 -	Compostos fenólicos e flavonóides presentes em <i>Baccharis trimera</i> na concentração de 50 mg.ml <sup>-1</sup> . Análise do extrato de <i>B. Trimer</i> a por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD) .....	55
Tabela 2 -	Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) de capim-annoni ( <i>Eragrostis plana</i> ) com aplicação de extratos aquosos de carqueja ( <i>Baccharis trimera</i> ) em diferentes concentrações .....	56
Tabela 3 -	Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de folhas (CF), número de perfilhos (N°P), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de capim-annoni ( <i>Eragrostis plana</i> ) com aplicação de extratos aquosos de carqueja ( <i>Baccharis trimera</i> ) em diferentes concentrações. Santa Maria, RS, 2013.....	58

## LISTA DE APÊNDICES

### ARTIGO 1

Apêndice A	Resumo da análise da variância para a germinação (G%), experimento <i>in vitro</i> .....	79
Apêndice B	Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de germinação (IVG), experimento <i>in vitro</i> .....	79
Apêndice C	Resumo da análise da variância para a emergência de plântulas (E%), experimento <i>ex vitro</i> .....	79
Apêndice D	Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de emergência (IVE), experimento <i>ex vitro</i> .....	80
Apêndice E	Resumo da análise da variância para o comprimento de folhas (CF), experimento <i>ex vitro</i> .....	80
Apêndice F	Resumo da análise da variância para o número de perfilhos (N°P), experimento <i>ex vitro</i> .....	80
Apêndice G	Resumo da análise da variância para massa fresca da parte aérea (MFPA), experimento <i>ex vitro</i> .....	80
Apêndice H	Resumo da análise da variância para massa fresca da raiz (MFR), experimento <i>ex vitro</i> .....	81
Apêndice I	Resumo da análise da variância para massa seca da parte aérea (MSPA), experimento <i>ex vitro</i> .....	81
Apêndice J	Resumo da análise da variância para massa seca da raiz (MSR), experimento <i>ex vitro</i> .....	81

### ARTIGO 2

Apêndice K	Resumo da análise da variância para a germinação (G%), experimento <i>in vitro</i> .....	82
Apêndice L	Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de germinação (IVG), experimento <i>in vitro</i> .....	82
Apêndice M	Resumo da análise da variância para emergência de plântulas (E%), experimento <i>ex vitro</i> .....	82
Apêndice N	Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de emergência (IVE), experimento <i>ex vitro</i> .....	83
Apêndice O	Resumo da análise da variância para o comprimento de folhas (CF), experimento <i>ex vitro</i> .....	83
Apêndice P	Resumo da análise da variância para o número de perfilhos (N°P), experimento <i>ex vitro</i> .....	83
Apêndice Q	Resumo da análise da variância para massa fresca da parte aérea (MFPA), experimento <i>ex vitro</i> .....	83
Apêndice R	Resumo da análise da variância para massa fresca da raiz (MFR), experimento <i>ex vitro</i> .....	84
Apêndice S	Resumo da análise da variância para massa seca da parte aérea (MSPA), experimento <i>ex vitro</i> .....	84
Apêndice T	Resumo da análise da variância para massa seca da raiz (MSR), experimento <i>ex vitro</i> .....	84

## LISTA DE ANEXOS

Anexo A	<i>Eragrostis plana</i> em campo nativo. ....	85
Anexo B	<i>Baccharis trimera</i> no local de coleta, Rosário do Sul/RS. ....	85
Anexo C	Cariopse de <i>Eragrostis plana</i> . ....	86
Anexo D	(A) Montagem dos experimentos com extratos de <i>B. trimera</i> , conduzidos em laboratório; (B) Parcelas dispostas na câmara BOD; (C) Extratos de <i>B. trimera</i> . ....	86
Anexo E	(A) Montagem do experimento com fungos, conduzido em laboratório; (B) Parcelas dispostas na câmara BOD; (C) Inoculação de sementes de <i>E. plana</i> com diferentes gêneros de fungos. ....	87
Anexo F	Imagens microscópicas dos fungos isolados das sementes de <i>E. plana</i> : (A) <i>Alternaria</i> sp.; (B) <i>Curvularia</i> sp.; (C) <i>Penicillium</i> sp.; (D) <i>Fusarium</i> sp. e (E) <i>Aspergillus</i> sp. ....	88
Anexo G	Experimento ex vitro: fase inicial (A) e fase final (B). ....	88

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
Bioma Pampa .....	15
Biodiversidade vegetal no bioma Pampa: caracterização e ameaça .....	17
Plantas invasoras .....	18
Capim-annoni ( <i>Eragrostis plana</i> Ness) .....	20
Invasão de <i>Eragrostis plana</i> no bioma Pampa .....	21
Controle de capim-annoni .....	22
Controle biológico de plantas invasoras .....	23
Controle biológico de capim-annoni .....	25
Alelopatia .....	25
Potencial alelopático de <i>Baccharis trimera</i> .....	27
<b>ARTIGO 1 - Ação de fungos isolados de sementes de capim-annoni (<i>Eragrostis plana</i> Ness)</b> .....	28
<b>Introdução</b> .....	30
<b>Material e métodos</b> .....	31
Identificação dos fungos naturalmente presentes nas sementes de <i>E. plana</i> .....	31
Inoculação dos fungos e semeadura .....	32
Experimento <i>in vitro</i> .....	34
Experimento <i>ex vitro</i> .....	34
Análise estatística .....	35
Resultados e discussão .....	35
Identificação dos gêneros fúngicos isolados .....	35
Ação dos isolados fúngicos em sementes de <i>E. plana in vitro</i> .....	39
Ação dos isolados fúngicos em sementes de <i>E. plana ex vitro</i> .....	41
<b>Conclusão</b> .....	43
<b>Referências</b> .....	44
<b>ARTIGO 2 - Efeito alelopático de extratos de carqueja (<i>Baccharis trimera</i> Less) sobre capim-annoni (<i>Eragrostis plana</i> Ness)</b> .....	48
<b>Introdução</b> .....	50
<b>Material e métodos</b> .....	51
<b>Resultados e discussão</b> .....	54
<b>Conclusão</b> .....	60
<b>Referências</b> .....	61
<b>DISCUSSÃO</b> .....	64
<b>CONCLUSÃO</b> .....	69
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	70
<b>Apêndices</b> .....	79
<b>Anexos</b> .....	85

## INTRODUÇÃO GERAL

A pecuária na região sul do Brasil é sustentada, em grande parte, por pastagens nativas, que apresentam grande diversidade de espécies (QUADROS et al., 2003). A área ocupada por pastagens naturais no Rio Grande do Sul é de 10,5 milhões de hectares, isso representa 37% do território gaúcho (IBGE, 2006). Esse território faz parte do bioma Pampa, onde são conhecidas cerca de 400 espécies de Poaceae e 150 de Fabaceae (BOLDRINI, 1997), estima-se que esses números podem ser ainda maiores. O rebanho bovino no RS no ano de 2012 foi estimado em 13.676.652 milhões de cabeças e o rebanho ovino em quatro milhões de cabeças (MAPA, 2013).

Mesmo tendo uma importância ambiental e social muito grande, a área de pastagem natural do RS vem sofrendo com práticas de manejo inadequadas, como o superpastejo, uso inadequado do fogo e práticas mecanizadas de cultivo (MEDEIROS et al., 2004a). Além disso, espécies invasoras podem levar à perda de diversidade vegetal, que acarreta na perda de organismos que desempenham importantes funções no ambiente, isso irá se refletir nas atividades humanas desenvolvidas no bioma em questão (BOLDRINI, 2009).

É preocupante quando uma espécie exótica invasora, depois de introduzida em um ambiente, passa a substituir a vegetação nativa. Esse é o caso da expansão alarmante da gramínea exótica *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni), introduzida no Rio Grande do Sul na década de 50 (REIS, 1993). No ano de 2008 estimou-se que 20% (2.200.000 ha) da área de vegetação campestre no RS estivesse comprometida pela invasão de *E. plana* (GISP, 2008).

Trabalhos demonstram que o cultivo do capim-annoni não revelou nenhuma vantagem sobre as pastagens nativas, mesmo as consideradas de baixa qualidade, revelando-se inferior em qualidade bromatológica e em produção animal (REIS; OLIVEIRA, 1972; FOCHT, 2008). A grande produção de sementes somada à elevada qualidade fisiológica, ao fácil estabelecimento, à elevada capacidade de colonização dos campos naturais e rede viária, à atividade alelopática e à tendência de exclusão da comunidade vegetal nativa (MEDEIROS; FOCHT, 2007), tornaram o capim-annoni, a invasora de pastagens mais agressiva no Rio Grande do Sul (NACHTIGAL, 2008). Esse processo invasivo das pastagens sulinas é responsável

pela drástica redução na frequência e riqueza de muitas espécies nativas, causando homogeneização na vegetação do bioma Pampa (MEDEIROS et al., 2004b), isso resulta em perdas econômicas onde a criação animal é feita em pastagens nativas (REIS, 1993).

Os métodos convencionais, de controle de *E. plana*, tem como base o controle químico e cultural em áreas invadidas (REIS; COELHO, 2000). Algumas dessas práticas desenvolvidas são relativamente eficientes, porém não tem como princípio a preservação da vegetação nativa. São limitadas, portanto, do ponto de vista da conservação da biodiversidade (MEDEIROS et al., 2009).

O controle biológico de espécies invasoras consiste na utilização de inimigos naturais específicos, na planta alvo. Esse método pode viabilizar o controle de *Eragrostis plana* sem prejudicar a biodiversidade do bioma Pampa (NACHTIGAL, 2009).

A utilização de fungos como agentes de controle biológico, tem se mostrado uma técnica promissora. Pois, os fungos apresentam uma gama de hospedeiros muito restritos, infectando uma única espécie ou mesmo um biótipo de gramínea. Assim, patógenos fúngicos apresentam potencial para o controle de *E. plana* (NACHTIGAL, 2008).

O efeito alelopático de uma planta sobre a outra também se mostra como uma alternativa para o controle de invasoras. Estudos feitos em laboratório mostraram que a carqueja (*Baccharis trimera* L.) inibe a divisão celular no modelo vegetal *in vivo* de *Allium cepa* (FACHINETTO; TEDESCO, 2009).

Dessa forma, torna-se importante agregar informações para o desenvolvimento de novas formas de controle da espécie invasora *E. plana*, bem como investigar a possibilidade de utilização princípios ativos naturalmente presentes em *B. trimera*, para o controle de capim-annoni.

Dentro desse contexto, o presente trabalho teve por objetivo estudar o controle de capim-annoni, através do biocontrole por método de isolamento de fungos potencialmente fitopatogênicos, bem como dos efeitos alelopáticos do extrato aquoso de carqueja sobre a germinação e desenvolvimento inicial do capim-annoni.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Bioma Pampa

O Brasil, segundo a atual classificação da vegetação, possui seis biomas terrestres (Figura 1): Amazônia, Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado, Pantanal e Pampa (IBGE, 2004). A espécie invasora capim-annoni, foco do presente estudo, é uma ameaça ao bioma Pampa e à sua flora.

No Brasil o bioma Pampa, está presente apenas no estado do Rio Grande do Sul, nele ocupa uma área de aproximadamente 176.496 Km<sup>2</sup>, o quê representa 63% do território gaúcho e 2% do território nacional. Além disso, também está presente nos territórios da Argentina e Uruguai (CARVALHO et al., 2006).



**Figura 1** – Mapa dos principais biomas brasileiros.

**Fonte:** IBGE, 2004.

Nessa área há uma grande diversidade de plantas herbáceas com hábito de crescimento rasteiro, com destaque para gramíneas, compostas, leguminosas e ciperáceas. Plantas arbustivas e árvores de pequeno porte também são comuns

(OVERBECK et al., 2009).

No bioma Pampa, o clima é classificado como mesotérmico brando superúmido (NIMER, 1977), com invernos frios. Devido a isso, no inverno, temperaturas próximas a 0 °C são comuns. No verão, a variação das médias mensais de temperatura fica de 22 °C a mais de 24 °C entre dezembro e março, sendo também comum que as temperaturas ultrapassem os 30 °C (SUERTEGARAY, 1998). A combinação de clima frio durante o inverno e seco durante o verão favorece o surgimento de vegetação campestre. Nessa região, o vento e a luminosidade tem grande influência na paisagem, pois modificam o relevo e a vegetação através de processos erosivos.

Uma das principais atividades econômicas desenvolvidas na região é a produção animal em pastagens naturais, pois elas cobrem a maior parte do território de abrangência do bioma (Figura 2) (CARVALHO et al., 2006; NABINGER et al., 2000). A pecuária desenvolvida na região pode ser classificada como ecologicamente correta, pois, em grande parte, é desenvolvida em pastagens naturais (Figura 3), o que promove a conservação da vegetação.



**Figura 2** – Distribuição do bioma Pampa.

**Fonte:** SANTINO, 2004.



**Figura 3** – Campos do bioma Pampa. Rosário do Sul, RS.

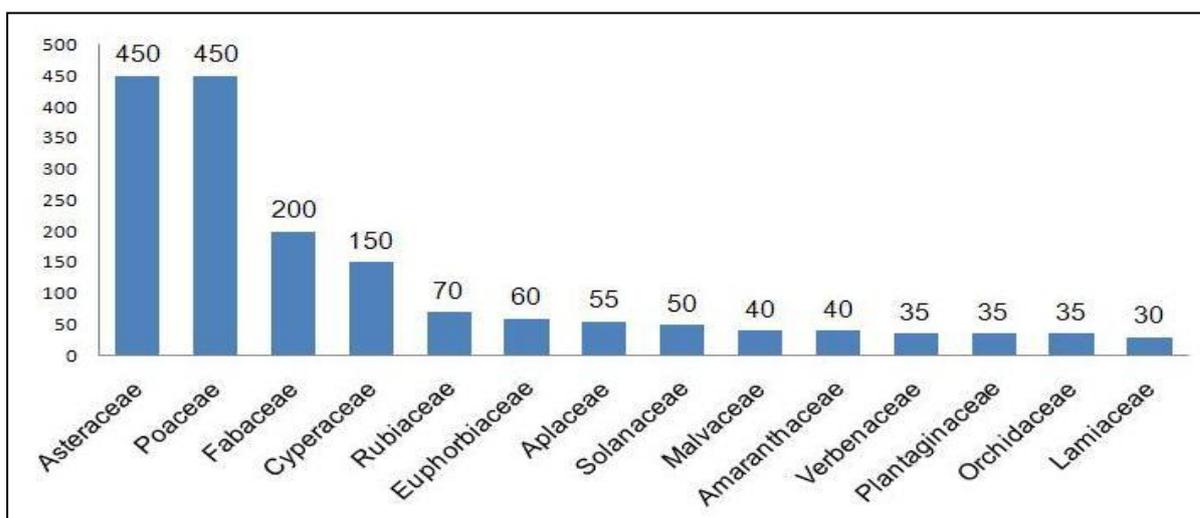
**Fonte:** o próprio autor.

### **Biodiversidade vegetal no bioma Pampa: caracterização e ameaça.**

Biodiversidade é a variabilidade de organismos vivos de todas as origens, compreendendo, dentre outros, os ecossistemas terrestres, marinhos e outros ecossistemas aquáticos e os complexos ecológicos de que fazem parte; compreendendo ainda a diversidade dentro de espécies, entre espécies e de ecossistemas (CDB, 1992).

A vegetação no Rio Grande do Sul é predominantemente campestre (IBGE,1996). Esses campos são compostos por uma vegetação pioneira, que recobre os solos há milhares de anos (QUADROS et al., 2003). Os campos do bioma Pampa constituem uma das regiões do mundo mais ricas em diversidade de gramíneas (BURKART, 1975).

BOLDRINI (1997) estimou em 3 mil o número de espécies de plantas campestres no bioma Pampa. As famílias vegetais mais presentes nesse bioma são, em ordem decrescente: Asteraceae, Poaceae, Leguminosae e Cyperaceae (Figura 4) (OVERBECK et al., 2009). Também há a ocorrência de outras famílias como: Rubiaceae, Apiaceae e Verbenaceae (CARVALHO et al., 2006).



**Figura 4** – Famílias de espécies vegetais com o maior número de espécies presentes nos campos naturais do Rio Grande do Sul.

**Fonte:** BOLDRINI, 2009.

A perda de biodiversidade em um bioma significa a perda de organismos, que desempenham determinadas funções no ambiente, isso refletirá diretamente em atividades desenvolvidas nesse ambiente (BOLDRINI, 2009). Segundo ZILLER (2001): “as espécies invasoras são a segunda maior ameaça mundial à biodiversidade, só perdem para a destruição de habitats”. Desse modo, a conservação de um bioma não é justificada apenas pelo número de espécies que o compõem, mas também pela importância desse bioma para as relações ecológicas e atividades humanas (BOLDRINI, 2009).

Mesmo tendo uma importância ambiental e social muito grande, a área de pastagem natural do RS vem sofrendo com práticas de manejo inadequadas como o superpastejo, uso inadequado do fogo e práticas mecanizadas de cultivo (MEDEIROS et al., 2004a). Além desses fatores, as pastagens do bioma Pampa estão sendo ameaçadas pela invasão preocupante da gramínea exótica *Eragrostis plana* (REIS, 1993; FOTCH, 2008), essa é a espécie de planta invasora mais agressiva já surgida no Rio Grande do sul (NACHTIGAL, 2008).

### Plantas invasoras

Espécies exóticas invasoras são consideradas uma das principais ameaças à biodiversidade vegetal. Atualmente, com as facilidades proporcionadas por

diferentes meios de locomoção, e conseqüente disseminação de espécies, essa ameaça se acentua (MORO et al., 2012; MATOS & PIVELLO, 2009). Além de provocarem danos ambientais, através da perda de biodiversidade, as espécies exóticas invasoras também causam prejuízo econômico em áreas onde se desenvolve pecuária ou cultivos agrícolas.

Há que se ressaltar a importância da padronização de definições claras para termos associados a bioinvasão. Dessa forma, segundo MORO et al. (2012) os conceitos mais aceitos pela literatura internacional são os propostos por RICHARDSON et al. (2000) e PYŠEK et al. (2004). Para esses autores as definições são as seguintes:

- Espécie nativa: espécie que evoluiu em um determinado local, e lá se desenvolve sem interferência humana.
- Espécie exótica: espécie introduzida (intencional ou acidentalmente) pelo homem em um ambiente diferente do seu local de origem.
- Espécie exótica casual: introduzida pelo homem e necessita ser cultivada para persistir no ambiente.
- Espécie naturalizada: introduzida em um ambiente diferente do seu local de origem, não necessita de intervenção humana para persistir no ambiente. Entretanto, não se dispersa para longe do local de introdução e convive com as espécies nativas, sem causar problemas ao ecossistema.
- Espécie invasora: espécie exótica com grande capacidade de dispersão no ambiente, apresentam altas taxas de reprodução e crescimento. Algumas são competidoras agressivas com espécies nativas.
- Espécie daninha: espécies nativas ou exóticas, que se tornam indesejáveis em um local.

O processo de invasão de um ecossistema ocorre quando uma espécie exótica é introduzida e nele passa a se dispersar e alterá-lo. Esse processo é prejudicial às espécies nativas, pois as exóticas acabam tirando espaço das nativas e passam a competir por espaço, nutrientes e luz.

No Brasil, de acordo com a Convenção da Diversidade Biológica (CDB), aprovada pelo Decreto Legislativo nº 02 de 03/02/1994 e promulgada pelo Decreto

nº 2.519 de 16/03/1998, são consideradas espécies exóticas invasoras aquelas cuja introdução ou dispersão ameaçam ecossistemas, ambientes ou outras espécies (CTNBio, 2013; SEMA-RSa, 2013).

No ano de 2013, a secretaria do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul lançou a Portaria que reconhece a lista das 127 espécies exóticas invasoras no estado. Dentre as espécies citadas na portaria está o capim-annoni (SEMA-RSb, 2013).

### **Capim-annoni (*Eragrostis plana* Ness)**

*Eragrostis plana* Nees (Figura 5), conhecido popularmente por capim-annoni, é uma gramínea (Poaceaea) perene, de origem africana. Pertence a subfamília das Eragrostoideas. Possui hábito cespitoso, com colmos eretos e grupados, formando densas touceiras que atingem até 100 cm de altura na época de florescimento (REIS; OLIVEIRA, 1978). A espécie tem folhas estreitas e fibrosas. A inflorescência é uma panícula ereta e aberta, com cerca de 50 cm de comprimento, cujas espiguetas pluriflorais produzem grande quantidade de antécios férteis. As cariópses de capim-annoni são muito pequenas e leves, com 1 a 1,5 mm de comprimento e 0,4 a 0,7 mm de largura (Figura 6), devido a isso se propagam facilmente. O florescimento ocorre durante o verão até fins de março. O sistema radicular é fasciculado, grosso, profundo e muito desenvolvido (REIS, 1993).



**Figura 5** – Capim-annoni.  
**Fonte:** o próprio autor.



**Figura 6** – Cariopse de *Eragrostis plana*.  
**Fonte:** o próprio autor.

Além disso, o capim-annoni apresenta potencial alelopático sobre outras espécies (FERREIRA et al., 2006). Essa espécie ocorre mais frequentemente em solos secos, porém também é encontrado em solos mal drenados ou encharcados. Também é uma gramínea bem adaptada a solos ácidos e compactados, que se prolifera em áreas que sofreram distúrbio, como campos abandonados após o cultivo. Suas populações tendem a aumentar em locais mal manejados (FOCHT, 2008).

### **Invasão de *Eragrostis plana* no bioma Pampa**

O capim-annoni foi detectado pela primeira vez no Brasil em 1957, na Estação Experimental de Tupanciretã da Secretaria da Agricultura do RS. Acredita-se que chegou a esse local como impureza em lotes de sementes de capim-de-rhodes (*Chloris gayana* Kunth) importadas da África do Sul (MEDEIROS et al., 2009). Em 1971 a espécie foi visualizada por Ernesto José Annoni, em sua propriedade, no município de Sarandi, RS, hoje Pontão. Nesse local foram produzidas e comercializadas sementes de *Eragrostis plana* com o nome comum de capim-annoni-2 (MEDEIROS et al., 2009).

Inicialmente foi considerada uma forrageira revolucionária, por apresentar grande produção de folhagem, mesmo sob condições adversas, como elevada lotação animal, geadas e indisponibilidade de água (FOCHT, 2008). Porém, depois de realizadas análises agronômicas e bromatológicas constatou-se a baixa palatabilidade aos animais, baixo valor nutritivo e características de planta invasora (MEDEIROS et al., 2009).

A expansão de *E. plana* é facilitada pelo pastejo seletivo, pois os animais preferem ingerir espécies nativas, de maior valor nutritivo e mais fáceis de serem colhidas, em detrimento do capim-annoni (MEDEIROS et al. 2009). Por apresentar elevados teores de fibras em relação às pastagens naturais, os animais tendem a consumi-lo em último caso, quando não há outra opção de pastejo, necessitando de muita força e movimentação lateral para isso (REIS; OLIVEIRA, 1978).

As touceiras cespitosas, o sistema radicular fasciculado e desenvolvido de *E. plana* tornam a planta altamente competitiva em relação à vegetação natural de hábito prostrado dos campos (REIS; OLIVEIRA, 1978). Suas características de

grande prolificidade, rusticidade e adaptação a solos pobres permitiram sua multiplicação e comportamento invasivo (BOLDRINI et al., 2005). Outro aspecto que torna o capim-annoni uma invasora muito agressiva é o seu efeito alelopático sobre outras plantas (FERREIRA et al., 2006).

A produção de sementes pode chegar a 300 mil em uma única planta de *E. plana* (REIS, 1993). Além disso, a longa duração da dormência das sementes no solo proporciona reinfestações contínuas (GOULART et al., 2009).

MEDEIROS et al. (2004) calculou a área invadida, no ano de 2004, em um milhão de hectares. A presença da invasora também foi verificada nos estados de Minas Gerais, Bahia e Paraná (INSTITUTO HÓRUS, 2004). A portaria MA nº 205, de 13 de março de 1979 do Ministério da Agricultura proibiu a comercialização, transporte, importação e exportação de suas sementes e mudas no Brasil (REIS 1993).

### **Controle de capim-annoni**

O controle de capim-annoni é bastante complicado, e sempre esbarra na dificuldade de preservar a diversidade de espécies naturais (MEDEIROS et al., 2009). A rotação de culturas anuais seguida de implantação de forrageiras cultivadas é um método limitado, pois o banco de sementes de *E. plana* possibilita reinfestação, além de apresentar a eliminação das pastagens naturais (GOULART et al., 2009).

O controle químico é uma forma eficiente de eliminar o capim-annoni (MEDEIROS; FOCHT, 2007), porém, assim como a rotação de culturas, também requer a eliminação da vegetação campestre nativa (GOULART et al., 2009). Dessa forma, o controle químico pode ser viável em áreas pequenas, que não sejam destinadas a criação de animais ou que estejam drasticamente infestadas.

Devido à extrema dureza do capim-annoni a roçagem mecânica é difícil, principalmente depois de 60 dias de crescimento na primavera-verão (REIS; OLIVEIRA, 1978).

## Controle biológico de plantas invasoras

Num conceito amplo, o controle biológico pode ser definido como a ação dos fatores bióticos do ecossistema regulando a instalação e crescimento de populações de plantas daninhas. Uma definição mais específica é a utilização de organismos vivos para matar, controlar o crescimento, expansão populacional e/ou reduzir a capacidade competitiva de uma ou mais espécies de plantas daninhas (PITELLI et al., 2004).

O marco histórico para o controle biológico de plantas daninhas é considerado como sendo o ano de 1902, pois foi a partir desse ano, nos Estados Unidos, que o Hawaii Department of Agriculture introduziu várias espécies de insetos originários do México, visando ao controle da planta herbácea *Lantana camara* (PERKINS; SWEZEY, 1924 e WATERHOUSE; NORRIS, 1987 apud BARRETO, 2009). Também pode-se citar como marco do controle biológico de plantas a utilização, na Austrália, da mariposa *Cactoblastis cactorum*, para controlar a cactácea *Opuntia stricta*, sendo que a introdução da mariposa deu-se no ano de 1925 e no ano de 1933 já havia ocorrido o controle completo da cactácea (MCFADYEN; GRIFFITHS, 1998 apud BARRETO, 2009).

Em um dos exemplos mais importantes de aplicação de controle biológico de plantas invasoras por meio de fungos fitopatogênicos, houve o controle da invasora de pastagens e lavouras de trigo *Chondrilla juncea* através da introdução do fungo *Puccinia chondrillina*. Isso foi possível, pois os fitopatógenos apresentam uma gama de hospedeiros muito restrita, por isso geralmente infectam uma única espécie (NACHTIGAL, 2008). Na Austrália, a planta invasora foi controlada com sucesso, entretanto, em outros lugares onde foi testado, o controle foi apenas parcial (TESSMANN, 2011).

Também já foram desenvolvidos herbicidas feitos a partir de fungos (chamados de bioherbicidas). O produto comercial DeVine® tem em sua formulação clamidósporos do fungo *Phytophthora palmivora*, ele foi registrado em 1981 para o controle de *Morrenia odorata*, uma planta invasora de pomares de citrus nos EUA (TESSMANN, 2011). Outro produto comercializado é o bioherbicida Collego®, pó molhável feito com propágulos de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *Aeschynomene*, utilizado no controle de *Aeschynomene virginica*, invasora de

lavouras de arroz, também nos EUA (CHARUDATTAN, 1991).

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* também foi usado na formulação de um bioherbicida para o controle de *Malva pusilla*, em várias culturas agrícolas, o nome comercial utilizado foi Biomal®, porém ainda não foi disponibilizado comercialmente, apesar de já estar registrado (TESSMANN, 2011).

Segundo MELLO et al. (2003), existe uma vasta lista de fungos fitopatogênicos com potencial de controlar tiririca (*Cyperus rotundus* L.). Uma das possibilidades seria a utilização de toxinas oriundas do metabolismo secundário de alguns fungos. O controle da planta daninha *Striga hermonthica* através de *Fusarium* spp. foi testado em um trabalho realizado por ZONNO e VURRO (1999), os autores constataram que algumas toxinas produzidas pelo fungo são capazes de inibir completamente a germinação de sementes da planta.

Conforme apresentado acima, existem vários exemplos de utilização de fungos para controlar plantas invasoras. Todavia, devido a características biológicas dos fungos e das espécies-alvo, esse método fica restrito a lugares específicos, pois variações ambientais têm muita influência na eficácia do bioherbicida.

Segundo BARRETO (2009), a necessidade de longos períodos de molhamento, baixa fecundidade, baixa virulência e resistência do mercado a novos produtos são os principais entraves ao desenvolvimento de bioherbicidas. Dessa forma, a pesquisa científica pode encontrar soluções tecnológicas para algumas limitações. Porém, da mesma forma que a variação biológica é uma aliada na busca por um patógeno específico, também é uma limitação, pois dificulta a aplicação de bioherbicidas em grandes áreas.

### **Controle biológico de capim-annoni**

Os métodos de controle de capim-annoni restringem-se ao manejo químico e cultural em áreas invadidas (REIS; COELHO, 2000). Do ponto de vista da conservação da biodiversidade, esses métodos não são aplicáveis, pois além de eliminarem o capim-annoni, também eliminam a vegetação nativa dos campos (MEDEIROS et al., 2009).

A estratégia de controle biológico é baseada na pesquisa de patógenos naturais à espécie alvo e posterior aplicação no ambiente (PITELLI et al., 2004).

Ainda que *Eragrostis plana* seja uma espécie exótica, a distribuição por várias regiões diferentes do RS viabiliza a busca por inimigos naturais, dada a permanência da espécie por período superior a 50 anos na região (NACHTIGAL, 2008).

O método de controle biológico de plantas invasoras baseado na busca por inimigos naturais tem sido alvo de pesquisas, e pode auxiliar no controle de *E. plana* em sistemas produtivos, sem causar danos à biodiversidade campestre (NACHTIGAL, 2009).

## **Alelopatia**

Segundo RICE (1984), alelopatia pode ser definida como:

Qualquer efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico, que uma planta (incluindo microrganismos) exerce sobre a outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente.

Esse efeito é possível graças a produção de metabólitos primários e secundários, produzidos e liberados por espécies vegetais. Os metabólitos primários são produzidos pelo processo fotossintético, e são essenciais à planta produtora, já os metabólitos secundários (também denominados compostos secundários), embora não sejam essenciais ao metabolismo da planta produtora, têm importante papel na competição com outras espécies. Ademais, a atividade alelopática desses compostos aleloquímicos é um mecanismo de defesa da planta contra patógenos, pragas e herbívoros (SCHNEIDER; CRUZ-SILVA, 2012). Os óleos essenciais (ou essências naturais), resinas, alcalóides, flavonóides, taninos, princípios amargos, entre outros são exemplos de compostos secundários (DI STASI, 1996).

O que diferencia alelopatia da competição entre plantas é que na competição entre plantas há a restrição de um fator de crescimento essencial à planta (luz, água, nutrientes), enquanto que na alelopatia há adição de um componente que causará interferência direta nos processos fisiológicos da planta (SOUZA et al., 2003). Ou seja, a competição entre plantas pode dar-se, por exemplo, por sombreamento de uma planta sobre outra, indisponibilizando a luz solar e impossibilitando a fotossíntese. Já na alelopatia, há a liberação de algum composto por determinada

planta, que vai interferir na germinação ou crescimento de outra, podendo ser da mesma espécie ou não.

Na prática todas plantas produzem aleloquímicos, mas eles variam entre diferentes espécies conforme a quantidade e qualidade. Assim, em áreas onde se utiliza a prática agrícola de rotação de culturas, onde há rodízio de espécies cultivadas, existem registros de influência alelopática (FERREIRA; AQUILA, 2000; TOKURA e NÓBREGA, 2008). Por exemplo, NARWAL (1999) relatou que restos de palhada de arroz podem inibir o crescimento de aveia, trigo e lentilha. Outra espécie que apresenta forte efeito alelopático sobre outras é o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), pois ele inibe a germinação e crescimento de várias outras espécies (GONZALEZ et al., 1998; OLIBONE et al., 2006).

Todavia, apesar de causar danos em sistemas agrícolas onde é empregada a rotação de culturas, a atividade de aleloquímicos tem sido estudada como alternativa ao uso de herbicidas e inseticidas (CASTRO; FERREIRA, 2001). Segundo SOUZA FILHO e ALVES (2002), compostos químicos com atividade alelopática podem ser utilizados na formulação de herbicidas. Uma das vantagens de se utilizar herbicidas desenvolvidos através de compostos naturais é a utilização de novos mecanismos de ação na espécie alvo (MACIAS et al, 2006), estratégia importante para superar a resistência de algumas espécies a herbicidas convencionais.

Uma espécie com possibilidade de ser utilizada como fornecedora de aleloquímicos, que poderiam ser usados como herbicidas, é a carqueja (*Baccharis trimera* Less. DC.), pois na sua composição há vários compostos conhecidos por serem alelopáticos (BONA et al., 2002).

### **Potencial alelopático de *Baccharis trimera***

A carqueja (*Baccharis trimera* Less. DC.), é uma espécie nativa da América do Sul. Ela cresce como um arbusto ereto e ramificado, com até 80 cm de altura. Suas folhas verdes claras são bastante reduzidas, com a presença de ramos sem folhas. As flores masculinas e femininas são amarelas e organizadas em capítulos terminais (HEIDEN et al., 2009).

Registros demonstram que *B. trimera* possui potencial efeito alelopático sobre plantas invasoras, pois é rica em metabólitos secundários (SILVA; CARVALHO,

2009). A espécie possui várias substâncias fitoquímicas como flavonóides, taninos, ácidos graxos, esteróides, cumarinas, aminogrupos e traços de glicosídeos saponínicos (BONA et al., 2002).

FRITZ et al. (2007) relatou o efeito alelopático de *B. Trimeria* em alface (*Lactuca sativa*). Em um outro estudo realizado por CASTRO e FERREIRA (2001), foi constatada a inibição da germinação de tomate (*Solanum lycopersicum*). Também há relatos de efeito alelopático de carqueja em picão-preto (*Bidens pilosa*), sendo que nesse caso houve redução na velocidade de germinação (DEPINÉ, 2003). A carqueja também é inibidora da germinação da gramínea capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.) (SOUZA et al., 2002). Esses estudos demonstram o potencial de utilização de *B. trimeria* no controle de plantas indesejáveis.

FERREIRA e AQUILA (2000) recomendam que, para testar o potencial alelopático de uma espécie, se utilize o critério morfológico de germinação, ou seja, emergência da radícula, como primeira abordagem, após isso se deve realizar testes de germinação em solo ou areia.

## ARTIGO 1

### Ação de fungos isolados de sementes de capim-annoni (*Eragrostis plana* Ness)

#### RESUMO

O bioma Pampa apresenta grande diversidade vegetal, entretanto a espécie invasora *Eragrostis plana* (capim-annoni) ameaça às pastagens nativas desse bioma. Torna-se necessário o desenvolvimento de métodos alternativos de controle dessa espécie, pois práticas convencionais de controle, embora relativamente eficientes, não tem como princípio a preservação da vegetação nativa. Este estudo teve por objetivo agregar informações para o controle biológico da espécie invasora *E. plana*, através da seleção de fungos em sementes de capim-annoni potencialmente fitopatogênicos a essa espécie. Os fungos foram isolados pelos métodos papel-filtro e meio BDA, a partir de sementes de *E. plana* e foram incubados por oito dias em câmara de crescimento, a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, e em seguida identificados até gênero. Foram identificados cinco gêneros: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. Para testar a interação desses fungos com as sementes de *E. plana*, foi realizada a inoculação dos fungos nas sementes através da técnica de deposição, sendo elas previamente desinfestadas com NaClO 1%, e semeadas em dois tipos de substratos: papel-filtro (experimento *in vitro*) e mistura de substrato e areia (experimento *ex vitro*). Os tratamentos constaram dos cinco fungos identificados, inoculados separadamente nas sementes de *E. plana*. O delineamento experimental adotado foi completamente casualizado com seis tratamentos para os testes *in vitro* e *ex vitro* e oito repetições por tratamento para o experimento *in vitro*, e cinco para o *ex vitro*. Os gêneros que apresentaram os melhores resultados foram *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp.

**Palavras-chave:** Controle biológico. Bioma Pampa. Espécie invasora.

## Action of fungi isolated from the seeds of tough lovegrass (*Eragrostis plana* Ness)

### ABSTRACT

The Pampa biome has great plant diversity, however invasive species *Eragrostis plana* (tough lovegrass) threat to native grasslands of this biome. Becomes necessary to develop alternative methods of control of this species, since conventional control practices, although fairly efficient, has no as a principle the preservation of native vegetation. This study aimed to add information for the biological control of invasive species *E. plana*, through the selection of fungi potentially pathogenic to this species. Fungi were isolated by methods blotter-teste and PDA, from seeds of *E. plana* and incubated for eight days growth at 25 °C and 12 hours photoperiod chamber, and then identified to genus. Five genera were identified: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. To test the interaction of these fungi with the seeds of *E. plana*, fungi inoculation was performed in seeds through deposition technique, which were previously sterilized with 1% NaClO, and seeded on two types of substrates: filter paper (*in vitro* experiment) and substrate and sand mixture (*ex vitro* experiment). Treatments consisted of the five identified fungi, inoculated separately in seeds of *E. plana*. The experimental design was completely randomized with six treatments for test *in vitro* and *ex vitro* and eight replicates per treatment for the *in vitro* experiment, and five for the *ex vitro*. The genera showed that the best results were: *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp.

**Keywords:** Biological control. Pampa Biome. Invasive especie.

## INTRODUÇÃO

A pecuária no Rio Grande do Sul é sustentada em grande parte pela produção em áreas de pastagens nativas, que apresentam grande diversidade de espécies (QUADROS, 2003). Parte desse estado faz parte do bioma Pampa, onde são conhecidas cerca de 400 espécies de Poaceae e 150 de Fabaceae (BOLDRINI, 1997), entre outras.

Todavia, mesmo tendo uma importância ambiental e social muito grande, a área de pastagem natural (nativa) do RS vem sofrendo com práticas de manejo inadequadas, como o superpastejo, uso inadequado do fogo e práticas mecanizadas de cultivo (MEDEIROS et al., 2004a). A perda de diversidade de espécies em um bioma significa a perda de organismos, que desempenham determinadas funções no ambiente, isso irá se refletir em atividades desenvolvidas nesse ambiente (BOLDRINI, 2009).

Além disso, é preocupante quando uma espécie exótica, depois de introduzida em um ambiente, passa a substituir a vegetação nativa. Esse é o caso da expansão alarmante da gramínea exótica *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni), introduzida no Rio Grande do Sul na década de 50 (REIS, 1993).

Pesquisas revelam que o capim-annoni possui baixa qualidade bromatológica, sendo prejudicial para a produção animal (REIS, 1993). A grande produção de sementes somada à elevada qualidade fisiológica, ao fácil estabelecimento, à elevada capacidade de colonização dos campos naturais e rede viária, à atividade alelopática e à tendência de exclusão da comunidade vegetal nativa (MEDEIROS; FOCHT, 2007), tornaram o capim-annoni, a invasora de pastagens mais agressiva já surgida no Rio Grande do Sul (NACHTIGAL, 2008). Esse processo invasivo das pastagens sulinas é responsável pela drástica redução na frequência e riqueza de muitas espécies nativas, causando homogeneização na vegetação do bioma Pampa (MEDEIROS et al., 2004b), isso resulta em perdas econômicas e sociais, onde a criação animal é feita em pastagens nativas (REIS, 1993).

Os métodos convencionais, de controle de *E. plana*, tem como base o controle químico e cultural em áreas invadidas (REIS; COELHO, 2000). Algumas dessas práticas desenvolvidas são relativamente eficientes, porém não tem como princípio a preservação da vegetação nativa. Desse modo, são limitadas do ponto de

vista da conservação da biodiversidade (MEDEIROS et al., 2009).

Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos alternativos de controle da espécie exótica *E. plana*. O controle biológico com a utilização de inimigos naturais específicos pode ser uma alternativa ao controle convencional. Dessa forma, esse método de ação específica, pode viabilizar o controle de *E. plana* sem prejudicar a biodiversidade do bioma Pampa (NACHTIGAL, 2009).

A utilização de fungos como agentes de controle biológico, tem se mostrado uma técnica promissora. Os fungos apresentam uma gama de hospedeiros restrita, infectando uma única espécie ou mesmo um biótipo de gramínea. Assim, patógenos fúngicos parecem ser os mais indicados para o controle de *E. plana* (NACHTIGAL, 2008). A identificação desses fungos pode ser realizada por meio de testes de sanidade, sendo que os métodos recomendados para detecção dos mesmos são: método do papel de filtro (blotter-test) e método do plaqueamento em meio ágar sólido, como o meio de cultura BDA - extrato de batata, dextrose e ágar (VECHIATO, 2010).

Este estudo teve por objetivo iniciar os estudos para o controle biológico da espécie invasora *E. plana*, através da seleção de fungos em sementes de capim-annoni potencialmente fitopatogênicos a essa espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Interações Planta-Microrganismos, e estufa de crescimento do Departamento de Biologia no Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, em Santa Maria/RS.

### **Identificação dos fungos naturalmente presentes nas sementes de capim-annoni**

Os fungos foram isolados a partir de sementes de capim-annoni. Sendo que, as sementes, colhidas no município de Bagé – RS, foram fornecidas pela Embrapa Pecuária Sul, Bagé -RS.

Os métodos utilizados para o isolamento dos fungos foram: método do papel de filtro (Blotter-Test), e método do plaqueamento em meio ágar sólido, com o meio

de cultura BDA (extrato de batata, dextrose e ágar) (VECHIATO, 2010). Cada um desses métodos foi um tratamento, sendo que também foram realizados outros dois, método do papel filtro com a assepsia e método BDA com assepsia.

Nos tratamentos com papel de filtro, com e sem assepsia das sementes, utilizaram-se caixas plásticas do tipo gerbox (11 x 11 cm) com três folhas de papel esterilizadas em autoclave (120 °C/40 minutos) e umedecidas com água destilada e esterilizada. No método de plaqueamento em meio ágar sólido, com e sem assepsia das sementes, utilizou-se meio de cultura BDA (200g de batata, 20g de dextrose, 15g de ágar e 1000 mL de água destilada). Ao todo foram utilizados dois métodos de isolamento, e realizados quatro tratamentos, sendo eles: papel de filtro sem assepsia das sementes (S/A); papel de filtro com assepsia das sementes (C/A); meio BDA sem assepsia e meio BDA com assepsia das sementes.

Nos tratamentos com presença de assepsia, as sementes foram imersas em solução de NaClO 1% por 10 minutos e depois lavadas três vezes em água destilada e autoclavada (HENNING, 2005).

As sementes foram incubadas durante oito dias a 25 °C, em um regime alternado de luz (12 horas de luz e 12 horas de escuro). Decorrido o período de incubação de oito dias, procedeu-se a avaliação. Nos tratamentos pelo método do papel de filtro, a incidência de fungos foi verificada através da porcentagem de sementes contaminadas em relação ao número de sementes avaliadas. Nos tratamentos pelo método de plaqueamento em meio de cultura BDA, a incidência foi analisada pelo exame macroscópico e contagem do número de colônias formadas pelos fungos.

Tanto no método de papel de filtro como no método BDA realizou-se a transferência dos fungos presentes nas sementes para meio de cultura BDA. Após oito dias de incubação a identificação até gênero foi feita através da confecção de lâminas e observação das estruturas fúngicas em microscópio óptico comparando com as características descritas em literatura específica (BARNETT; HUNTER, 2006). Os quatro métodos constituíram os tratamentos, que foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições por tratamento. Cada repetição foi constituída por 25 sementes, totalizando 200 por tratamento. Foram calculadas as médias de incidência de fungos nas sementes em porcentagem.

### Inoculação dos fungos nas sementes e semeadura

Após a identificação e isolamento dos fungos presentes nas sementes de *E. plana* analisadas foi efetuada a inoculação em sementes selecionadas sadias dessa espécie. Para isso se utilizou o método de disposição das sementes sobre as colônias de fungos (BELLETINI et al., 2005; REGO, 2008), de modo que elas ficaram em contato direto com o gênero que se queria inocular. Como forma de assegurar a pureza dos isolados fúngicos, foi realizada a repicagem com apenas uma unidade formadora de colônia. Visando isso, pequenos fragmentos de hifas foram retirados de placas com meio ágar-água e transferidos para meio BDA, onde os fungos desenvolveram-se durante dez dias (FERNANDES, 1993) com temperatura controlada de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

Depois desse período de incubação procedeu-se a inoculação nas sementes de *E. plana*. Para não haver contaminação por outros microrganismos foi realizada a desinfestação prévia das sementes, esse procedimento consistiu em imergi-las em hipoclorito de sódio (NaClO) 1% durante 1 minuto e depois em álcool 70% durante 1 minuto, depois as sementes foram lavadas duas vezes em água destilada e esterilizada e secas em papel de filtro esterilizado. Após esse processo de desinfestação, as sementes foram depositadas sobre as colônias de fungos que haviam sido anteriormente isolados, ali elas ficaram durante 24 horas sob temperatura ambiente, em local apropriado para que não houvesse contaminação. As sementes usadas como controle foram depositadas em meio BDA puro, livre de qualquer tipo de contaminação. Foram usados como tratamentos os cinco gêneros de fungos isolados. Cada gênero fúngico foi um tratamento, a descrição de cada um deles pode ser conferida na Tabela 1.

Tabela 1 – Gêneros de fungos inoculados nas sementes de capim-annoni, experimentos *in vitro* e *ex vitro*.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos
T1	Testemunha (meio BDA puro)
T2	<i>Curvularia</i> sp.
T3	<i>Fusarium</i> sp.
T4	<i>Penicillium</i> sp.
T5	<i>Alternaria</i> sp.
T6	<i>Aspergillus</i> sp.

Após a inoculação, foi realizada a semeadura em caixas plásticas gerbox (teste *in vitro*) e recipientes plásticos (teste *ex vitro*). Para isso, foram utilizados dois substratos diferentes: papel de filtro esterilizado e mistura esterilizada de substrato (Tecnomax®) com areia na proporção 2:1, respectivamente.

### **Experimento *in vitro***

Os seis tratamentos *in vitro* apresentados na Tabela 1 foram conduzidos em estufa do tipo Biosystem Organized Development (BOD), com temperatura controlada de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Para esse experimento foram utilizadas caixas plásticas gerbox com três folhas de papel-filtro esterilizado, em cada caixa foram depositadas 50 sementes com seis repetições, totalizando 300 sementes avaliadas por tratamento. As sementes foram irrigadas com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel.

Para o experimento conduzido na estufa BOD (*in vitro*), foram realizadas as seguintes análises: porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG). A porcentagem de germinação foi verificada aos 30 dias, através do número de sementes germinadas em relação ao número total de sementes colocadas para germinar (BORGHETTI; FERREIRA, 2004). O critério de avaliação considerado para a germinação foi a emissão da radícula (BORGHETTI; FERREIRA, 2004). O IVG foi calculado somando-se o número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme MAGUIRE (1962).

### **Experimento *ex vitro***

A semeadura foi realizada em uma mistura de substrato (da marca Tecnomax®) com areia, na proporção 2:1 respectivamente. Essa mistura foi autoclavada duas vezes a 120°C por uma hora cada vez, durante dois dias, com um intervalo de 24 horas. Após isso, a mistura de substrato e areia foi colocada em recipientes plásticos com capacidade para 1 litro, onde as sementes inoculadas com os fungos foram semeadas a 1 cm de profundidade, de forma uniforme.

Para conferir maior precisão às avaliações optou-se por reduzir o número de sementes avaliadas. Assim, foram usadas 40 sementes por parcela, cada tratamento teve cinco repetições, totalizando 200 sementes por tratamento.

Para o experimento conduzido em casa de vegetação (*ex vitro*) foram realizadas as seguintes análises: porcentagem de emergência de plântulas aos 30 dias, através do número de plântulas emergidas em relação ao número total de sementes (BORGHETTI; FERREIRA, 2004); Índice de velocidade de emergência (IVE): calculado o IVE somando-se o número de sementes emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme MAGUIRE (1962); Comprimento das folhas, medido em centímetros; Número de perfilhos; Massa fresca da parte aérea (folhas) e raiz; Massa seca da parte aérea e da raiz.

### **Análise estatística**

Os delineamentos experimentais adotados tanto para o experimento *in vitro* quanto para o *ex vitro* foram completamente casualizados, com seis tratamentos para ambos e seis repetições para o experimento *in vitro* e oito repetições para o *ex vitro*. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Identificação dos gêneros fúngicos isolados**

Os gêneros fúngicos com maior ocorrência foram *Alternaria* sp. e *Curvularia* sp. com incidência média de 20,5% e 11,75%, respectivamente. Ambos foram detectados pelos dois métodos de identificação avaliados. A assepsia reduziu a média de contaminação por estes fungos, sem eliminar completamente o gênero *Alternaria* sp., porém, em relação ao gênero *Curvularia* sp. a assepsia resultou na eliminação total. No tratamento de sementes sem assepsia, *Alternaria* sp. teve uma incidência de 32% pelo método de Papel Filtro e 40% pelo método BDA.

A presença de fungos nas sementes tratadas com NaClO podem indicar que existiam esporos de fungos no interior das sementes. De todo modo, a incidência de fungos nesses tratamentos foi baixa, ficando na casa de 1,16 a 1,5%.

Na Tabela 2 encontram-se os gêneros fúngicos detectados, por meio dos métodos papel de filtro e plaqueamento em meio de cultura BDA, e suas incidências nas sementes na ausência e presença de assepsia com NaClO 1%. Foram identificados cinco gêneros fúngicos associados às sementes de *E. plana* e também se observou a presença de fungos que não foram identificados (FNI).

Tabela 2 – Fungos associados às sementes de *Eragrostis plana*, detectados pelos métodos de papel de filtro e plaqueamento em meio de cultura BDA, não submetidos à assepsia com NaClO 1% (S/A) e submetidos à assepsia (C/A). Santa Maria - RS (2013).

Gêneros	Incidência (%)				Média (%)
	Papel-filtro		BDA		
	S/A	C/A	S/A	C/A	
<i>Alternaria</i> sp.	32	4	40	6	20,5
<i>Curvularia</i> sp.	15	0	32	0	11,75
<i>Penicillium</i> sp.	8	1	24	1	8,5
<i>Aspergillus</i> sp.	5	1	20	1	6,75
<i>Fusarium</i> sp.	0	0	8	0	6,75
FNI*	1	1	10	1	6,75
<b>Média (%)</b>	10,16	1,16	22,33	1,5	

FNI = Fungos Não Identificados

O gênero *Alternaria* possui espécies que podem causar importantes doenças em espécies vegetais (KRUPPA; RUSSOMANNO, 2009), inclusive em gramíneas (SILVA et al., 2007), família de plantas que abrange o capim-annoni. Segundo MACHADO (1988), em diversos hospedeiros, *Alternaria* sp. é um fungo presente no interior das sementes e que pode causar danos logo após a germinação. Isso demonstra que esse gênero apresenta potencial de causar danos a *E. plana*, assim se tornando um candidato a agente de controle biológico da gramínea. Além disso, devido à amplitude de espécies de gramíneas, a infecção pelo fungo pode dar-se em determinadas espécies e não ocorrer em outras.

Em relação ao gênero *Curvularia*, a incidência deu-se em 32% das sementes não tratadas com NaClO 1% (S/A) no método BDA. Este gênero é encontrado em uma grande variedade de plantas, no solo e no ar. Podendo ser saprofiticos, fitopatogênicos ou endofíticos (FERREIRA, 2010). Embora a maioria dos fungos desse gênero seja saprofítica, alguns são fitopatogênicos, causando danos principalmente em gramíneas de regiões tropicais e subtropicais. Além disso, esses fungos são produtores de fitotoxinas, que inibem o crescimento de algumas espécies vegetais, o que possivelmente pode ser utilizado como alternativa ao uso de herbicidas convencionais (SANTOS et al. 1997).

O gênero *Penicillium*, pertence ao filo Ascomycota, classe Euromycetes, ordem Eurotiales, e é representante da família Trichocomanaceae. Esse gênero é facilmente encontrado no solo, ar e vegetação em decomposição, sendo que também é um contaminante alimentar (PITT; HOCKING, 2009). PALLU (2010) relatou o potencial biotecnológico de *Penicillium* sp., onde isolados desse gênero inibiram o crescimento de fitopatógenos fúngicos em cana-de-açúcar, também foi verificado que a maioria dos isolados de *Penicillium* sp. testados produziram a enzima celulase, responsável pela quebra da celulose e consequentemente causadora de danos à planta.

Outro gênero encontrado foi *Aspergillus*, assim como *Penicillium* sp., pertence a classe Euromycetes, ordem Eurotiales, família Trichocomanaceae. Segundo VECHIATO (2010), *Aspergillus* sp. é um fungo comumente encontrado em sementes vegetais, que na maioria das vezes pode causar danos a elas, principalmente em sistemas de armazenamento.

*Fusarium* sp. classe Deuteromycetes, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae. Esse gênero é encontrado associado a sementes e ao solo, sendo responsável por causar danos econômicos em muitas culturas agrícolas. As gramíneas são muito suscetíveis a *Fusarium* sp., principalmente devido a produção de micotoxinas (MUNKVOLD; DESJARDINS,1997). Pesquisas relatam a alta patogenicidade de *Fusarium* sp. a milho, soja e trigo, sendo que ele pode afetar sementes, plântulas, raízes ou parte aérea (KUHNEM JÚNIOR et al., 2013; OLIVEIRA, 2010).

Na média geral o meio de cultura BDA foi superior ao método do papel-filtro para a propagação dos fungos, nas sementes avaliadas. Esses resultados

corroboram com os obtidos por MAGALHÃES et al. (2008). Segundo os autores, o meio BDA é rico em nutrientes, ao contrário do papel-filtro, e isso provavelmente favoreceu o crescimento de alguns fungos. Pelo método do plaqueamento em meio BDA, tanto na presença quanto na ausência de assepsia, também foi detectada uma baixa incidência (média inferior a 2%) de bactérias que não foram identificadas. Fatores como o baixo vigor no crescimento de algumas colônias dificultaram a identificação de alguns isolados nas sementes.

Testes de patogenicidade dos fungos isolados deverão ser realizados para melhor observação do potencial de utilização em programas de controle biológico de *E. plana*. Segundo NACHTIGAL et al. (2009), a utilização de fungos no controle de capim-annoni é uma possibilidade. Devido a isso, novos estudos deverão ser conduzidos para avaliar e identificar fungos fitopatogênicos específicos, visando à recuperação de áreas invadidas por *E. plana*.

No presente estudo, todos os gêneros de fungos encontrados nas sementes de *E. plana* possuem potencial de biocontrole de *E. plana*, pois apresentam espécies fitopatogênicas que causam danos em diferentes graus de severidade em gramíneas. Entretanto, os gêneros que apresentam maior potencial, de promover danos em capim-annoni, são *Fusarium* sp. e *Curvularia* sp., o primeiro por ser menos frequente nas sementes avaliadas e por isso possivelmente encontrar menos resistência do capim-annoni, devido a menor adaptação ao fungo. O segundo por ser um causador de danos severos em vegetais, e também por causar diferentes danos em gramíneas (KRUPPA; RUSSOMANNO, 2009 e SILVA et al., 2007). Também, o gênero *Curvularia* sp. produz compostos fitotóxicos (SANTOS et al. 1997)., que podem ser nocivos ao capim-annoni.

Conforme BARRETO (2009), a viabilidade da utilização de fungos em programas de controle biológico envolve, entre outros, os seguintes fatores: avaliação da especificidade, para que as espécies vegetais não sofram danos; determinação das condições exigidas pelo microrganismo utilizado e produção de inóculo.

Segundo relatado na literatura científica (SILVA et al., 2007; FERREIRA, 2010; PALLU, 2010; VECHIATO, 2010 e KUHNEM JÚNIOR et al., 2013) os fungos encontrados nas sementes de *E. plana* apresentam patogenicidade em relação a gramíneas, assim é possível que sejam patogênicos também ao capim-annoni.

Ademais, os gêneros que apresentam maior potencial de uso parecem ser *Curvularia* sp. e *Fusarium* sp., o primeiro porque apresentou grande incidência nas sementes avaliadas e é um produtor de toxinas (SANTOS et al. 1997), o último pois é um fungo bastante agressivo a muitas espécies vegetais (KUHNEM JÚNIOR et al., 2013; OLIVEIRA, 2010). Após a identificação dos fungos foram realizados testes para avaliar a sua ação nas sementes de *E. plana*.

### **Ação dos isolados fúngicos em sementes de *E. plana* in vitro**

Os fungos que apresentaram melhores resultados para a redução da porcentagem de germinação, nas condições em que o experimento conduzido *in vitro* foi realizado, foram *Curvularia* sp. (T2), *Fusarium* sp. (T3) e *Penicillium* sp. (T4). Conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) de capim-annoni (*Eragrostis plana*) após inoculação com *Curvularia* sp. (T2), *Fusarium* sp. (T3), *Penicillium* sp. (T4), *Alternaria* sp. (T5), e *Aspergillus* sp. (T6) e tratamento controle (T1), experimento conduzido em estufa do tipo BOD (*in vitro*). Santa Maria, RS, 2013.

Tratamentos	G	IVG
	%	
Testemunha (T1)	89,66 <sup>a</sup>	17,34 <sup>ab</sup>
<i>Curvularia</i> sp. (T2)	58,33 <sup>b</sup>	10,21 <sup>d</sup>
<i>Fusarium</i> sp. (T3)	62,33 <sup>b</sup>	11,94 <sup>cd</sup>
<i>Penicillium</i> sp. (T4)	59,16 <sup>b</sup>	12,86 <sup>cd</sup>
<i>Alternaria</i> sp. (T5)	87,00 <sup>a</sup>	18,72 <sup>a</sup>
<i>Aspergillus</i> sp. (T6)	81,33 <sup>a</sup>	14,24 <sup>bc</sup>
<b>Média</b>	72,97	14,22
<b>CV (%)</b>	11,05	13,68

Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si a 5% pelo teste de Tukey.

*Curvularia* sp. é um patógeno de algumas gramíneas forrageiras e agente causal de doenças em diversas espécies hospedeiras (CARNEIRO, 1986). Conforme BITENCOURT e HOMECHIN (1998) é considerado um fungo invasor de sementes, quando ela ainda se encontra presa à planta, sendo agente causal de

danos na cana-de-açúcar. Além disso, esse gênero é causador de danos na cultura do milho (FERREIRA, 2010), outra gramínea assim como *E. plana*. Possivelmente, esses danos sejam causados por fitotoxinas produzidas pelo próprio fungo (SANTOS et al., 1997).

No experimento realizado, as sementes que foram inoculadas com o gênero *Curvularia* germinaram em média 35% menos do que as sementes que não receberam nenhum tratamento. O índice de velocidade de germinação (IVG), no tratamento com *Curvularia* sp. apresentou o menor índice, retardando a germinação das sementes de *E. plana*, o que pode ter favorecido a colonização das sementes pelo fungo e, devido a isso, foi o tratamento que apresentou os melhores resultados.

Os tratamentos T3 e T4, *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. respectivamente, diferiram do tratamento controle, mas não diferiram estatisticamente entre si nos dois parâmetros avaliados (porcentagem de germinação e IVG). Em cada um desses dois tratamentos houve redução de aproximadamente 32% na germinação em relação ao tratamento controle, quanto ao IVG a redução foi menor, porém também significativa, ficando ao redor de 15% para cada um dos tratamentos T3 e T4 quando comparados a T1.

Pela análise da Tabela 3, pode-se perceber que tanto *Alternaria* sp. quanto *Aspergillus* sp. não diferiram estatisticamente do controle no que se refere à porcentagem de germinação e ao índice de velocidade de germinação (IVG), ou seja, não apresentaram diminuição significativa no número de sementes germinadas. Isso pode ter sido resultado da baixa disponibilidade de nutrientes no substrato (papel-filtro), pois, segundo MAGALHÃES et al. (2008) esse tipo de substrato pode influenciar negativamente o desenvolvimento de certos gêneros de fungos. Assim, apesar de *Alternaria* sp. e *Aspergillus* sp. serem fungos causadores de danos em gramíneas (SANCHÉZ et al., 2009) não foram constatados danos significativos utilizando-se papel-filtro como substrato.

#### **Ação dos isolados fúngicos em sementes de *E. plana* no experimento *ex vitro***

Em relação a germinação, o tratamento que mais reduziu emergência de plântulas foi *Aspergillus* sp. (T6) com 55,5% de plântulas emergidas (Tabela 4), uma redução de 34% em relação ao controle. Assim como a porcentagem de emergência, o IVE também diminuiu significativamente em T6, ficando

aproximadamente 40% menor em relação a T1. O único isolado que não obteve diferença estatística para porcentagem de emergência e IVE, em relação ao controle, foi *Penicillium* sp. (T4).

Tabela 4 - Porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de folhas (CF), número de perfilhos (N°P), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de capim-annoni (*E. plana*) após inoculação com *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., e *Aspergillus* sp., experimento conduzido em casa de vegetação (*ex vitro*). Santa Maria, RS, 2013.

Trat.	E	IVE	CF	N°P	MFPA	MFR	MSPA	MSR
	%		cm		g	g	g	G
T1	87,00 <sup>a</sup>	6,68 <sup>ab</sup>	65,16 <sup>a</sup>	7,20 <sup>a</sup>	56,98 <sup>a</sup>	59,48 <sup>ab</sup>	26,16 <sup>a</sup>	15,38 <sup>a</sup>
T2	84,00 <sup>b</sup>	6,01 <sup>bc</sup>	49,64 <sup>d</sup>	5,40 <sup>b</sup>	58,33 <sup>a</sup>	63,17 <sup>ab</sup>	22,70 <sup>a</sup>	12,10 <sup>abc</sup>
T3	67,50 <sup>b</sup>	5,21 <sup>c</sup>	59,52 <sup>b</sup>	6,76 <sup>a</sup>	58,06 <sup>a</sup>	64,91 <sup>a</sup>	22,10 <sup>ab</sup>	15,36 <sup>a</sup>
T4	95,50 <sup>a</sup>	7,74 <sup>a</sup>	51,32 <sup>c</sup>	5,48 <sup>b</sup>	62,79 <sup>a</sup>	68,01 <sup>a</sup>	26,29 <sup>a</sup>	14,71 <sup>ab</sup>
T5	64,50 <sup>b</sup>	4,93 <sup>cd</sup>	41,98 <sup>cd</sup>	6,28 <sup>ab</sup>	57,25 <sup>a</sup>	45,74 <sup>b</sup>	14,78 <sup>b</sup>	11,84 <sup>c</sup>
T6	55,50 <sup>b</sup>	3,91 <sup>d</sup>	54,12 <sup>bcd</sup>	6,88 <sup>a</sup>	61,14 <sup>a</sup>	57,35 <sup>ab</sup>	21,16 <sup>ab</sup>	10,78 <sup>bc</sup>
<b>MÉDIA</b>	75,66	5,75	5,86	6,33	59,09	59,78	22,20	13,03
<b>CV (%)</b>	9,12	11,23	4,94	9,94	13,58	15,20	16,73	17,06

Sendo: T1 – controle; T2 - *Curvularia* sp.; T3 - *Fusarium* sp.; T4 - *Penicillium* sp.; T5 - *Alternaria* sp. e T6 - *Aspergillus* sp. Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si a 5% pelo teste de Tukey.

O gênero *Aspergillus* é conhecido por causar doenças em várias gramíneas cultivadas (PEREIRA, 1997; VECCHIA; CASTILHOS-FORTES, 2007). Porém, esse gênero não afeta apenas gramíneas, sendo que BELLETTINI et al. (2005) relatou diminuição na germinação de amendoim quando inoculado com *A. niger*. Ademais, esse gênero compreende espécies que invadem sementes e causam a sua deterioração, resultando na podridão das sementes invadidas (WETZEL, 1987; VECHIATO, 2010). Provavelmente esse tenha sido o motivo para o baixo percentual de emergência de plântulas de capim-annoni tratadas com *Aspergillus* sp.

Também é importante destacar que esse tratamento apresentou o menor IVE, fato decisivo para a colonização das sementes, pois permitiu ao fungo um período de ação mais prolongado. Além de reduzir a emergência e o IVE, *Aspergillus* sp.

também diminuiu o comprimento das folhas avaliadas, essa redução foi de 17%.

Os tratamentos *Fusarium* sp. (T3) e *Alternaria* sp. (T5) obtiveram resultados parecidos para a porcentagem de emergência e IVE, com leve vantagem para o segundo, porém não foi estatisticamente significativa. *Fusarium* sp. é um gênero produtor de micotoxinas, que podem contaminar alimentos e causar danos em plantas (CALDAS et al., 2002). Esse gênero já foi pesquisado para o controle de *Egeria densa*, planta aquática (BORGES NETO et al., 2005; BORGES NETO e PITELLI, 2004). *Fusarium* sp. é um dos gêneros mais estudados quanto a produção de toxinas, sendo que o grupo mais importante de toxinas são os tricotecenos (TREMACOLDI; FILHO, 2006). No experimento realizado, *Fusarium* sp. também reduziu o comprimento das folhas de *E. plana*, sendo que as plantas ficaram 22% mais curtas em relação a T1 (Tabela 4).

BENETTI et al. (2009), testou a patogenicidade de quatro isolados de *Fusarium* sp. em cedro, e constataram que três dos isolados testados causaram diminuição na emergência das plântulas. Da mesma forma, LAZAROTTO et al. (2012) também testando a patogenicidade de *Fusarium* sp., entre outros fungos, chegou ao mesmo resultado, e constatou que o fungo é transmitido para as plântulas via sementes. Assim, o seu uso como bioherbicida para o capim-annoni merece ser melhor estudado, pois apresenta potencial.

*Alternaria* sp. (T5) foi o segundo melhor tratamento. Sendo que no experimento realizado houve redução de 25% na emergência e 26% no IVE, ambos em relação a T1. Já para o comprimento de folhas houve redução de 35% em relação a T1 (Tabela 4). Esses resultados podem ter sido devido a ação de toxinas provenientes do fungo, pois *Alternaria* sp. é um gênero que abriga produtores dessas substâncias (TREMACOLDI; FILHO, 2006). A massa seca e fresca da parte aérea e raiz também sofreram redução, mas isso pode ter sido devido ao menor número de plântulas emergidas (Tabela 4).

O potencial de fungos do gênero *Alternaria* é reconhecido. Segundo BARTON (2005) um bioherbicida desenvolvido a partir de *Alternaria destruens* foi registrado para uso nos EUA no ano de 2005, para o controle de *Cuscuta* spp. Também, segundo o mesmo autor, foi desenvolvido outro bioherbicida que usou *Alternaria cassiae* para o controle de *Cassia* spp. Dessa forma, com base nos resultados obtidos e no histórico de uso desse gênero como bioherbicida, fica

evidente o potencial desse gênero para o controle de *E. plana*.

Alguns trabalhos desenvolvidos já estudaram o potencial de fungos como agentes de biocontrole de espécies vegetais invasoras. ROY e CHOURASIA (1989) isolaram de *C. Rotundus* espécies dos gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Rhizopus*, porém esses autores não avaliaram os fungos quanto ao potencial para biocontrole.

Também foi testado o controle da planta invasora de pastagens e lavouras de trigo *Chondrilla juncea* através da introdução do fungo *Puccinia chondrillina*. Na Austrália, a planta invasora foi controlada com sucesso, entretanto, em outros lugares onde foi testado, o controle foi apenas parcial (TESSMANN, 2011).

O potencial de fungos que controlem plantas invasoras existe, porém a dificuldade de se chegar até um bioherbicida é um entrave para o seu desenvolvimento. São muitas etapas, que vão desde a identificação dos fungos até testes em nível de campo. Entretanto, essa parece ser uma técnica promissora para o futuro.

## CONCLUSÃO

Os gêneros fúngicos identificados nas sementes colhidas de *E. plana* são: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. O meio BDA mostrou-se mais apropriado do que o método do papel-filtro para o isolamento dos fungos identificados.

Em condições de ambiente *in vitro*, os isolados dos gêneros fúngicos *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp., causam diminuição na germinação de sementes de *E. plana*

O isolado fúngico mais eficiente na redução do desenvolvimento em estágio inicial de *E. plana* foi *Aspergillus* sp. em ambiente controlado *ex vitro*.

## REFERÊNCIAS

BARNETT, H. L; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. St. Paul, Minnesota: **The American Phytopathological Society**, 2006.

BARRETO, R.W. Controle biológico de plantas daninhas com fitopatógenos. Livro

**Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Cap. 7, Pág. 101-128, 2009.

BARTON, J. Bioherbicides: All in a day's work... for a superhero. What's New in Biological Control of Weeds? **Landcare Research New Zeland**. pp. 4-6 Disponível em: [www.landcareresearch.co.nz/publications/newsletters/weeds/wtsnew34.pdf](http://www.landcareresearch.co.nz/publications/newsletters/weeds/wtsnew34.pdf). 2005.

BELLETTINI, N.M.T.; ENDO, R.M.; MIGLIORANZA, E.; SANTIAGO, D.C. Patogenicidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n.2, p.167-172, abr/jun. 2005.

BENETTI, S. C.; SANTOS, A.F. dos; MEDEIROS, A.C.de.S.; FILHO, D.S.J. Levantamento de fungos em sementes de cedro e avaliação da patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 79-83, jan./jun. 2009.

BOLDRINI, I. I. Campos do Rio Grande do Sul: Caracterização Fisionômica e Problemática Ocupacional. **Boletim do Instituto de Biociências**, Porto Alegre, n. 56, p. 1-39, 1997.

BOLDRINI, I.L.; A flora dos Campos do Rio Grande do Sul. **Livro Campos Sulinos**. Cap. 5, Pág 63 – 77, 2009.

BORGES NETO, C.R.; GORGATI, C.Q.; PITELLI, R.A. Influência do fotoperíodo e da temperatura na intensidade de doença causada por *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *Egeria najas*. **Planta Daninha** 23: 449:456. 2005.

BORGES NETO, C.R.; PITELLI, R.A. Adjuvantes e herbicidas e a infectividade de *Fusarium graminearum*, agente potencial de biocontrole de *Egeria densa* e *Egeria najas*. **Planta Daninha** 22:77-83. 2004.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 209–222. 2004.

CALDAS, E.D.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N. Aflotoxins and ochratoxin A in food and the risk to human health. **Revista de Saúde Pública**. 36: 319-323.2002.

CARNEIRO, J. S. Fungos associados a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**. V.11, n. 3, p. 41 – 44, 1986.

FERNANDES, M. R. Manual para laboratório de fitopatologia. Passo Fundo: **EMATER – CNPT**, 128 p. 1993.

FERREIRA, L.S. Caracterização de isolados de *Curvularia* spp. endofíticos de milho (zea mays l.) por parâmetros morfológicos e moleculares. **Dissertação de mestrado**. UFPR/GENÉTICA. 2010. Disponível em: [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_)

obra=201963 Acesso: 24 de agosto, 2013.

HENNING, A. A. Patologia e tratamento de sementes: noções gerais. 2 ed. Documentos 264. Londrina: **Embrapa Soja**, 52p. 2005.

KRUPPA, P. C.; RUSSOMANNO, O. M. R. Fungos em plantas medicinais, aromáticas e condimentares – solo e semente. 2009. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/Fungos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/Fungos/index.htm)>. Acesso em: 24 julho 2013.

KUHNEM JÚNIOR, P.R.; STUMPF, R.; SPOLTI, P.; PONTE, E. M. D. Características patogênicas de isolados do complexo *Fusarium graminearum* e de *Fusarium verticillioides* em sementes e plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.4, p.583-588, abr, 2013.

LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B.; BELTRAME, R.; SANTOS, A.F.dos; MACIEL, C.G.; LONGHI, S.J. Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *cedrela fissilis* procedentes da região sul do Brasil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 493-503, jul.-set., 2012.

MACHADO, J. da C. Patologia de sementes: significado e atribuições. In: CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill, p. 371-419. 1988.

MAGALHÃES, H. M.; CATÃO, H. C. R. M.; SALES, N. de L.; LIMA, N. F. de; LOPES, P. S. N. Qualidade sanitária de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*) no Norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**. v.38, n.8, p. 2371-2374, 2008.

MEDEIROS, R.B. de et al. Longevidade de Sementes de *Eragrostis plana* Nees, em um Solo de Campo natural. In: reunión del grupo técnico regional del cono sur en mejoramiento y utilización de los recursos forrajeros del área tropical y subtropical – **Grupo Campos**, 20., 2004a, Salto. Memórias... Salto, v. 1, p. 213-214. 2004a.

MEDEIROS, R.B. de et al. Expansão de *Eragrostis plana* Ness (capim-annoni-2), no Rio Grande do Sul e Indicativos de Controle. In: reunión del grupo técnico regional del cono sur en mejoramiento y utilización de los recursos forrajeros del área tropical y subtropical, **Grupo Campos**, Memórias... Salto, p. 208-211. 2004b.

MEDEIROS, R.B. de; FOCHT, T. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul, Brasil. **PESQ. AGROP. GAÚCHA**, PORTO ALEGRE, v.13, n.1-2, p.105-114, 2007.

MEDEIROS, R.B. et al. Invasão de capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) no bioma Pampa do Rio Grande do Sul. **Campos Sulinos**. Cap. 25. Pág. 317 – 330, 2009.

MUNKVOLD, G.P.; DESJARDINS, A.E. Fumonisin in maize: can we reduce their occurrence? **Plant Dis**. 81:556-565. 1997.

NACHTIGAL, G. de F. et al. Ocorrência de Ferrugem Associada ao Capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na região de Fronteira da Metade Sul do RS. **Rev. Bras. De Agroecologia**/nov, vol. 4 No. 2. 2009.

NACHTIGAL, G. de F. Perspectivas do controle biológico do capim-annoni-2 após meio século de invasão no Brasil. Publicado em: **Diário da Manhã** 19/10/2008, pág. 7; Página Rural, 21/10/2008.

OLIVEIRA, P.R.P. de M. Variabilidade de isolados de *Fusarium* spp. causadores da podridão vermelha de raiz da soja. 2010. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)**-Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

PALLU, A.P.S. Potencial biotecnológico de fungos do gênero e interação com cana-de-açúcar. 2010. 129p. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Universidade de São Paulo. Piracicada, 2010.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. Fungi and food spoilage. 3<sup>rd</sup> ed. **Dordrecht: Springer**, 2009.

QUADROS, F. L. F. et al. Levantamento das pastagens naturais da região de Santa Maria-RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 921-927, 2003.

REGO, S. S. Germinação, morfologia e sanidade de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg e *Myrceugenia gertii* Landrum – Myrtaceae. 2008. 114 f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)**–Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

REIS, J. C. L. Capimannoni 2: origem, morfologia, características, disseminação. In: reunião regional de avaliação de pesquisa comannoni 2., Bagé, 1993. Anais... Bagé: **Embrapa-CPPSUL**, p. 5-23. 1993.

REIS, J.C.L.; COELHO, R.W. Sucessão de culturas no controle de capimannoni-2. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 37., 2000, Viçosa. **Anais... Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Forragicultura. 2000.

ROY, A.K.; CHOURASIA, H.K. Aflotoxin problems in some medicinal plants unde storage, **Internat. J. Of Crude Durgb Res.**, v. 27, p. 156-160. 1989.

SANCHÉZ, M.A.A; PÉREZ, E.N.; BOJÓRQUEZ, A.D.A. Contaminantes biológicos de los granos almacenados de importancia socioeconómica en sinaloa. Livro: **Tecnologías de Granos y Semillas. Libros Técnicos: Serie Agricultura**. 1<sup>o</sup> edição, Universidad Autónoma Indígena De México. México, 2009.

SANTOS, M.F.; RIBEIRO, R.C.W.; FAIAD, M.G.R., SANO, S.M. Fungos associados às sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.1, p.135-139. 1997.

SILVA, G.M.; MAIA, M.S.; MORAES, C.O.C.; MEDEIROS, R.B.; SILVA, C.S.; PEREIRA, D.D. Fungos Associados a Sementes de Cevadilha Vacariana (*Bromus*

auleticus) Coletadas nas Plantas e no Solo. **Fitopatol. Bras.** 32(4), jul - ago 2007.

TREMACOLDI, C.R.; FILHO, A.P.S.S. Toxinas produzidas por fungos fitopatógenos: possibilidades de uso no controle de plantas daninhas. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2006.

VECHIATO, M. H. Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas. 2010. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_3/SementesFlorestais/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm)>. Acesso em: 10 julho de 2013.

VECCHIA, A. D.; CASTILHOS-FORTES, R. Contaminação fúngica em granola comercial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(2): 324-327. 2007.

WETZEL, M. M. V. da S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. da S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, p. 260-274. 1987.

## ARTIGO 2

### Efeito alelopático de extratos de carqueja (*Baccharis trimera* Less) sobre capim-annoni (*Eragrostis plana* Ness)

#### RESUMO

O capim-annoni é uma gramínea invasora dos campos do bioma Pampa, região com grande variedade de espécies vegetais, causando prejuízos econômicos e ambientais. Estudos demonstram o potencial de utilização de plantas como a espécie *Baccharis trimera* Less (carqueja) no controle de plantas indesejáveis. A carqueja, pertencente à família *Asteraceae*, possui princípios ativos com várias propriedades. Dentre os compostos presentes em *B. trimera*, pode-se destacar a presença de flavonóides, taninos, ácidos graxos, esteróides, triterpenóides. Este trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos alelopáticos dos extratos aquosos de carqueja sobre a germinação e desenvolvimento do capim-annoni, bem como determinar os compostos fenólicos presentes nos extratos. Para avaliar o efeito alelopático de *B. trimera* em *E. plana* foram aplicadas diferentes doses de extrato bruto aquoso (EBA) de carqueja nas sementes de capim-annoni. As concentrações foram 0; 25; 50; 75 e 100 g.L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram conduzidos em estufa BOD (*in vitro*) e em casa de vegetação (*ex vitro*). Também foi realizada a técnica Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) para identificar os compostos presentes no EBA. Foram encontrados em maior quantidade: ácido cafeico, ácido clorogênico, isoquercitina e ácido elágico. No experimento *in vitro* a inibição da germinação deu-se a partir da concentração 25 g.L<sup>-1</sup>, sendo que a germinação diminuiu conforme a concentração do EBA aumentou. No experimento *ex vitro* a redução da emergência foi menor, porém foi estatisticamente significativa. Os dados obtidos mostram que os extratos de carqueja interferem no desenvolvimento.

**Palavras-chave:** Bioma Pampa. Fitoquímicos. Alelopatia. Conservação.

## ABSTRACT

### **Allelopathic effect of extracts carqueja (*Baccharis trimera* Less) on tough lovegrass (*Eragrostis plana* Ness)**

The tough lovegrass (*Eragrostis plana* Ness) is an invasive grass grassland the Pampa biome, a region that has a large variety of plant species, and has been causing economical and environmental losses. Studies have demonstrated the potential of using *Baccharis trimera* Less (carqueja) in order to control undesired plants. The carqueja belongs to the *Asteraceae* family, possessing compounds with many properties. This work aimed to evaluate the allelopathic effects of the aqueous extracts of carqueja upon the germination and development of the tough tough lovegrass, as well as determinate the phenolic compounds present in these extracts. To evaluate the allelopathic effect of *B. trimera* on *E. plana* different doses of the crude aqueous extract (CAE) of carqueja were applied on the seeds of tough lovegrass. The concentrations where 0; 25; 50; 75 and 100 g.L<sup>-1</sup>. The experiments were realized in a BOD incubator (*in vitro*) and in a greenhouse (*ex vitro*). The High-performance liquid chromatography (HPLC) was also conducted to identify the compounds present in the CAE. Were found in larger amounts: caffeic acid, chlorogenic acid, ellagic acid and isoquercitina. In the *in vitro* experiment the inhibition of the germination appeared from the concentration of 25 g.L<sup>-1</sup> upwards, causing a diminishing germination with increasingly higher concentrations of the CAE. In the *ex vitro* experiment the reduction of emergence was lower, but was statistically significant. The data show that the carqueja extracts interfere on the development of the tough lovegrass.

**Keywords:** Pampa Biome. Phytochemicals. Allelopathy. Conservation.

## INTRODUÇÃO

O capim-annoni, *Eragrostis plana* Nees, é uma gramínea (Poaceae) perene, estival, cespitosa e proveniente da África do Sul (FOTCH, 2008). Devido a essas características, combinadas ao rápido crescimento e facilidade de reprodução, a espécie possui atributos de planta invasora, portanto, vem causando danos ambientais e econômicos na área de abrangência do bioma Pampa, onde se pratica a pecuária em campos naturais.

O controle convencional de *E. plana* requer o emprego de produtos altamente tóxicos, podendo causar danos ambientais e perda de diversidade vegetal, pois a vegetação nativa altamente diversificada do bioma Pampa também é eliminada (GOULART *et al.*, 2009; MEDEIROS; FOCHT, 2007). Nesse sentido, alternativas para o controle de gramíneas invasoras têm sido estudadas, como por exemplo, a utilização de plantas para inibição da sua germinação e desenvolvimento (FERREIRA *et al.*, 2007; KHALIQ *et al.*, 2011; 2013).

O efeito alelopático ocorre pela produção de metabólitos primários e secundários, produzidos e liberados por espécies vegetais. Os metabólitos primários são produzidos pelo processo fotossintético, e são essenciais à planta produtora, já os metabólitos secundários (também denominados compostos secundários), embora não sejam essenciais ao metabolismo da planta produtora, têm importante papel na competição com outras espécies (GOLDFARB *et al.*, 2009). Em geral, a origem desses metabólitos secundários está relacionada a algum tipo de estresse (por exemplo: seca, calor, ataque de microrganismos) sofrido pelo vegetal, funcionando como um mecanismo de defesa. Assim, os óleos essenciais, resinas, alcalóides, flavonóides, taninos, entre outros, são exemplos de compostos secundários (DI STASI, 1996).

De forma geral, metabólitos secundários de espécies vegetais podem interferir tanto na germinação quanto no desenvolvimento de outras plantas. Essa é uma das estratégias utilizadas por plantas invasoras para competir com outras espécies (MAZZAFERA, 2003).

Entretanto, devido a grande diversidade de compostos produzidos, há a possibilidade de que alguns desses metabólitos secundários sejam utilizados como alternativa ao uso de herbicidas convencionais, fazendo o controle de espécies

invasoras (WALLER, 1999). Visto que os métodos de controle de plantas daninhas com herbicidas podem ser nocivos ao ambiente e à população, alternativas ao uso de produtos químicos são necessárias. Dessa forma, os herbicidas naturais têm potencial de controlar espécies invasoras e causar menor impacto ambiental, pois são ambientalmente e toxicologicamente (alta biodegradabilidade) mais seguros que os herbicidas sintéticos usados atualmente na agricultura (DUKE *et al.*, 2002; MACIAS *et al.*, 2006).

Dentre as plantas com efeitos alelopáticos, tem-se a carqueja (*Baccharis trimera* Less) que possui propriedades de inibição celular (FACHINETTO; TEDESCO, 2009). A carqueja pertencente à família *Asteraceae*, possui princípios ativos com várias propriedades. Dos compostos presentes nessa espécie pode-se destacar a presença de flavonóides, taninos, ácidos graxos, esteróides e triterpenóides, cumarinas, amino grupos e traços de glicosídeos saponínicos (BONA *et al.*, 2002). FRITZ *et al.* (2007) relatou o efeito alelopático de *B. Trimeria* em alface (*Lactuca sativa* L.). Também há relatos de efeito alelopático de carqueja em tomate (CASTRO; FERREIRA, 2001).

Este trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos alelopáticos dos extratos aquosos de carqueja sobre a germinação e desenvolvimento do capim-annoni, bem como determinar os compostos fenólicos presentes nos extratos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, no Laboratório de Interação Planta-Microrganismos e em casa de vegetação, todos pertencentes ao Departamento de Biologia, do Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.

As folhas de carqueja foram coletadas no município de Rosário do Sul, RS. Visando padronizar a amostra foi realizada apenas uma coleta, no mês de março de 2013, durante o período da manhã. Após isso, as folhas foram colocadas para secar durante três dias a temperatura de 35 °C, em estufa do tipo Biosystem Organized Development (BOD), e foram armazenadas a 8 °C ( $\pm 2$  °C) até a implantação dos

experimentos. As sementes de *E. plana* foram colhidas no município de Bagé – RS, no ano de 2012, e fornecidas pela Embrapa Pecuária Sul.

Para testar o potencial alelopático de *B. trimeria*, foi seguida a recomendação de FERREIRA e AQUILA (2000). Assim, primeiramente foi realizado teste de germinação utilizando-se o critério morfológico, ou seja, emergência da radícula, como primeira abordagem, em seguida se realizou teste de emergência de plântulas no solo. Desse modo, foram realizados dois experimentos, um sob condições de temperatura e luz controladas (experimento *in vitro*), conduzido em estufa BOD e outro realizado em casa de vegetação (experimento *ex vitro*), sem controle de temperatura e luz.

Para o preparo do extrato bruto aquoso (EBA) foram pesadas 100 g de folhas de carqueja, trituradas e colocadas durante 15 minutos em água a 100 °C, previamente destilada e autoclavada. Após isso, o extrato foi deixado para esfriar em temperatura ambiente, em recipiente fechado, depois foi filtrado e coletado num Becker. Para a obtenção das concentrações menores foi feita a diluição do extrato mais concentrado. Esse procedimento foi repetido para cada aplicação. Os tratamentos utilizados foram: T1 – água destilada e autoclavada; T2 – EBA nas concentrações de 25 g.L<sup>-1</sup>; T3 - 50 g.L<sup>-1</sup>; T4 - 75 g.L<sup>-1</sup> e T5 - 100 g.L<sup>-1</sup>

Para a realização do experimento *in vitro* as sementes de capim-annoni foram distribuídas em caixas gerbox, com três camadas de papel-filtro. Após a semeadura foi feita a aplicação dos extratos de carqueja diretamente sobre o papel-filtro, sendo que a quantidade de extrato aplicado foi de 2,5 vezes o peso do papel.

Cada tratamento desse experimento teve oito repetições, com 50 sementes por repetição, totalizando 400 sementes por tratamento. Após a semeadura, as parcelas foram colocadas para germinar em câmara climatizada (BOD), com fotoperíodo de 12 horas, e temperatura de 25 °C.

Para o experimento *in vitro*, foram realizadas as seguintes análises: porcentagem de germinação: determinou-se aos 30 dias, através do número de sementes germinadas em relação ao número total de sementes colocadas para germinar (BORGHETTI; FERREIRA, 2004). O critério de avaliação considerado para a germinação foi a emissão da radícula (BORGHETTI; FERREIRA, 2004). Índice de velocidade de germinação (IVG): foi calculado o IVG somando-se o número de

sementes germinadas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da sementeira, conforme MAGUIRE (1962).

O experimento *ex vitro* foi conduzido na casa de vegetação pertencente ao Departamento de Biologia da UFSM. No total foram 60 dias de avaliação, durante os meses de setembro a novembro de 2013.

A sementeira foi realizada em uma mistura de substrato hortícola (da marca Tecnomax®) com areia, na proporção 2:1. Essa mistura foi autoclavada duas vezes a 120 °C por uma hora, durante dois dias, com um intervalo de 24 horas. Após isso a mistura de substrato e areia foi colocada em recipientes plásticos com capacidade para 1 litro, onde foi feita a sementeira do capim-annoni, a 1 cm de profundidade, de forma uniforme.

Depois da sementeira foi feita a aplicação do EBA. A aplicação foi diária, durante sete dias, cada repetição recebeu 80 mL de EBA ou água destilada e autoclavada, no caso do tratamento controle. Após o período de aplicação de extratos as plantas receberam apenas irrigação com água destilada. Cada tratamento teve cinco repetições, sendo 40 sementes por repetição, totalizando 200 sementes por tratamento. O preparo do EBA seguiu a mesma metodologia adotada para o experimento *in vitro*, as concentrações do EBA foram as mesmas citadas anteriormente.

Para o experimento *ex vitro* foram realizadas as seguintes análises: porcentagem de emergência de plântulas aos 30 dias, através do número de plântulas emergidas em relação ao número total de sementes colocadas para germinar (BORGHETTI; FERREIRA, 2004); Índice de velocidade de emergência (IVE), calculado o IVE somando-se o número de sementes emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da sementeira, conforme MAGUIRE (1962); Comprimento das folhas, medido em centímetros; Número de perfilhos; Massa fresca da parte aérea (folhas) e raiz; Massa seca da parte aérea e da raiz.

A análise dos extratos aquosos de carqueja foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC- High Performance Liquid Chromatography) para determinar e quantificar os compostos fenólicos presentes.

O delineamento experimental adotado tanto para o experimento *in vitro* quanto para o *ex vitro* foi completamente casualizado, com cinco tratamentos e oito

repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil cromatográfico do EBA e as concentrações de cada composto são apresentados na Figura 1 e na Tabela 1.

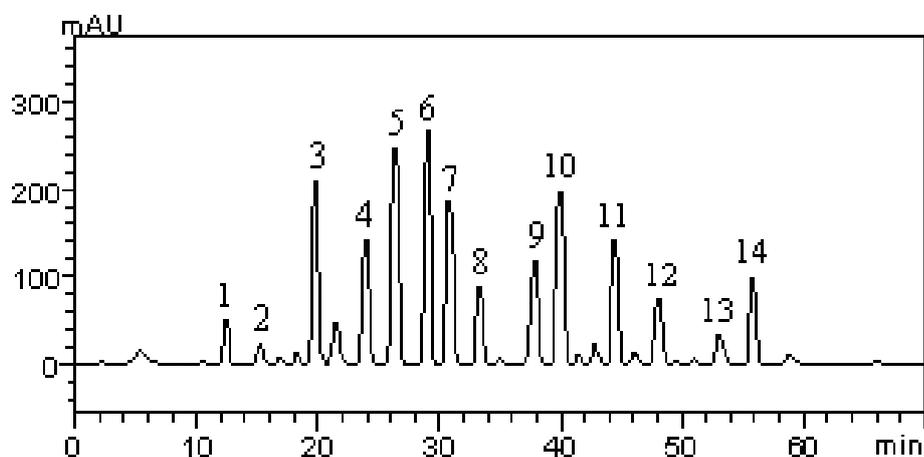


Figura 1: Perfil cromatográfico representativo da infusão de *Baccharis trimera*. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), derivado do ácido clorogênico (pico 4), ácido cafeico (pico 5), derivado do ácido cafeico (pico 6), ácido elágico (pico 7), epicatequina (pico de 8), rutina (pico 9), isoquercitrina (pico 10), quercitrina (pico 11), quercetina (pico 12), canferol (pico 13) e canferol glicosídeo (pico 14).

Tabela 1 – Compostos fenólicos e flavonóides presentes em *Baccharis trimera* na concentração de 50 mg.ml<sup>-1</sup>. Análise do extrato de *B. Trimer*a por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Santa Maria, RS. 2013.

Compostos			Compostos		
	mg/g	%		mg/g	%
Ácido gálico	2,35 ± 0,01	0,23	Epicatequina	5,37 ± 0,03	0,53
Catequina	1,19 ± 0,03	0,11	Rutina	7,23 ± 0,02	0,72
Ácido clorogênico	13,58 ± 0,02	1,35	Isoquercitrina	13,49 ± 0,01	1,34
Derivado do ácido clorogênico*	10,96 ± 0,02	1,09	Quercitrina	10,25 ± 0,02	1,02
Ácido cafeico	15,73 ± 0,01	1,57	Quercetina	4,96 ± 0,02	0,49
Derivado do ácido cafeico <sup>#</sup>	16,42 ± 0,02	1,64	Canferol	2,13 ± 0,02	0,21
Ácido elágico	12,89 ± 0,01	1,28	Canferol glicosídeo <sup>&amp;</sup>	6,34 ± 0,01	0,63

Quantificados como: \*ácido clorogênico, <sup>#</sup>ácido cafeico e <sup>&</sup>canferol. Resultados são expressos como média ± S.E. de 3 determinações.

O ácido cafeico e seus derivados foram os compostos observados em maior quantidade na análise dos extratos de *B. trimera* (Tabela 1). Essas substâncias são xantinas, potentes inibidoras do desenvolvimento de espécies vegetais (FERREIRA; AQUILA, 2000). O principal exemplo de espécie produtora da xantina cafeína é o cafeeiro (*Coffea arabica* L.), essa substância chega a ser fitotóxica até mesmo para plantas jovens da mesma espécie (WALLER *et al.*, 1986). Devido a isso, o ácido cafeico promove o controle natural de espécies invasoras em cafezais (ANAYA *et al.*, 1982).

SOUZA FILHO *et al.* (2006) analisou a atividade alelopática potencial de substâncias químicas produzidas por *Myrcia guianensis* (Aubletet) A. P. de Candolle. Nesse estudo, foi relatado que o ácido gálico foi responsável pela atividade inibitória da germinação e desenvolvimento de malícia (*Mimosa pudica* L.) e mata-pasto (*Senna obtusifolia* (L.) Irwin & Barneby), duas plantas daninhas. Segundo os autores, as duas plantas responderam de forma diferente ao ácido gálico, sendo que *M. Pudica* foi mais afetada. Desse modo, a inibição esteve associada a dois fatores: concentração e planta receptora. Essa resposta diferente foi atribuída à especificidade entre as plantas receptoras e o ácido gálico.

Também os ácidos elágico e clorogênico, que foram observados na análise dos extratos de *B. trimera*, são descritos como aleloquímicos capazes de inibir o desenvolvimento de outras espécies que não a produtora (ALVES *et al.*, 1999). Ambas as substâncias são comuns em extratos de *Eucalyptus* spp. (FERREIRA; AQUILA, 2000). Os flavonóides catequina, quercetina, quercetrina e rutina também são citados como compostos fitotóxicos com atividade alelopática (BENINGER; HALL, 2005; PARVEZ *et al.*, 2004).

Em geral, os efeitos dos aleloquímicos sobre as plântulas, usando como substrato papel-filtro, são mais drásticos (FERREIRA; AQUILA, 2000). No experimento realizado *in vitro*, já no primeiro tratamento com o extrato, houve uma grande redução na germinação (Tabela 2). A concentração de extrato de 25 g. L<sup>-1</sup> (T2) permitiu apenas 14,75% de germinação, uma redução de aproximadamente 82% em relação ao ,tratamento controle (T1), que teve 85% de sementes germinadas. Os valores do IVG para esse tratamento ficaram em 1,99, esse valor foi aproximadamente 85% menor que T1, que teve IVG de 13,57.

Tabela 2 - Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) de capim-annoni (*Eragrostis plana*) com aplicação de extratos aquosos de carqueja (*Baccharis trimera*) em diferentes concentrações. Santa Maria, RS, 2013.

Tratamentos	G	IVG
	%	
T1	85,00 <sup>a</sup>	13,57 <sup>a</sup>
T2	14,75 <sup>b</sup>	1,99 <sup>b</sup>
T3	3,25 <sup>c</sup>	0,31 <sup>c</sup>
T4	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>
T5	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>
MÉDIA	20,60	3,17
CV (%)	18,14	16,02

T1 – Testemunha; T2 - 25 g. L<sup>-1</sup>; T3 - 50 g. L<sup>-1</sup>; T4 - 75 g. L<sup>-1</sup>; T5 - 100 g. L<sup>-1</sup>. Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si a 5% pelo teste de Tukey.

Em T3, com concentração de 50 g. L<sup>-1</sup>, houve 3,25% de germinação, uma redução de aproximadamente 96% em relação a T1. O valor do IVG também foi afetado, ficando em 0,31, esse valor foi 97% menor que T1.

Nas concentrações de 75 g.L<sup>-1</sup> (T4) e 100 g.L<sup>-1</sup> (T5) nenhuma semente de *E. plana* germinou. Sendo que os tratamentos T3, T4 e T5 não apresentaram diferença estatística significativa entre si.

CLAUDINO e CARVALHO (2004), avaliaram os efeitos do extrato bruto aquoso de carqueja (*B. trimera*) em sementes de soja e milho, sob condições de laboratório, relatando que houve efeito alelopático significativo do extrato da parte aérea de plantas de carqueja na germinação e crescimento de plântulas de soja. Entretanto, a redução maior foi observada somente após a concentração 100 g.L<sup>-1</sup>. Já em relação ao milho, uma gramínea assim como o capim-annoni, houve aumento no número de plântulas anormais, quando submetidas a tratamento com EBA de carqueja, sendo que esse aumento foi maior a partir da concentração de 100 g.L<sup>-1</sup>. Assim, há a possibilidade de que o capim-annoni seja mais sensível ao extrato de carqueja do que soja e milho, pois, no estudo aqui discutido, houve redução na germinação das sementes de capim-annoni a partir da concentração de 25 g.L<sup>-1</sup>.

Em relação ao experimento *ex vitro* a Tabela 3 demonstra que o tratamento controle (T1) teve em média 96% de plântulas emergidas e IVE médio de 7,99. Em T2 a emergência média baixou para 77%, aproximadamente 20% menor em relação ao controle. O IVE também foi reduzido, ficando em 6,35, isso foi 20,5% menor que em T1. Assim como no experimento conduzido *in vitro*, os efeitos do EBA na germinação ou emergência deram-se a partir da concentração mais fraca do EBA. Houve semelhança com os resultados do experimento conduzido *in vitro*, porém, a redução da emergência foi menor do que a redução da germinação, mas estatisticamente significativa para todos tratamentos com EBA.

Em relação às médias do comprimento de folha (CF) e número de perfilhos (N°P) constatou-se que foram maiores em T2, sendo que T1 apresentou CF médio de pouco mais de 50 cm e T2 de 55 cm. Entretanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa, para esses dois tratamentos. Ainda em relação ao CF, para os outros três tratamentos (T3, T4 e T5) houve diferença estatística em relação ao controle, sendo T4 o melhor tratamento para esse aspecto. Esses dados podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3 - Porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de folhas (CF), número de perfilhos (N°P), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de capim-annoni (*Eragrostis plana*) com aplicação de extratos aquosos de carqueja (*Baccharis trimera*) em diferentes concentrações. Santa Maria, RS, 2013.

Trat.	E	IVE	CF	N°P	MFPA	MFR	MSPA	MSR
	%		cm		g	g	G	g
T1	96,00 <sup>a</sup>	7,99 <sup>a</sup>	50,08 <sup>a</sup>	7,36 <sup>ab</sup>	59,30 <sup>a</sup>	36,07 <sup>a</sup>	24,99 <sup>a</sup>	6,82 <sup>ab</sup>
T2	77,00 <sup>b</sup>	6,35 <sup>a</sup>	55,00 <sup>a</sup>	8,16 <sup>a</sup>	61,17 <sup>a</sup>	36,11 <sup>a</sup>	22,42 <sup>a</sup>	8,07 <sup>a</sup>
T3	57,00 <sup>c</sup>	3,55 <sup>b</sup>	44,00 <sup>b</sup>	7,72 <sup>ab</sup>	47,03 <sup>b</sup>	26,98 <sup>ab</sup>	16,30 <sup>b</sup>	6,37 <sup>ab</sup>
T4	56,00 <sup>c</sup>	3,40 <sup>b</sup>	38,74 <sup>c</sup>	5,88 <sup>b</sup>	33,74 <sup>c</sup>	20,20 <sup>bc</sup>	13,53 <sup>b</sup>	5,48 <sup>c</sup>
T5	46,00 <sup>c</sup>	2,27 <sup>b</sup>	41,98 <sup>bc</sup>	7,16 <sup>ab</sup>	27,77 <sup>c</sup>	16,08 <sup>c</sup>	12,65 <sup>b</sup>	4,58 <sup>c</sup>
Média	66,50	4,91	45,96	7,25	45,80	27,09	17,98	6,27
CV (%)	8,59	17,54	5,88	15,6	10,64	18,33	12,86	19,52

T1 – Testemunha; T2 - 25 g. L<sup>-1</sup>; T3 - 50 g. L<sup>-1</sup>; T4 - 75 g. L<sup>-1</sup>; T5 - 100 g. L<sup>-1</sup>. Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si a 5% pelo teste de Tukey.

Já a média do N°P foi estatisticamente superior em T2. Sendo que T2 teve em média 8,16 perfilhos por planta e T1 7,36 perfilhos por planta. Esses dados podem ter sido influenciados pela redução da emergência causada pelo EBA em T2, de modo que a redução do número de plantas por parcela facilitou o desenvolvimento das plantas remanescentes. Assim, embora o extrato tenha causado redução na porcentagem de emergência, isso acabou favorecendo as plantas que não sofreram o efeito alelopático do EBA, diminuindo a competição entre plantas nas condições em que o experimento foi conduzido.

O resultado da redução na competição entre as plantas em T2 também pode ser verificado nos demais parâmetros avaliados. Em relação à massa fresca da parte aérea e da raiz (MFPA e MFR respectivamente) não houve diferença estatística em relação ao controle. Para a massa seca da raiz (MSR) T2 apresentou maior peso em gramas do que T1, novamente isso pode ser creditado à redução do número de plantas.

Os tratamentos T3, T4 e T5 não diferiram entre si na porcentagem de emergência média, o mesmo vale para o IVG médio. Sendo que T3 e T4 apresentaram praticamente os mesmos valores para a porcentagem de emergência

(Tabela 3), ambos com aproximadamente 40% menos plântulas emergidas se comparados com T1. O IVE de ambos também foi parecido, sendo que os dois tratamentos obtiveram IVG aproximadamente 43% menor que em T1.

Em T5, tratamento com maior concentração, a redução na emergência foi em média de 46% de plântulas emergidas, isso representou uma redução de 52% em relação ao controle. Além disso, o IVE médio foi aproximadamente 70% menor em relação a T1.

A redução da emergência de plântulas de *E. plana* foi proporcional ao aumento na concentração do EBA de *B. trimera*. Embora a redução não tenha sido tão grande como no experimento *in vitro*, os dados obtidos confirmam a tendência verificada naquele experimento.

É provável que os resultados obtidos *in vitro* tenham sido melhores devido ao maior contato das sementes com o extrato aquoso, pois o papel-filtro absorveu e manteve o EBA em contato direto com as sementes. Devido a isso, observando-se as Tabelas 2 e 3 nota-se que o IVG no experimento conduzido *in vitro* foi superior ao IVE do experimento conduzido *ex vitro*. Por outro lado, houve mais plântulas emergidas no experimento conduzido *ex vitro* do que no conduzido *in vitro*. Muitas vezes o efeito alelopático não é diretamente sobre a germinação, mas sim sobre a velocidade de germinação (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Em condições de campo, o atraso na germinação, verificado no experimento conduzido *ex vitro*, poderia ter reduzido ainda mais a porcentagem de emergência, pois, isso resultaria em maior tempo de exposição ao ataque de microrganismos naturalmente presentes no solo, o que provavelmente inviabilizaria a germinação de muitas sementes.

Os resultados obtidos para o comprimento médio de folhas (CF), que podem ser conferidos na Tabela 3, revelaram que houve redução no tamanho das folhas em T3, T4 e T5. Estatisticamente a redução foi maior em T4 do que em T3, mas igual a T5, sendo de 38,74 cm, aproximadamente 22% menor que o comprimento das folhas de T1, que foi de 50,08 cm. Em T3 e T5 a redução foi menor, ficando em 44,00 cm e 41,98 cm respectivamente, porém, mesmo sendo uma redução menor do que a verificada em T4 foi igualmente significativa em relação a T1.

Em relação à massa seca da parte aérea (MSPA), os tratamentos 3, 4 e 5 não diferiram entre si, mas foram estatisticamente inferiores a T1 (Tabela 3). Já em

relação à massa seca da raiz (MSR) T3 não diferiu do controle, sendo que as plantas que apresentaram maior peso de raiz foram as de T2, talvez isso possa ser explicado pela já mencionada diminuição da competição entre plantas, proporcionada pelo menor número de plântulas emergidas. Todavia, embora T4 e T5 não tenham diferido entre si, foram inferiores ao controle. Em T5 o peso médio das raízes foi aproximadamente 32% inferior a T1.

Os resultados obtidos para o comprimento de folhas e massa seca de parte aérea e raiz demonstram claramente que há interferência no desenvolvimento de capim-annoni quando as suas sementes são tratadas com extrato de *B. trimera*. Se for levado em consideração o período de aplicação do EBA foi relativamente curto (sete dias), os números obtidos ganham maior relevância. Porque, se as aplicações fossem estendidas mais alguns dias, provavelmente haveria um maior controle da emergência e do desenvolvimento do capim-annoni. Os resultados parecem ter sido influenciados pela capacidade de inibir a divisão celular que o extrato de *B. trimera* possui (FACHINETTO; TEDESCO, 2009).

Devido às propriedades inibidoras de germinação do ácido cafeico (ANAYA *et al.*, 1982; WALLER *et al.*, 1986), e também por ter sido o composto observado em maior quantidade no EBA analisado (Tabela 1 e Figura 1), esse parece ser o principal responsável pela redução dos índices de germinação e emergência de plântulas de capim-annoni. Entretanto, para poder-se afirmar isso, seriam necessários mais estudos que avaliassem isoladamente a interação do ácido cafeico, e dos outros compostos identificados, com o capim-annoni.

## CONCLUSÃO

O extrato de carqueja (*B. trimera*) é eficaz no controle da germinação e da emergência de plântulas de capim-annoni (*E. plana*) avaliadas. Da mesma forma, o desenvolvimento vegetativo do capim-annoni foi afetado negativamente pelo extrato.

O extrato de carqueja apresentou vários compostos fenólicos e flavonóides na sua composição. Foram encontrados em maior quantidade: ácido cafeico, ácido clorogênico, isoquercitina e ácido elágico.

## REFERÊNCIAS

ALVES, P.L.C.A.; TOLEDO, R.E.B.; GUSMAN, A.B. Allelopathic potential of *Eucalyptus* spp. In: NARWAL, S.S. (Ed.) **Allelopathy Update**. Enfield, Science Pub., v.2, p.131-148. 1999.

ANAYA, A.L.; RUY-OCOTLA, G.; ORTIZ, L.M.; RAMOS, L. **Potencial alelopático de las principales plantas de um cafetal**. In: JIMENEZ AVILA, E. & GÓMEZ-POMPA, A. (Eds.) *Estudios ecológicos en el agroecosistema cafetalero*. Mexico City, Continental, p.85-94, 1982.

BENINGER, C.W.; HALL, J.C. Allelopathic activity of luteolin 7-O- $\beta$ -glucuronide isolated from *Chrysanthemum morifolium* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.33, p.103–111, 2005.

BONA, C.M. *et al.* **Carqueja: cultive esta idéia**. Curitiba: SEAB-PR, 2002.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 209–222, 2004.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A. Contribuição ao estudo das plantas medicinais (*Baccharis genistelloides*). Viçosa: Ed. UFV, Imprensa Universitária, 2001.

CLAUDINO, G.; CARVALHO, R.I.N. de. Efeito alelopático de extratos de carqueja e confrei em sementes de soja e milho. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**, Curitiba, v.2, n.4, p. 29-40, out./dez. 2004.

DI STASI, L.C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Um Guia de Estudos Multidisciplinar. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 215P, 1996.

DUKE, S. O. *et al.* Chemical from nature for weed management. **Weed Science**, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

FACHINETTO, J.M.; TEDESCO, S.B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11 n.4 2009.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, M.C.; SOUZA, J.R.P. de; FARIA, T.J. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1054-1060, jul./ago., 2007.

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, n. 12(Edição Especial):175-204, 2000.

FRITZ, D. *et al.* Germination and growth inhibitory effects of *Hypericum myrianthum* and *H. polyanthemum* extracts on *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p.44-8, 2007.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L.W.; PIMENTEL, N.W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.1, p.23-28, fev. 2009.

GOULART, I.C.G.R. *et al.* Controle de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana*) com herbicidas pré-emergentes em associação com diferentes métodos de manejo do campo nativo. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, n. 1, p. 181-190, 2009.

KHALIQ, A. *et al.* Differential suppression of rice weeds by allelopathic plant aqueous extracts. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 31, n. 1, p. 21-28, 2013.

KHALIQ, A. *et al.* Naturally occurring phytotoxins in allelopathic plants help reduce herbicide dose in wheat. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 26, n. 12, p. 1156-1160, 2012.

MACIAS, F.A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J.M.G. Search for a standart phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 48 n. 6, p. 2512-2521, 2006.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2 n. 2: p. 176-177. 1962.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, p.231-238, 2003.

MEDEIROS, R.B. de; FOCHT, T. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesq. agrop. gaúcha**, PORTO ALEGRE, v.13, n.1-2, p.105-114, 2007.

PARVEZ M.M. *et al.* Effects of quercetin and its seven derivatives on the growth of *Arabidopsis thaliana* and *Neurospora crassa*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v.32, p.631–635, 2004.

SOUZA FILHO, A.P.S. *et al.* Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta daninha**, Viçosa, v.24, n.4, 2006.

WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A. *et al.* (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz: Serv. Publisher Univesity of Cadiz, v.1, p.231, 1999.

WALLER, G.R. *et al.* Caffeine autotoxicity in *Coffea arabica* L. In: PUTNAM, A.R.; TANG, C.S. (Eds.) **The science of allelopathy**. New York, John Wiley; Sons, p.243-269, 1986.

## DISCUSSÃO

Estudando o potencial de fungos para o controle biológico de *E. plana* (Artigo 1). Foram identificados cinco gêneros de fungos nas sementes de capim-annoni, sendo eles: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. Os gêneros com maior ocorrência nas sementes avaliadas foram *Alternaria* sp. e *Curvularia* sp. com incidência média de 20,5% e 11,75%, respectivamente. Ambos gêneros de fungos foram detectados pelos dois métodos de identificação avaliados (papel de filtro e meio BDA).

O tratamento com NaClO reduziu a média de contaminação das sementes por estes fungos, sem eliminar o gênero *Alternaria* sp., porém, em relação ao gênero *Curvularia* sp. a assepsia foi eficiente. No tratamento de sementes sem assepsia, *Alternaria* sp. teve uma incidência de 32%, pelo método de papel-filtro, e 40% pelo método BDA. A presença de fungos nas sementes tratadas com NaClO pode indicar a presença de esporos de fungos no interior das sementes (AZEVEDO, 1998). De todo modo, a incidência de fungos nesses tratamentos foi baixa, ficando na ordem de 1,16 a 1,5%.

Na média geral, o meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) foi superior ao método do papel filtro para a propagação dos fungos, nas sementes avaliadas. Esses resultados corroboram os obtidos por MAGALHÃES et al. (2008). Segundo os autores, o meio BDA é rico em nutrientes, ao contrário do papel de filtro, e isso provavelmente favoreceu o crescimento de alguns fungos. Pelo método do plaqueamento em meio BDA, tanto na presença quanto na ausência de assepsia, também foi detectada uma baixa incidência (média inferior a 2%) de bactérias, as quais não foram identificadas.

Segundo relatado na literatura científica (SILVA et al., 2007; FERREIRA, 2010; PALLU, 2010; VECHIATO, 2010 e KUHNEM JÚNIOR et al., 2013) os fungos encontrados nas sementes de *E. plana* apresentam patogenicidade em relação a gramíneas, assim é possível que sejam patogênicos também ao capim-annoni. Ademais, os gêneros que apresentam maior potencial de uso parecem ser *Curvularia* sp. e *Fusarium* sp., o primeiro porque apresentou grande incidência nas sementes avaliadas e é um produtor de toxinas (SANTOS et al. 1997), o último pois é um fungo bastante agressivo a muitas espécies vegetais (KUHNEM JÚNIOR et al.,

2013; OLIVEIRA, 2010). Após o isolamento e identificação dos cinco gêneros de fungos citados, foram realizados testes para avaliar a sua ação nas sementes de *E. plana*.

A ação dos fungos isolados nas sementes de *E. plana* foi avaliada em condições de luz e temperatura controladas (semeadura em papel-filtro, testes conduzidos *in vitro*) e também em casa de vegetação (semeadura em substrato hortícola misturado com areia, testes conduzidos *ex vitro*). Com base nesses testes, foi possível observar que, no experimento *in vitro*, os fungos que mais reduziram a porcentagem de germinação foram *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp.

*Curvularia* sp. foi o tratamento que mais reduziu o IVG (índice de velocidade de germinação). Isso pode ter favorecido a contaminação das sementes pelo fungo e, devido a isso, foi o tratamento que apresentou os melhores resultados.

Os fungos inoculados em sementes de *E. plana* apresentam patogenicidade em relação a gramíneas (SILVA et al., 2007; FERREIRA, 2010; PALLU, 2010; VECHIATO, 2010 e KUHNEM JÚNIOR et al., 2013). Entretanto, *Alternaria* sp. e *Aspergillus* sp. não diferiram estatisticamente do controle no que se refere à porcentagem de germinação e ao IVG. Isso pode ter sido resultado da pouca disponibilidade de nutrientes oferecida pelo substrato (papel-filtro) utilizado no experimento *in vitro*. Pois, segundo MAGALHÃES et al. (2008) esse tipo de substrato pode influenciar negativamente o desenvolvimento de certos gêneros de fungos. Segundo SANCHÉZ et al., (2009) *Alternaria* sp. e *Aspergillus* sp. são fungos causadores de danos em gramíneas, entretanto, os resultados do presente trabalho não permitiram chegar a essa conclusão.

O experimento realizado em casa de vegetação (*ex vitro*) demonstrou que os fungos isolados interfeririam na emergência de plântulas e desenvolvimento de *E. plana*. Em relação a emergência, o tratamento que mais reduziu a porcentagem de emergência foi *Aspergillus* sp., com 55,5% de plântulas emergidas, isto é, uma redução de 34% em relação ao controle. Assim como a porcentagem de emergência, o IVE (índice de velocidade de emergência) também teve diminuição significativa no tratamento *Aspergillus* sp. É importante destacar que esse tratamento apresentou o menor IVE, fato decisivo para a contaminação das sementes, pois permitiu ao fungo um período de ação mais prolongado.

Os tratamentos *Fusarium* sp. e *Alternaria* sp. obtiveram resultados parecidos

para a porcentagem de emergência e IVE, porém não foi estatisticamente significativa. *Fusarium* sp. é um gênero produtor de micotoxinas, que podem contaminar alimentos e causar danos em plantas (CALDAS et al., 2002). Esse gênero já foi pesquisado para o controle de *Egeria densa*, planta aquática (BORGES NETO et al., 2005; BORGES NETO e PITELLI, 2004). *Fusarium* sp. é um dos gêneros mais estudados quanto a produção de toxinas, sendo que o grupo mais importante de toxinas são os tricotecenos (TREMACOLDI; FILHO, 2006). No experimento realizado, *Fusarium* sp. também reduziu o comprimento das folhas de *E. plana*, sendo que as plantas ficaram 22% mais curtas em relação a T1.

*Alternaria* sp. foi o segundo melhor tratamento. Os resultados podem ter sido devido a ação de toxinas provenientes do fungo, pois *Alternaria* sp. é um gênero que abriga produtores dessas substâncias (TREMACOLDI; FILHO, 2006).

Além dos experimentos que avaliaram o potencial de fungos para o controle biológico de *E. plana*, também foram realizados testes que avaliaram o efeito alelopático de extratos de carqueja (*B. trimera*) em relação ao capim-annoni e determinaram os compostos fenólicos presentes nos extratos avaliados (Artigo 2). A análise dos extratos de carqueja revelou a presença de compostos fenólicos e flavonóides, sendo eles: ácido gálico; catequina; ácido clorogênico; ácido cafeico; ácido elágico; epicatequina; rutina; isoquercitrina; quercitrina; quercetina canferol e canferol glicosídeo.

O ácido cafeico e seus derivados foram os compostos observados em maior quantidade na análise dos extratos de *B. trimera*. Essas substâncias são xantinas, potentes inibidoras do desenvolvimento de espécies vegetais (FERREIRA; AQUILA, 2000). O principal exemplo de espécie produtora da xantina cafeína é o cafeeiro (*Coffea arabica* L.), essa substância chega a ser fitotóxica até mesmo para plantas jovens da mesma espécie (WALLER et al., 1986). Devido a isso, o ácido cafeico é uma substância que promove o controle natural de espécies invasoras em cafezais (ANAYA et al., 1982).

O ácido gálico é um composto conhecido por ter atividade alelopática (RAMAMOORTHY; PALIWAL, 1993; KILL; YANG-JAI, 1993). SOUZA FILHO et al. (2006) relataram que o ácido gálico foi responsável pela atividade inibitória da germinação e desenvolvimento de malícia (*Mimosa pudica*) e mata-pasto (*Senna obtusifolia*), duas plantas daninhas. Segundo os autores as duas plantas

responderam de forma diferente ao ácido gálico, sendo que *M. Pudica* foi mais afetada.

Também os ácidos elágico e clorogênico, que foram observados na análise dos extratos de *B. trimeria*, são descritos como aleloquímicos capazes de inibir o desenvolvimento de outras espécies que não a produtora (ALVES et al., 1999; WILLIS, 1999). Ambas as substâncias são comuns em extratos de *Eucalyptus* spp. (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Em geral, quando se usa papel-filtro como substrato, os efeitos dos aleloquímicos sobre as plântulas são mais drásticos (FERREIRA; AQUILA, 2000). No experimento realizado *in vitro*, o tratamento com a menor concentração do extrato ( $25\text{g.L}^{-1}$ ), houve uma grande redução na germinação (14,75% de germinação), isto é, uma redução de aproximadamente 82% em relação ao tratamento controle (85% de germinação). Os valores do IVG para esse tratamento ficaram em 1,99; esse valor foi aproximadamente 85% menor que o tratamento controle, que teve IVG de 13,57. Sendo que os tratamentos com as três maiores concentrações de EBA de *B. trimeria* não apresentaram diferença estatística significativa entre si, ficando com médias de germinação próximas a zero.

CLAUDINO e CARVALHO (2004), avaliaram os efeitos do extrato bruto aquoso de carqueja (*B. trimeria*) em sementes de soja e milho, sob condições de laboratório, relatando que houve efeito alelopático significativo do extrato da parte aérea de plantas de carqueja na germinação e crescimento de plântulas de soja. Entretanto, a redução maior foi observada somente após a concentração  $100\text{g.L}^{-1}$ . Assim, há a possibilidade de que o capim-annoni seja mais sensível ao extrato de carqueja, pois no estudo aqui discutido houve redução a partir da concentração de  $25\text{g.L}^{-1}$ .

Em relação aos testes conduzidos em ambiente *ex vitro*, o EBA com concentração de  $25\text{g.L}^{-1}$ , reduziu a média de emergência de plântulas, sendo aproximadamente 20% menor em relação ao controle. O IVE também foi reduzido, ficando em 6,35, isso foi 20,5% menor em relação ao controle. Assim como no experimento conduzido *in vitro*, os efeitos do EBA na germinação ou emergência deram-se a partir da concentração mais fraca. Entretanto, para os outros parâmetros avaliados, a redução foi a partir da concentração de  $50\text{g.L}^{-1}$ .

Assim como no experimento *in vitro* os tratamentos com as três maiores concentrações de EBA de *B. trimera* não apresentaram diferença estatística significativa entre si, ficando com baixas médias de emergência. A redução da emergência de plântulas de *E. plana* foi proporcional ao aumento na concentração do EBA de *B. trimera*. Embora a redução não tenha sido tão evidente como no experimento *in vitro*, os dados obtidos confirmam a tendência verificada naquele experimento.

É provável que os resultados obtidos *in vitro* tenham sido melhores devido ao maior contato das sementes com o extrato aquoso, pois o papel-filtro absorveu e manteve o EBA em contato direto com as sementes. Muitas vezes o efeito alelopático não é diretamente sobre a germinação, mas sim sobre a velocidade de germinação (FERREIRA; AQUILA, 2000).

A semeadura foi feita em substrato esterilizado para que não houvesse interferência de outros fatores no experimento. Entretanto, em condições de campo, o atraso na germinação, verificado no experimento conduzido *ex vitro*, poderia ter reduzido ainda mais a porcentagem de emergência, pois, isso resultaria em maior tempo de exposição ao ataque de microrganismos naturalmente presentes no solo.

Os resultados obtidos para o comprimento de folhas e massa seca de parte aérea e raiz demonstram claramente que há interferência no desenvolvimento de capim-annoni quando as suas sementes são tratadas com extrato de *B. trimera*. Se for levado em consideração que o período de aplicação do EBA foi relativamente curto (sete dias), os números obtidos ganham maior relevância. Porque, se as aplicações fossem estendidas mais alguns dias, provavelmente haveria um maior controle da emergência e do desenvolvimento do capim-annoni nos testes realizados. Os resultados parecem ter sido influenciados pela capacidade de inibir a divisão celular que o extrato de *B. trimera* possui (FACHINETTO; TEDESCO, 2009).

A escassez de referências bibliográficas sobre o tema foi uma dificuldade que teve que ser constantemente contornada. Para isso, foram utilizadas referências de pesquisas com outras espécies, principalmente gramíneas. Talvez, com a condução de novos estudos, poderá ser futuramente possível a produção de um bioproduto seletivo, capaz de controlar *E. plana* e com isso preservar a diversidade natural dos campos do bioma Pampa.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, é possível concluir que:

- Os gêneros fúngicos identificados nas sementes de *E. plana* são: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp.
- Em condições de ambiente *in vitro*, os isolados dos gêneros fúngicos *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp, causam diminuição na germinação de sementes de *E. plana*
- O isolado fúngico mais eficiente na redução do desenvolvimento em estágio inicial de *E. plana* é *Aspergillus* sp. em ambiente controlado *ex vitro*.
- O extrato de carqueja é eficaz no controle da germinação das sementes de capim-annoni. Da mesma forma, o desenvolvimento do capim-annoni é afetado negativamente pelo extrato.
- O extrato de carqueja apresenta vários compostos fenólicos e flavonóides na sua composição.
- Foram encontrados em maior quantidade: ácido cafeico, ácido clorogênico, isoquercitina e ácido elágico.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, P.L.C.A.; TOLEDO, R.E.B.; GUSMAN, A.B. Allelopathic potential of *Eucalyptus* spp. In: NARWAL, S.S. (Ed.) **Allelopathy Update**. Enfield, Science Pub., v.2, p.131-148. 1999.
- ANAYA, A.L.; RUY-OCOTLA, G.; ORTIZ, L.M.; RAMOS, L. **Potencial alelopático de las principales plantas de um cafetal**. In: JIMENEZ AVILA, E. & GÓMEZ-POMPA, A. (Eds.) *Estudios ecológicos en el agroecosistema cafetalero*. Mexico City, Continental, p.85-94, 1982.
- AZEVEDO, J.L. Microrganismos endofíticos. In: I.S. MELO & J.L. AZEVEDO (eds.). **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna, Embrapa-CNPMA. 1998.
- BARRETO, R.W. Controle biológico de plantas daninhas com fitopatógenos. Livro *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Bettiol, W.; Morandi, M.A.B. (Eds). **Embrapa Meio Ambiente**. Jaguariúna, SP. 2009.
- BOLDRINI, I. I. Campos do Rio Grande do Sul: Caracterização Fisionômica e Problemática Ocupacional. **Boletim do Instituto de Biociências**, Porto Alegre, n. 56, p. 1-39, 1997.
- BOLDRINI, I. I. et al. Morfologia e taxonomia de gramíneas Sul-Rio-Grandenses. **Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, p. 45-47. 2005.
- BOLDRINI, I.L.; A flora dos Campos do Rio Grande do Sul. **Livro Campos Sulinos**. Cap. 5. Pág 63 – 77, 2009.
- BONA, C. M. et al. Carqueja: cultive esta idéia. **Curitiba: SEAB-PR**, 2002.
- BORGES NETO, C.R.; GORGATI, C.Q.; PITELLI, R.A. Influência do fotoperíodo e da temperatura na intensidade de doença causada por *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *Egeria najas*. **Planta Daninha** 23: 449:456. 2005.
- BORGES NETO, C.R.; PITELLI, R.A. Adjuvantes e herbicidas e a infectividade de *Fusarium graminearum*, agente potencial de biocontrole de *Egeria densa* e *Egeria najas*. **Planta Daninha** 22:77-83. 2004.

BURKART, A. Evolution of grasses and grasslands in South America. **Taxon** 24: 53-66, 1975.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A. Contribuição ao estudo das plantas medicinais (*Baccharis genistelloides*). **Viçosa: Ed. UFV**, 2001.

CALDAS, E.D.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N. Aflotoxins and ochratoxin A in food and the risk to human health. **Revista de Saúde Pública**. 36: 319-323.2002.

CARVALHO, P.C.F. et al. Produção Animal no Bioma Campos Sulinos. **Brazilian Journal of Animal Science**, João Pessoa, v. 35, n. Supl. Esp., p. 156-202, 2006.

CDB. Convenção sobre Diversidade Biológica. **Ministério do Meio Ambiente – MMA**. Brasília – DF. 1992.

CHARUDATTAN, R. The mycoherbicide approaches with plant pathogens. In: te beest (Ed.) **Microbial control of weeds**. New York: Chapman and Hall, p. 24-57, 1991.

CLAUDINO, G.; CARVALHO, R.I.N. de. Efeito alelopático de extratos de carqueja e confrei em sementes de soja e milho. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**, Curitiba, v.2, n.4, p. 29-40, out./dez. 2004.

CNTBio, Comissão técnica nacional de biossegurança. Decretos. Disponível em: [www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/11967.html](http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/11967.html). Acesso em 1 de novembro de 2013.

DEPINÉ, C. Efeito alelopático de carqueja sobre a germinação de plantas daninhas. **Monografia**. 43p, 2003.

DI STASI, L.C. Plantas Medicinais: Arte e Ciência. Um Guia de Estudos Multidisciplinar. **São Paulo: Ed. Universidade Paulista**. 215p, 1996.

FACHINETTO, J.M.; TEDESCO, S.B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, vol.11 no.4, 2009.

FERREIRA, L.S. Caracterização de isolados de curvularia spp. endofíticos de milho (zea mays l.) por parâmetros morfológicos e moleculares. **Dissertação de**

mestrado. UFPR/GENÉTICA. 2010. Disponível em: [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=201963](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=201963) Acesso: 24 de agosto, 2013.

FERREIRA, N.R. et al. Avaliação alelopática do capim-annoni-2 sobre a germinação de sementes de gramíneas perenes. In: reunião do grupo técnico em forrageiras do cone sul - Grupo Campos. Pelotas. Anais... Pelotas: **EMBRAPA**. 1CD-Rom. Cod. 6-08, 2006.

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *REVISTA Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12(Edição Especial):175-204, 2000.

FOCHT, T. Ecologia e dinâmica do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees), uma invasora dos campos sulinos: prevenção da sua expansão. **Tese de Doutorado**. UFRGS. POA, 2008.

FRITZ, D. et al. Germination and growth inhibitory effects of *Hypericum myrianthum* and *H. polyanthum* extracts on *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p.44-8, 2007.

GISP/Global Invasive Species Programme. *Economic impacts of invasive alien species: A global problem with local consequences*. 2008. Disponível em: <[http://www.cabi.org/files/Ezines/E%20Shots/gispeconomic\\_studies071607.pdf](http://www.cabi.org/files/Ezines/E%20Shots/gispeconomic_studies071607.pdf)> Acesso em: 13 mai. 2012.

GONZALEZ, V.; NIMBAL, C.I.; WESTON, L.A.; CHENIAE, G.M. Inhibition of a photosystem II electron transfer reaction by sorgoleone, a natural product. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45:1415- 1421, 1998.

GOULART, I.C.G.R. et al. Controle de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana*) com herbicidas pré-emergentes em associação com diferentes métodos de manejo do campo nativo. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, n. 1, p. 181-190, 2009.

HEIDEN, G.; IGANCI, J.R.V.; MACIAS, L. *BACCHARIS* SECT. *CAULOPTERAE* (ASTERACEAE, ASTEREA) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Rodriguésia** 60 (4): 943-983. 2009.

KUHNEM JÚNIOR, P.R.; STUMPF, R.; SPOLTI, P.; PONTE, E. M. D. Características patogênicas de isolados do complexo *Fusarium graminearum* e de *Fusarium verticillioides* em sementes e plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43,

n.4, p.583-588, abr, 2013.

IBGE/Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2003. Censo Agropecuário de 1995-1996: Rio Grande do Sul. Disponível em: [www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil\\_2006/defaulttab\\_brasil.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/defaulttab_brasil.shtm) Acesso em: 19 abr. 2012.

IBGE/Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. Mapa da vegetação do Brasil e Mapa de Biomas do Brasil. Disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/biomas2/viewer.htm>. Acesso em: 16 de novembro de 2013.

IBGE/Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Anuário Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro : IBGE, v.56, 1996.

INSTITUTO HÓRUS. Espécies Exóticas Invasoras: Fichas técnicas/*Eragrostis plana*.(2004) Disponível em: [www.institutohorus.org.br/download/fichas/Eragrostis\\_plana.htm](http://www.institutohorus.org.br/download/fichas/Eragrostis_plana.htm). Acesso em: 20 maio. 2012.

KILL, B. S.; YANG-JAI, T. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on undergrowth of red pine forest. **J. Chem. Ecol.**, v. 9, n. 8, p. 1135-1151, 1993.

MACIAS, F.A.; CASTELLANO, D. & MOLINILLO, J.M.G. Search for a standart phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 48 n. 6, p. 2512-2521, 2006.

MAGALHÃES, H. M.; CATÃO, H. C. R. M.; SALES, N. de L.; LIMA, N. F. de; LOPES, P. S. N. Qualidade sanitária de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*) no Norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**. v.38, n.8, p. 2371-2374, 2008.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Dados de rebanho bovino e bubalino do Brasil – 2012. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Dados%20de%20rebanho%20bovino%20e%20bubalino%20do%20Brasil\\_2012.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Dados%20de%20rebanho%20bovino%20e%20bubalino%20do%20Brasil_2012.pdf) . Acesso em 22 de outubro de 2013.

MATOS, D.M.S.; PIVELLO, V.R.O impacto das plantas invasoras nos recursos naturais de ambientes terrestres:alguns casos brasileiros. **Cienc. Cult**, vol.61, n.1, pp. 27-30. 2009.

MEDEIROS, R.B. de et al. Longevidade de Sementes de *Eragrostis plana* Nees, em um Solo de Campo natural. In: reunião del grupo técnico regional del cono sur en mejoramiento y utilización de los recursos forrajeros del área tropical y subtropical – **Grupo Campos**, 20., 2004, Salto. Memorias... Salto, v. 1, p. 213-214, 2004a.

MEDEIROS, R.B. de et al. Expansão de *Eragrostis plana* Ness (capim-annoni-2), no Rio Grande do Sul e Indicativos de Controle. In: reunião del grupo técnico regional del cono sur en mejoramiento y utilización de los recursos forrajeros del área tropical y subtropical, **Grupo Campos**, 20, Salto. Memorias... Salto, p. 208-211, 2004b.

MEDEIROS, R.B. de; FOCHT, T. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul, Brasil. **PESQ. AGROP. GAÚCHA**, PORTO ALEGRE, v.13, n.1-2, p.105-114, 2007.

MEDEIROS, R.B.; SAIBRO, J. C. de; FOCHT, T. et al. Invasão de capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) no bioma Pampa do Rio Grande do Sul. In: PILLAR, V. P.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z. M.S.; JACQUES, A. V. A. (Eds.) **Campos Sulinos: Conservação e uso sustentável de biodiversidade**. Brasília: MMA, Cap. 25, p. 317 – 330, 2009.

MELLO, S.C.M; TEIXEIRA, E.A; NETO, C.R.B. Fungos e seus metabólitos no controle da tiririca. **Embrapa Recusos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, DF. n. 104. 2003.

MORO, M.F.; SOUZA, V.C.; OLIVEIRA-FILHO, A.T.; QUEIROZ, L.P.; FRAGA, C.N. de; RODAL, M.J.N.; ARAÚJO, F.S. de; MARTINS, F.R.M. Alienígenas na sala: o que fazer com espécies exóticas em trabalhos de taxonomia, florística e fitossociologia? **Acta boânica brasileira**, 26(4): 991-999. 2012.

NABINGER C.; MORAES A.; MARASCHIN G.E. Campos in Southern Brazil. In: **Grassland ecophysiology and grazing ecology** (eds. Lemaire G, Hodgson JG, Moraes A & Maraschin GE). CABI Publishing Wallingford, pp. 355-376. 2000.

NACHTIGAL, G. de F. et al. Ocorrência de Ferrugem Associada ao Capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na região de Fronteira da Metade Sul do RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**, vol. 4 No. 2, 2009.

NACHTIGAL, G. de F. Perspectivas do controle biológico do capim-annoni-2 após meio século de invasão no Brasil. Publicado em: **Diário da Manhã** 19/10/2008, pág. 7; Página Rural, 2008.

NARWAL, S.S. Research on allelopathy in India. In NARWAL, S.S. (Ed.) **Allelopathy Update**. Enfield, Science Pub., 1999. v.1, p.123-184.

NIMER, E. Clima. *In*: IBGE (Ed.) - Geografia do Brasil. Região Sul. Rio de Janeiro, IBGE, p. 35-79. 1977.

OLIVEIRA, P.R.P. de M. Variabilidade de isolados de *Fusarium* spp. causadores da podridão vermelha de raiz da soja. 2010. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)**-Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

OLIBONE, D. et al. Crescimento inicial da soja sob efeito de resíduos de sorgo. **Planta daninha**. vol.24 no.2 Viçosa Apr./June 2006.

OVERBECK, G.E. et al. Os Campos Sulinos: um bioma negligenciado. **Livro Campos Sulinos**. Cap 2, pág. 26-41, 2009.

PALLU, A.P.S. Potencial biotecnológico de fungos do gênero e interação com cana-de-açúcar. 2010. 129p. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Universidade de São Paulo. Piracicada, 2010.

PITELLI, R. A. et al. Controle biológico de plantas daninhas. **Jornal Consherb**, São Paulo, p. 4 - 8, 01 jan. 2004.

PYŠEK, P., RICHARDSON, D.M., REJMÁNEK, M., WEBSTER, G.L., WILLIAMSON, M.; KIRSCHNER, J. Alien plants in checklists and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists. **Taxon** 53: 131-143. 2004.

QUADROS, F. L. F. et al. Levantamento das pastagens naturais da região de Santa Maria-RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 921-927, 2003.

RAMAMOORTHY, M.; PALIWAL, K. Allelopathic compounds of *Gliricidia sepium* (Jacq) Kunth ex Walp. and its effect on *Sorghum vulgare* L. **J. Chem. Ecol.**, v. 19, n. 8, p. 1691-1701, 1993.

REIS, J. C. L.; OLIVEIRA, O.L.P. de. Considerações sobre capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Ness). **Circular Técnica N°2. EMBRAPA Bagé**, 1978.

REIS, J. C. L. Capimannoni 2: origem, morfologia, características, disseminação. In: Reunião regional de avaliação de pesquisa comannoni 2., Bagé, 1993. Anais... **Bagé: Embrapa-CPPSUL**, 1993. p. 5-23.

REIS, J.C.L.; COELHO, R.W. Sucessão de culturas no controle de capimannoni-2. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 37., 2000, Viçosa. *Anais... Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 2000. 1 CD ROM. Forragicultura.

RICHARDSON, D.M.; PYSEK, P.; REJMANEK, M.; BARBOUR, M.G.; PANETTA, F.D.; WEST, C.J. Naturalization and Invasion of Alien Plants: Concepts and Definitions. **Diversity and Distributions** 6: 93-107. 2000.

RICE, E. L. Allelopathy. 2. ed. **New York: Academic**, 422 p, 1984.

SANCHÉZ, M.A.A; PÉREZ, E.N.; BOJÓRQUEZ, A.D.A. Contaminantes biológicos de los granos almacenados de importancia socioeconómica en sinaloa. Livro: **Tecnologías de Granos y Semillas. Libros Técnicos: Serie Agricultura**. 1º edição, Universidad Autónoma Indígena De México. México, 2009.

SANTOS, M.F.; RIBEIRO, R.C.W.; FAIAD, M.G.R., SANO, S.M. Fungos associados às sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.1, p.135-139. 1997.

SANTINO. Revista Ecosistemas/Espanha, 2004. In:Tchê Pampa: histórias da natureza gaúcha. Cap. 3, pág 43 **Campos Sulinos - conservação e uso sustentável da biodiversidade** / Valério De Patta Pillar... [et al.]. Editores. – Brasília: MMA, 2009.

SCHNEIDER, T.C.; CRUZ-SILVA, C.T.A. Potencial alelopático do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) sobre o desenvolvimento do milho (*Zea mays* L.) e aveia preta (*Avena strigosa* Schreb). **Revista Thêma et Scientia** – Vol. 2, nº1, jan/jun 2012.

SEMA-RSa, SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO SUL. Governo divulga lista de espécies exóticas que ameaçam ecossistemas do RS. Disponível em: [www.sema.rs.gov.br](http://www.sema.rs.gov.br). Acesso em 1 de novembro de 2013.

SEMA-RSb, SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO SUL. LISTA - ESPÉCIES EXÓTICAS INVASORAS. Disponível em: [www.sema.rs.gov.br/upload/ListaEspeciesExoticasInvasoras.pdf](http://www.sema.rs.gov.br/upload/ListaEspeciesExoticasInvasoras.pdf). Acesso em 1 de novembro de 2013.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E AGRONEGÓCIO. Estatísticas de criações. Disponível em: [www.saa.rs.gov.br/servicos.php?cod=77](http://www.saa.rs.gov.br/servicos.php?cod=77). Acesso em: 13 de maio 2012.

SILVA, A.G. da; CARVALHO, R.I.N. de. Efeito alelopático de extratos de carqueja (*Baccharis trimera*) e confrei (*Symphytum officinale*) em sementes e plântulas de girassol. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 23-32, jan./mar. 2009.

SILVA, G.M.; MAIA, M.S.; MORAES, C.O.C.; MEDEIROS, R.B.; SILVA, C.S.; PEREIRA, D.D. Fungos Associados a Sementes de Cevadilha Vacariana (*Bromus auleticus*) Coletadas nas Plantas e no Solo. **Fitopatol. Bras.** 32(4), jul - ago 2007.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MAIOMONI-RODELLA, R.C.S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.21, n.3, p.343-354, 2003.

SOUZA, J.R.P. de; VIDAL, L.H.I.; VIANI, R.A.G. Ação de extratos aquosos e etanólico de espécies vegetais na germinação de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 197-202, jul./dez. 2002

SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. Alelopatia, Princípios Básicos e Aspectos Gerais. **Embrapa Amazônia oriental**, 260p, 2002.

SOUZA FILHO, A.P.S. *et al.* Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta daninha**, Viçosa, v.24, n.4, 2006.

SUERTEGARAY, D.M.A. **Deserto Grande do Sul: Controvérsia**. 2ª ed. Porto Alegre, Editora da Universidade/UFRGS, 74 p. 1998.

TESSMANN, D.J. Controle biológico: aplicações na área de ciência das plantas daninhas. R.S. Oliveira Jr. et al. (Eds), **Biologia e manejo de plantas daninhas**. 2011.

TOKURA, L.K.; NÓBREGA, L.H.P. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 28, n. 3, p. 379-384, Jul/Set., 2006.

TREMACOLDI, C.R.; FILHO, A.P.S.S. Toxinas produzidas por fungos fitopatógenos:

possibilidades de uso no controle de plantas daninhas. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2006.

VECHIATO, M. H. Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas. 2010. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_3/SementesFlorestais/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm)>. Acesso em: 10 julho de 2013.

WALLER, G.R. *et al.* Caffeine autotoxicity in *Coffea arabica* L. In: PUTNAM, A.R.; TANG, C.S. (Eds.) **The science of allelopathy**. New York, John Wiley; Sons, p.243-269, 1986.

WILLIS, R. Australian studies on allelopathy in Eucalyptus: A review. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, p.201-219. 1999.

ZILLER, S.R. Plantas exóticas invasoras: a ameaça da contaminação biológica. Instituto para o Desenvolvimento de Energias Alternativas e da Auto-sustentabilidade (Ideas) PR. **Ciência Hoje**, 2001. Disponível em: <http://www.institutohorus.org.br/download/artigos/cienhojedez2001.pdf>. Acessado em 22 de novembro de 2013.

ZONNO, M.C.; VURRO, M. Effect of fungal toxins on germination os *Striga hermonthica* seeds. *Weed Research*, v. 39, p

## APÊNDICES

### Artigo 1 - Ação de fungos isolados de sementes de capim-annoni (*Eragrostis plana* ness)

Apêndice A – Resumo da análise da variância para a germinação (G%), experimento *in vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	6380.805556	1276.161111	19.629	0.0000
Repetições	5	160.805556	32.161111	0.495	0.7771
Erro	25	1625.361111	65.014444		
Total corrigido	35	8166.972222			

Apêndice B – Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de germinação (IVG), experimento *in vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	318.572592	63.714518	16.823	0.0000
Repetições	5	0.765558	0.153112	0.040	0.9990
Erro	25	94.680925	3.787237		
Total corrigido	35	414.019075			

Apêndice C – Resumo da análise da variância para a emergência de plântulas (E%), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	5946.666667	1189.333333	24.951	0.0000
Repetições	4	574.166667	143.541667	3.011	0.0427
Erro	20	953.333333	47.666667		
Total corrigido	29	7474.166667			

Apêndice D – Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de emergência (IVE), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	45.963310	9.192662	21.993	0.0000
Repetições	4	4.919300	1.229825	2.942	0.0460
Erro	20	8.359540	0.417977		
Total corrigido	29	59.242150			

Apêndice E – Resumo da análise da variância para o comprimento de folhas (CF), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	812.124000	162.424800	21.328	0.0000
Repetições	4	6.138667	1.534667	0.202	0.9346
Erro	20	152.309333	7.615467		
Total corrigido	29	970.572000			

Apêndice F – Resumo da análise da variância para o número de perfilhos (N°P), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	14.170667	2.834133	7.154	0.0006
Repetições	4	1.133333	0.283333	0.715	0.5913
Erro	20	7.922667	0.396133		
Total corrigido	29	23.226667			

Apêndice G – Resumo da análise da variância para massa fresca da parte aérea (MFPA), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	136.979186	27.395837	0.425	0.8255
Repetições	4	828.819210	207.204803	3.218	0.0342
Erro	20	1287.786499	64.389325		
Total corrigido	29	2253.584895			

Apêndice H – Resumo da análise da variância para massa fresca da raiz (MFR), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	1543.850209	308.770042	3.740	0.0149
Repetições	4	558.608313	139.652078	1.691	0.1914
Erro	20	1651.345184	82.567259		
Total corrigido	29	3753.803705			

Apêndice I – Resumo da análise da variância para massa seca da parte aérea (MSPA), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	443.731163	88.74233	6.430	0.0010
Repetições	4	82.574576	20.643644	1.496	0.2411
Erro	20	276.033671	13.801684		
Total corrigido	29	802.339409			

Apêndice J – Resumo da análise da variância para massa seca da raiz (MSR), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	5	149.193390	29.838678	6.037	0.0015
Repetições	4	16.594412	4.148603	0.839	0.5164
Erro	20	98.855720	4.942786		
Total corrigido	29	264.643522			

**Artigo 2 - Efeito alelopático de extratos de carqueja (*Baccharis trimera* Less) sobre capim-annoni (*Eragrostis plana* Ness)**

Apêndice K – Resumo da análise da variância para a germinação (G%), experimento *in vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	42650.600000	10662.650000	763.566	0.0000
Repetições	7	152.000000	21.714286	1.555	0.1901
Erro	28	391.000000	13.964286		
Total corrigido	39	43193.600000			

Apêndice L – Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de germinação (IVG), experimento *in vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	1103.051568	275.762892	10662.650000	0.0000
Repetições	7	3.995626	0.570804	2.205	0.0646
Erro	28	7.247465	0.258838		
Total corrigido	39	1114.294660			

Apêndice M – Resumo da análise da variância para emergência de plântulas (E%), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	7905.000000	1976.250000	60.517	0.0000
Repetições	4	822.500000	205.625000	6.297	0.0031
Erro	16	522.500000	32.656250		
Total corrigido	24	9250.000000			

Apêndice N – Resumo da análise da variância para o índice vegetativo de emergência (IVE), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	112.400826	28.100207	37.867	0.0000
Repetições	4	14.873266	3.718317	5.011	0.0091
Erro	15	11.131191	0.742079		
Total corrigido	23	138.405283			

Apêndice O – Resumo da análise da variância para o comprimento de folhas (CF), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	852.532000	213.133000	29.201	0.0000
Repetições	4	31.148000	7.787000	1.067	0.4050
Erro	16	116.780000	7.298750		
Total corrigido	24	1000.460000			

Apêndice P – Resumo da análise da variância para o número de perfilhos (N°P), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	14.729600	3.682400	2.860	0.0579
Repetições	4	12.313600	3.078400	2.391	0.0940
Erro	16	20.598400	1.287400		
Total corrigido	24	47.641600			

Apêndice Q – Resumo da análise da variância para massa fresca da parte aérea (MFPA), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	4451.766747	1112.941687	46.846	0.0000
Repetições	4	34.044737	8.511184	0.358	0.8346
Erro	16	380.120867	23.757554		
Total corrigido	24	4865.932351			

Apêndice R – Resumo da análise da variância para massa fresca da raiz (MFR), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	1653.647298	413.411824	16.765	0.0000
Repetições	4	25.104513	6.276128	0.255	0.9027
Erro	16	394.558563	24.659910		
Total corrigido	24	2073.310374			

Apêndice S – Resumo da análise da variância para massa seca da parte aérea (MSPA), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	599.242494	149.810624	28.030	0.0000
Repetições	4	20.935536	5.233884	0.979	0.4463
Erro	16	85.513702	5.344606		
Total corrigido	24	705.691732			

Apêndice T – Resumo da análise da variância para massa seca da raiz (MSR), experimento *ex vitro*.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	4	35.219874	8.804969	5.876	0.0042
Repetições	4	2.351449	0.587862	0.392	0.8111
Erro	16	23.975420	1.498464		
Total corrigido	24	61.546743			

**ANEXOS**

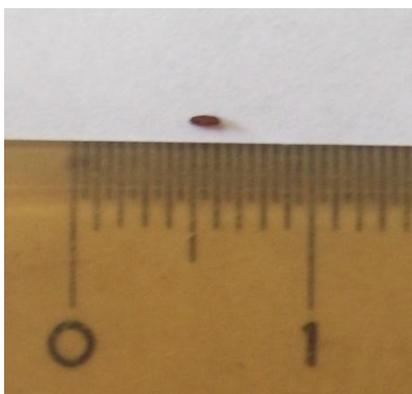
Anexo A – *Eragrostis plana*.



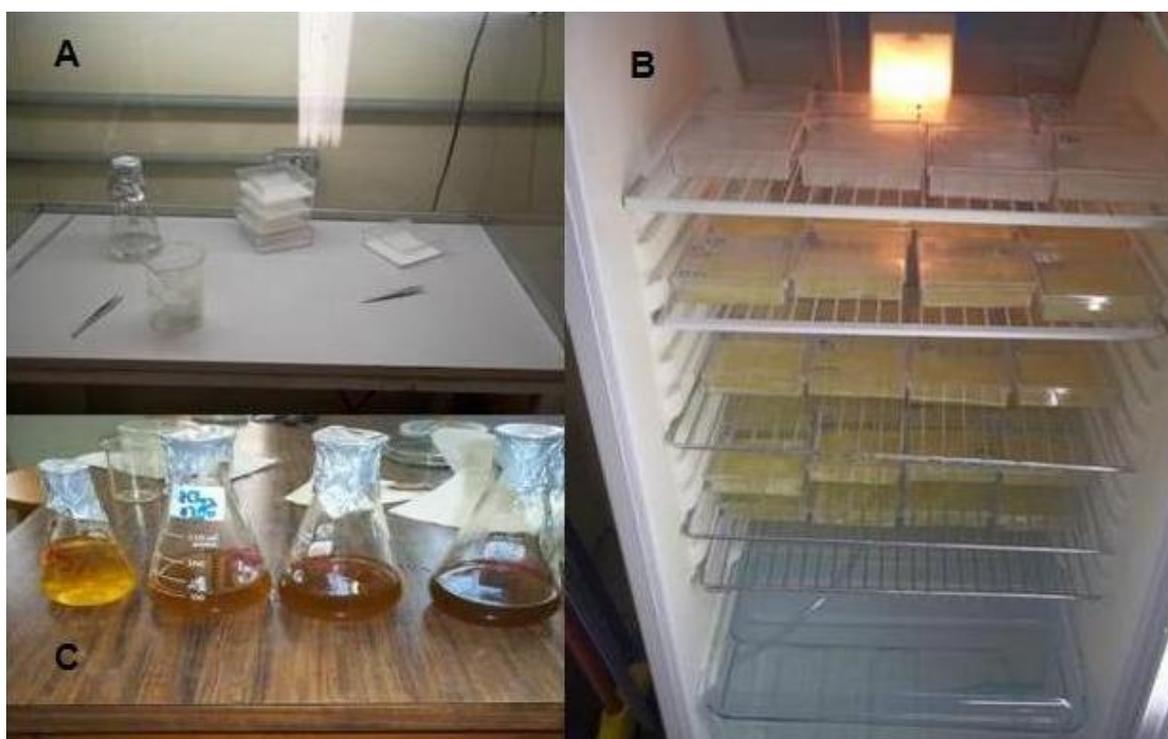
Anexo B – *Baccharis trimera* no local de coleta, Rosário do Sul/RS.



Anexo C – Cariopse de *Eragrostis plana*.



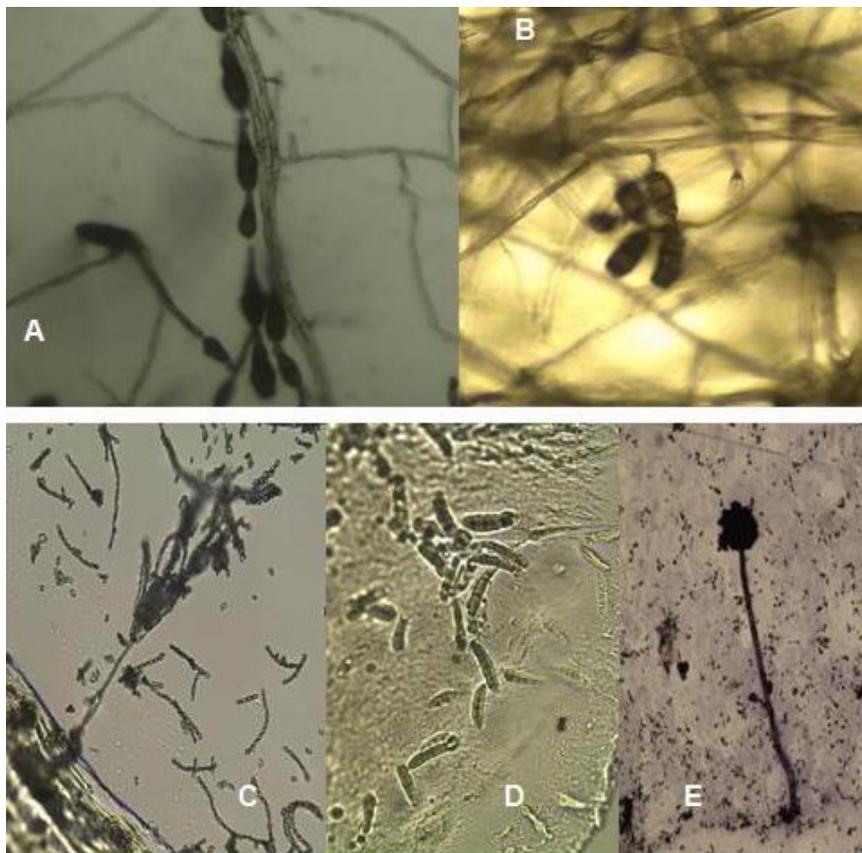
Anexo D – (A) Montagem dos experimentos com extratos de *B. trimera*, conduzidos em laboratório; (B) Parcelas dispostas na câmara BOD; (C) Extratos de *B. trimera*.



Anexo E - (A) Montagem do experimento com fungos, conduzido em laboratório; (B) Parcelas dispostas na câmara BOD; (C) Inoculação de sementes de *E. plana* com diferentes gêneros de fungos.



Anexo F – Imagens microscópicas dos fungos isolados das sementes de *E. plana*: **(A)** *Alternaria* sp.; **(B)** *Curvularia* sp.; **(C)** *Penicillium* sp.; **(D)** *Fusarium* sp. e **(E)** *Aspergillus* sp.



Anexo G – Experimento *ex vitro*: fase inicial (A) e fase final (B).

