

**O EFEITO DO pH E DO POTENCIAL OSMÓTICO SOBRE A GERMINAÇÃO E
O CRESCIMENTO INICIAL DE QUATRO CULTIVARES DE *Brassica oleracea*
var. *capitata* L. (REPOLHO).**

Kelly Cristine da Silva Rodrigues

Monografia apresentada como um dos pré-requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com Ênfase Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Dra. Maria Estefânia Alves Aquila

Porto Alegre, 2000.

BIO
BIO
154

UFRGS - BIBLIOTECA
INST. BIOCÊNCIAS

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	iv
Introdução.....	1
Objetivo.....	5
Materiais e Métodos.....	6
Ensaio de Germinação.....	7
Teste Bioquímico de Viabilidade.....	7
Ensaio de Crescimento.....	8
Resultados e Discussão.....	9
Germinação.....	9
Crescimento.....	11
Figuras.....	14
Conclusões.....	23
Bibliografia.....	24

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Maria Estefânia Alves Aquila por orientar com carinho, generosidade, amizade e compreensão.

Ao laboratório de Fisiologia Vegetal pelo espaço e equipamentos cedidos para a realização deste trabalho.

Aos colegas de laboratório, principalmente ao Biólogo Leandro da Silva Duarte, pela ajuda na análise dos dados.

À FAPERGS pela Bolsa de Iniciação Científica.

Ao graduando Douglas Ortiz Hamermüller, pelo tempo investido no auxílio das práticas de laboratório.

Aos Biólogos Daniela Ripoll, Ane Cláudia Fernandes Nunes, Eduardo Forneck, Paula Dias, Gabriela Severino, Lavinia Schwantes e Alexandre Ducatti (no prelo), por serem os melhores amigos que alguém pode ter.

Aos meus irmãos Marcello, Ana, Ví, Alemão e Lú pelo incentivo e paciência.

À minha avó Doralícia Marcelina Costa da Silva, pelo zelo desde o início.

À minha mãe Vera Maria da Silva Rodrigues pelo exemplo, força e amor, e ao meu pai Gilberto Moraes Rodrigues por estar presente.

RESUMO

Na análise de resultados de trabalhos que investigam alelopatia, encontra-se uma certa dificuldade na interpretação da resposta apresentada pelas plântulas, que pode ser atribuída tanto ao efeito provocado pelos aleloquímicos, quanto às variações de pH e potencial osmótico dos extratos. Nos ensaios utilizados para detectar o potencial aleloquímico de uma planta, empregam-se olerícolas como planta teste, uma vez que estas não possuem problemas de germinação. Assim, o objetivo desse trabalho foi observar o crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* L. em diferentes potenciais osmóticos e pH, com a finalidade de elucidar o problema de controle para os bioensaios envolvendo alelopatia. Para tanto, sementes e plântulas de 4 cultivares de repolho foram submetidas a potenciais osmóticos de -0,1; -0,5 e -1,0MPa gerados por soluções de NaCl e sacarose e pH 3,0 4,0 5,0 e 7,0. A incubação foi em BOD com temperatura constante de 20°C, fotoperíodo de 8 horas de luz com intensidade de 200 W.m⁻². Sementes (n=100) foram embebidas nos diferentes tratamentos, sendo a emergência da radícula (Laboriau, 1983) o critério de germinação adotado. Para o bio-ensaio de crescimento, plântulas (n=100) com 1mm de radícula foram transplantadas para placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada (controle) e com as soluções tratamento. O modelo experimental foi de bloco casualizado com 10 repetições por tratamento. A medida da radícula e do hipocótilo ocorreu no sexto dia depois da montagem do experimento. Os resultados demonstram uma sensibilidade específica de cada variedade em relação aos diferentes tratamentos. Parece existir uma tendência ao efeito inibitório do crescimento dos hipocótilos nos potenciais osmóticos gerados pelas soluções de sacarose e das radículas na solução de NaCl -1,0 MPa. Já nas soluções de pH, as variedades responderam mais uniformemente e de forma específica, sendo observado um possível ajuste do pH do meio pelas plântulas. Os tratamentos de NaCl e sacarose -1,0MPa são os que exercem efeito inibitório mais pronunciado sobre a germinação das cultivares utilizadas.

INTRODUÇÃO

Este trabalho é parte de um complexo que tem por objetivo verificar a ocorrência de alelopatia em Matas de Mirtáceas. Para isso, entre outras espécies, *Brassica oleracea* var. *capitata* L. (repolho) foi selecionada como planta-alvo, por ser uma espécie domesticada e, portanto, não apresentar problemas de germinação, e também porque se mostrou sensível, a campo, à compostagem efetuada com serrapilheira proveniente desta mata (Aquila, comunicação pessoal). Também foi escolhida para este trabalho, porque o mesmo servirá como base para o estabelecimento de controles para os bioensaios subseqüentes.

O repolho é uma erva bianual (produção de sementes), embora para produção comercial das cabeças seja considerado anual. Pertence à família Brassicaceae, apresenta porte baixo, com folhas externas semelhantes às da couve e internas imbricadas, constituindo uma “cabeça” onde internamente se encontra a gema terminal. Suas raízes são abundantes e exploram a camada superficial do solo. Tem importância econômica tanto por seu valor nutritivo (em 100g das folhas encontra-se quantidades consideráveis de pró-vitamina A e sais de K, Ca, Fe, S e Na, p. ex.), quanto comercial, além de ter uso medicinal principalmente no tratamento de abscessos. O repolho é originário de regiões de clima ameno, sendo incapaz de produzir sementes nas regiões quentes de trópicos; requer um pH entre 5,5 e 6,8 (Pimentel, 1985) e não se limita a um tipo especial de solo para se desenvolver, embora a formação da cabeça esteja vinculada à condições de textura do solo.

Segundo Molisch (1937), a alelopatia pode ser definida como o efeito da interação bioquímica entre todas as classes de plantas incluindo microorganismos. Rice (1984), define alelopatia como “qualquer efeito benéfico ou nocivo de uma planta (incluindo microorganismos) sobre outra, através da produção de componentes químicos, liberados no ambiente”.

Interferências de plantas em suas vizinhas podem ocorrer pela competição por recursos do solo, luz, inibição química, ou indiretamente pela ação de outros organismos, como patógenos ou herbívoros (Sandfaer, 1970; Harper, 1977; Fuerst & Puntnam, 1983 apud Weidenhamer, 1996).

No que diz respeito à interação bioquímica, o estudo da alelopatia tem relevância na compreensão das relações inter e intraespecíficas estabelecidas entre plantas, tanto nos ecossistemas naturais, quanto nos manipulados, uma vez que influencia os processos de sucessão vegetacional, a formação de comunidades vegetais e de vegetação clímax, assim como, o estabelecimento e o manejo de culturas agrícolas e horticulturas (Rizvi & Rizvi, 1992).

O conceito sugere que biomoléculas, (especificamente denominadas *aleloquímicos*) produzidas por uma planta e liberadas no ambiente, influenciam subsequentemente o estabelecimento de outras plantas com as quais compartilha o mesmo local por inibirem diferentes fases do desenvolvimento da planta-alvo (Aquila, 2000).

Evidências indicam que os componentes alelopáticos saem das plantas por volatilização, exsudação das raízes, lixiviação pela chuva, ou por decomposição da serrapilheira, sendo absorvidos pelas raízes das plantas vizinhas, e translocados muitas vezes, via floema às suas partes aéreas (Rice, 1984).

A natureza química dos aleloquímicos tem sido discutida em detalhe por Rice (1984). Em sua grande maioria são metabólitos secundários, produzidos como resultado de rotas metabólicas primárias.

Os aleloquímicos podem apresentar efeitos sobre a divisão, o alongamento e a ultra-estrutura das células, afetando também a permeabilidade das membranas e causando inibição da síntese protéica (Rodrigues *et al.*, 1992; Miró *et al.*, 1998; Aliotta *et al.*, 1996). Processos fisiológicos como a ação hormonal na indução do crescimento, a absorção mineral, o fechamento e abertura de estômatos, a fotossíntese, e a respiração, também podem ser alterados por esses componentes (Rice, 1984). A alteração destas funções pode ocasionar entre outros distúrbios, anomalias morfológicas e redução do crescimento das plântulas (Anaya & Pelayo-Benavides, 1997), detectáveis em condições de laboratório e apontadas como diagnóstico para a identificação de alelopatia (Rizvi & Rizvi, 1992).

A constatação em laboratório de fenômenos ecológicos sempre suscita discussões quanto à metodologia, sendo o procedimento mais aconselhável a simulação das condições ambientais, mesmo que de forma controlada (Inderjt & Dakshini, 1995; Baskin & Baskin, 1998; Ferreira & Aquila, no prelo).

Assim, em laboratório, os bio-ensaios de alelopatia são comumente realizados utilizando-se extratos aquosos (uma vez que a água é o solvente natural por excelência) de folhas (ou outras partes da planta-teste, como frutos, por exemplo). O efeito dos extratos pode ser avaliado a partir de ensaios de germinação de diásporos e/ou do crescimento de plântulas (da espécie - alvo) submetidas a estes extratos.

Entretanto, para que a análise dos resultados desses bio-ensaios seja conclusiva na identificação da alelopatia, deve-se descartar a possibilidade de interferência de qualquer fator abiótico que não a atuação dos aleloquímicos (Inderjt & Dakshini, 1995). Segundo Chou & Young (1974), a inibição da germinação e do crescimento da radícula nem sempre é devido às substâncias tóxicas do extrato da planta, podendo acontecer, devido à concentração osmótica e

ao pH do mesmo, sendo que em muitos casos, a pressão osmótica é o agente inibitório mais importante.

O pH, segundo Alberts *et al.* (1997), influencia a estrutura e a função da maioria das macromoléculas, sendo que as proteínas têm um valor específico de pH que otimiza o seu desempenho. As enzimas lisossomais, por exemplo, funcionam melhor em pH baixo (~5) existente nos lisossomos, enquanto que as enzimas citosólicas funcionam melhor no pH próximo da neutralidade (~7,2) existente no citosol das células.

O efeito do pH na germinação tem sido estudado em um grande número de espécies (Justice & Reece, 1954 apud Baskin & Baskin 1998; Tripathi & Srivastav 1970; Hackett & Murray 1987 apud Singh, 1992), existindo aquelas cujas sementes são capazes de germinar em uma ampla faixa de pH, enquanto outras, germinam somente em pH específico, acima ou abaixo dos quais perdem total ou parcialmente suas atividades metabólicas. Sementes de alface (*Lactuca sativa*), por exemplo, têm pH ótimo de germinação na faixa de 3,2 a 4,2 (Baskin & Baskin, 1998).

O potencial osmótico pode ser definido como sendo a tendência da água se mover através de membranas devido à presença de solutos. A pressão osmótica por sua vez, é a pressão que deve ser aplicada a uma solução para impedir o movimento da água (Raven *et al.*, 1996).

Segundo Chou & Young (1974) até a década de 70, poucas investigações acerca dos efeitos da concentração osmótica no desenvolvimento de plantas tinham sido relatadas.

Atualmente, muitos trabalhos têm sido feitos para avaliar o efeito do potencial osmótico do substrato sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas (Rennick & Tiernan, 1978). Entretanto, em sua grande maioria estão relacionados com o estabelecimento de um *osmopriming* (pré-tratamento osmótico) ideal, para espécies com valor comercial. Os

tratamentos mais utilizados nesses ensaios são diferentes concentrações de polietileno glicol (PEG 6000), um “*agente osmótico*” inerte, solúvel em água e incapaz de entrar nas células vegetais (Heydecker e col., 1979 apud Saxena *et.al.* 1987), que simula uma situação matricial, exercendo pressão osmótica sobre a semente e “controlando”, assim, a disponibilidade de água para a mesma.

Apesar disso, poucos são os trabalhos que relatam o efeito osmótico de soluções salinas ou de açúcares. De um modo geral, pesquisas realizadas com sais tendem a abordar a questão do possível efeito tóxico da salinidade, uma vez que, esta tem sido encontrada como a causa para o atraso da germinação (Reddy, Vaidyanath, 1982 apud Singh,1992), redução da germinação (Younis, Hasaneen, Nemet Alla, 1987 apud Singh,1992), e redução do comprimento da radícula (Hackett, Murray, 1987 apud Singh,1992).

OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi observar a germinação de sementes e o crescimento inicial de plântulas de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) em diferentes potenciais osmóticos e pH, com a finalidade de elucidar o problema de controle para os bioensaios envolvendo alelopatia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

Foram utilizadas sementes (ISLA) de quatro cultivares de repolho: A = Louco de Verão; B = 60 Dias; C = Chato de Quintal; D = Coração de Boi, adquiridas em comércio local.

Tratamentos

Três fatores foram estabelecidos:

Fator 1 - soluções de sacarose (Synth) e NaCl (Reagen) com potenciais osmóticos de -0,1; -0,5 e -1,0MPa ;

Fator 2 - soluções aquosas com pH = 3,0; 4,0; 5,0 e 7,0;

Fator 3 - soluções combinando os diferentes pH aos diferentes potenciais osmóticos.

Fator 4 – tratamento controle (água destilada com pH=6,86)

Os valores de pH das soluções postas nas placas de Petri foram ajustados com NaOH 0,1N e HCl 0,1 e 1,0N, utilizando-se pHâmetro modelo TM 38 da Sensortechnik Meinsberg Gmb. Para as avaliações subseqüentes do pH dessas soluções, realizadas durante o andamento dos testes, utilizou-se o indicador “Universalindikator” (Merck) para a faixa de 0 a 14.

Os valores de pressão osmótica das soluções foram calculados a partir das *Tabelas de pressão osmótica com valores de pressão em atmosferas para Soluções molares de sacarose a 20 °C* (segundo dados de A. Urspring & G. Blum / Ber. Deutsch . Bot. Ges. 34:525 – 554,1916 / citado por B. S. Meyer, D. B. Anderson & A. A. Swanson, 1955) e para *Soluções molares de NaCl a 20 °C* (segundo Salisbury & Ross,1992).

Procedimento

ENSAIO DE GERMINAÇÃO

Os testes de germinação foram montados em placas de Petri (5cm), forradas com papel filtro umedecido(3ml) com as diferentes soluções (10sementes/placa, num total de 10 placas). A incubação foi em câmara de cultivo (BOD – Mod. FANEM) a temperatura constante de 20°C , fotoperíodo de 8 horas de luz com irradiância de 465 $\mu\text{.mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O acompanhamento foi feito em intervalos de 12 horas, sendo o período total de 60 horas. O critério de germinação utilizado foi a emergência da radícula (Laboriau, 1983).

Após o período estabelecido, as sementes não germinadas foram lavadas em água destilada, e transferidas para placas de Petri (5cm) forradas com papel filtro umedecido com 3ml de água destilada, onde permaneceram por mais 48 horas.

Teste bioquímico de viabilidade

Aquelas sementes que, mesmo submetidas à lavagem e embebição em água destilada não germinaram, tiveram sua viabilidade testada através do *teste topográfico do tetrazólio*.

Um dos objetivos deste teste bioquímico é o de determinar a viabilidade das sementes que não germinam quando submetidas aos métodos de germinação comumente usados, ou que se encontram dormentes, duras ou firmes (LANARV, 1980).

As sementes foram totalmente imersas em uma solução aquosa de 1% de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio e aí conservadas no escuro à temperatura de 30°C por 24 horas (LANARV,1980). Após as 24 horas, a solução foi escoada, as sementes foram lavadas em água,

cortadas ao meio com o auxílio de uma lâmina, e separadas em duas categorias gerais: A) sementes total ou parcialmente coradas de vermelho (viáveis); B) sementes não coradas de vermelho (não viáveis).

A coloração vermelha é devida à formação nas células vivas, de uma substância estável, não difusível, o *formazan*. O formazan é produto da embebição do sal incolor de tetrazólio (indicador), pela semente, cuja solução interfere com o processo de redução das células vivas aceitando o hidrogênio das desidrogenases. A partir desta reação, é possível distinguir as partes vivas da semente (coradas de vermelho) das partes incolores (mortas).

ENSAIOS DE CRESCIMENTO

Plântulas (n=100) com 1mm de radícula (provenientes de sementes embebidas e germinadas em água destilada) foram transferidas para placas de Petri (9cm) forradas com papel filtro umedecido com 6ml de água destilada com pH=6,86 (controle) e com as soluções tratamento (sacarose e NaCl -0,1; -0,5; -1,0MPa; água destilada com pH 3,0; 4,0; 5,0 e 7,0 e controle). A incubação foi feita nas mesmas condições utilizadas para os ensaios de germinação. O modelo experimental utilizado foi de bloco casualizado com 10 repetições por tratamento.

A medida do comprimento das plântulas ocorreu no sexto dia após a montagem do experimento. Os comprimentos (em centímetro) da parte aérea e da radícula foram medidos diretamente com o auxílio de uma régua.

Após terem sido feitas as análises estatísticas dos resultados obtidos, foram selecionados (para as quatro cultivares) aqueles tratamentos de pH e potencial osmótico, que não diferiram de seus controles, para a realização do experimento combinado dessas duas variáveis, uma vez que,

pretendia-se selecionar a partir dessa etapa um tratamento controle mais próximo do ideal para essas cultivares que pudesse ser empregado em ensaios posteriores de alelopatia.

Os tratamentos utilizados (sem diferença estatística dos seus controles originais) foram: soluções de NaCl -0,5MPa com pH 3,0; 4,0; 5,0 e 7,0 (para cultivar B) e NaCl-0,5MPa com pH 7, 0 (para cultivar C).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do programa estatístico SAS (SAS Inc.). os parâmetros de crescimento da parte aérea medidos durante o experimento foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey para $\alpha=0,05$ (as medidas foram transformadas para \log_{10}). Para as medidas da radícula utilizou-se Kruskal-Wallis. Para os ensaios de germinação os dados foram analisados através do teste de Tukey. A comparação foi feita entre os tratamentos e seus controles.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

GERMINAÇÃO

Os potenciais osmóticos gerados pelas soluções de sacarose e NaCl -1,0MPa, exerceram efeito inibitório sobre a germinação das quatro cultivares (Figs. 1, 2, 3 e 4), sendo que para a cultivar B, essa diferença não foi considerada estatisticamente significativa (para a solução de sacarose). Singh (1992) verificou para quatro cultivares de repolho, distintas das utilizadas nesse estudo, que a germinação não era afetada por soluções de NaCl -0,8694MPa (0,1M) e que três

dessas cultivares germinavam em soluções de $-2,1873$ MPa (0,5M). Essas discrepâncias sugerem uma dependência do cultivar aos tratamentos.

O primeiro processo que ocorre durante a germinação é a captação de água pela semente. Esta captação é devido ao processo de embebição. A embebição é um processo puramente físico que depende da composição da semente, da permeabilidade dos envoltórios da semente (ou diásporos) à água e da disponibilidade de água no ambiente (Meyer & Poljakoff-Mayber, 1974).

A composição do meio de germinação poderá influenciar a embebição das sementes, na medida que esta composição interferir no potencial da água (Meyer & Poljakoff-Mayber, 1974). Em condições em que a água está “retida” solubilizando algum soluto, a disponibilidade desta para a entrada na semente se torna menor, e dessa forma, a embebição e posterior germinação pode ser retardada, ou dependendo da natureza e/ou quantidade de soluto, pode ser prevenida. Essa pode ser a razão para o atraso no tempo mínimo da germinação observado (cerca de 12 horas para NaCl $-1,0$ MPa) e para o decréscimo na germinabilidade das sementes submetidas aos tratamentos de maior potencial osmótico (NaCl e sacarose $-1,0$ MPa; Figs. 5, 6, 7 e 8), sendo importante ainda, considerar o possível efeito tóxico da solução salina em alta concentração. Sendo assim, devido à efeitos osmóticos, à medida que a concentração de solutos aumenta, diminui a embebição.

Não foram observadas diferenças significativas para o bio-ensaio de pH (exceto para a cultivar A em pH3,0 (Fig.9), que teve sua germinação promovida, e para a cultivar C em pH7,0 (Fig. 11), que teve sua germinação inibida). Singh (1992) definiu o pH 5,0 como ótimo para germinação de *Brassica campestris*, no entanto, concluiu que pH ácidos ou básicos inibiam a germinação e o crescimento das plântulas. Tripathi e Srivastav (1970) atribuem essa redução a uma provável inativação enzimática causada por pH extremos. Gilroy & Jones (2000) sugerem

que o pH do meio externo e principalmente o intracelular interfere com o gradiente iônico em pêlos absorventes de raiz e que esta interferência impede o alongamento dessas estruturas.

No teste de tetrazólio, efetuado nas sementes não germinadas de ambos os experimentos comentados acima, todas apresentaram-se totalmente coradas e, destas, apenas duas sementes da cultivar Louco de Verão (para o tratamento NaCl $-0,5\text{MPa}$), foram parcialmente coradas.

CRESCIMENTO

Os resultados demonstram uma sensibilidade específica de cada cultivar em resposta aos diferentes tratamentos. Observou-se uma tendência à inibição do crescimento das radículas e dos hipocótilos nas três soluções de sacarose (exceto para aquela de $-0,1\text{MPa}$ em A e C; Figs. 13 e 15). Os resultados negativos obtidos para sacarose se apresentam inesperados, tendo em vista que, esta é a principal forma de transporte de açúcar na planta (Salisbury & Ross, 1969), sendo a princípio, esperado que a mesma promova e não iniba o crescimento, ou ainda que, não difira do controle. Entretanto, resultados semelhantes a esse já foram descritos para alface, em bio-ensaios onde foi observada uma supressão do crescimento da radícula variando entre 55 e 75% do controle (Chou & Young, 1974).

O íon sódio é absorvido rapidamente pelas raízes de muitas plantas superiores, mas somente uma pequena parte é transportada para os caules e folhas (Salisbury & Ross, 1969). Wallace (1966), obteve evidências de que este elemento é principalmente acumulado nos vacúolos das células das raízes, e movido para o exterior com grande dificuldade. Além disso, trabalhando com “bush beans”, observou que o íon, quando aplicado diretamente nas folhas, parece se depositar nos vacúolos dessas células, não sendo facilmente translocado para as raízes.

Entretanto, para todas as cultivares de repolho utilizadas nesse experimento, observou-se um efeito inibitório sobre o crescimento das plântulas submetidas ao tratamento de NaCl de $-1,0\text{MPa}$ (Figs. 13, 14, 15 e 16). Este resultado sugere que, no caso do repolho, o transporte do sódio não seja restrito, sendo o elemento capaz de atingir também a parte aérea, podendo em altas concentrações inibir o crescimento. Essa observação pode estar relacionada ao seu efeito tóxico, uma vez que, o efeito osmótico não depende da translocação do elemento até a parte afetada. Sendo assim, o elemento pode exercer efeito osmótico sobre a raiz, e, indiretamente afetar a parte aérea. Já o efeito tóxico por sua vez, depende da chegada do elemento até a região da planta a ser afetada (Dillenburg, comunicação pessoal). Significante redução do comprimento da radícula de *Brassica campestris* foi observada gradualmente com o acréscimo na concentração de sal (Singh, 1992). Dhawan *et al.* (1987) obtiveram semelhante resultado na percentagem de germinação, no comprimento do hipocótilo e da radícula para 9 variedades de espécies de *Brassica*. Omaliko & Ene-Obong (1987) observaram efeito inibitório do NaCl mais pronunciado na radícula do que no total de germinação, embora não tenham atribuído os resultados ao efeito osmótico das soluções, mas à salinidade (Singh, 1992). É importante ainda salientar que a solução de NaCl $-0,1\text{MPa}$ apresentou efeito promotor sobre o crescimento da parte aérea nas cultivares A, C e D. Esse resultado pode estar relacionado ao efeito promocional do elemento Cloro em baixas concentrações (Dillenburg, comunicação pessoal).

Aos tratamentos de pH, as cultivares B e D responderam mais uniformemente, não se observando diferenças estatísticas em relação aos seus controles (Figs. 14 e 16). Para o bioensaio de pH como um todo, nenhum efeito inibitório sobre o crescimento foi observado, as únicas diferenças estatísticas estão relacionadas à promoção do crescimento (da parte aérea – Figs. 13 e 15), e não a sua inibição. Além disso, para todos os tratamentos de pH utilizados,

observou-se ao término do experimento, um pH final próximo a 5,0, sugerindo que as plântulas ajustam o pH do meio onde crescem (Ferreira *et al.*, 1994).

Segundo Pimentel (1985) o repolho requer um pH ótimo de crescimento que abrange a faixa entre 5,5 a 6,8. No entanto, resultados em que houve promoção do crescimento do hipocótilo, quando comparada ao tratamento controle, foram observados para duas cultivares (A e C) em pH mais baixos (entre 3,0 e 5,0). Essa resposta pode estar relacionada ao(s) pH(s) ótimo(s) de crescimento para essas cultivares de repolho (Baskin & Baskin, 1998).

CRESCIMENTO (pH + P.O.)

As cultivares A e D não foram consideradas neste ensaio, uma vez que, em todos os tratamentos de pH e potencial osmótico, pelo menos uma medida (de parte aérea ou radícula) diferiu de seu respectivo controle. Foram então selecionadas para tanto, as cultivares B (para NaCl -0,5MPa com pH ajustado para os valores 3,0; 4,0; 5,0 e 7,0) e C (para NaCl-0,5MPa com pH7,0).

Todos os tratamentos diferiram dos seus controles para a cultivar B (Fig.17), não sendo observada essa diferença para o único tratamento ao qual foi submetida a cultivar C (Fig.18). Sugere-se, então, que de todos os tratamentos utilizados, seja o de NaCl -0,5MPa+pH 7,0 o controle mais próximo do ideal (dos até então testados) para um experimento alelopático com essa cultivar.

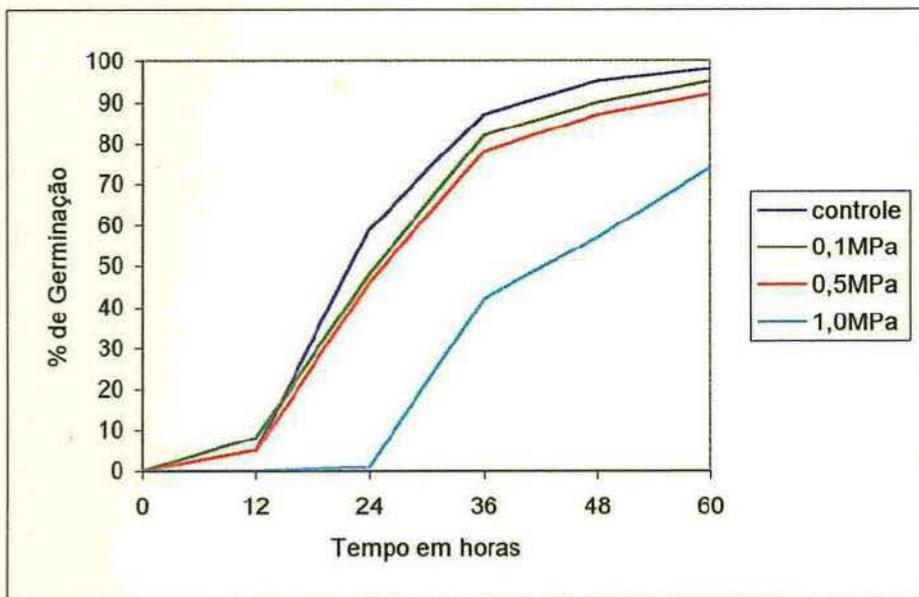


Figura 1. Curva de germinação de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Louco de Verão (A) em diferentes potenciais osmóticos gerados por soluções de NaCl. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

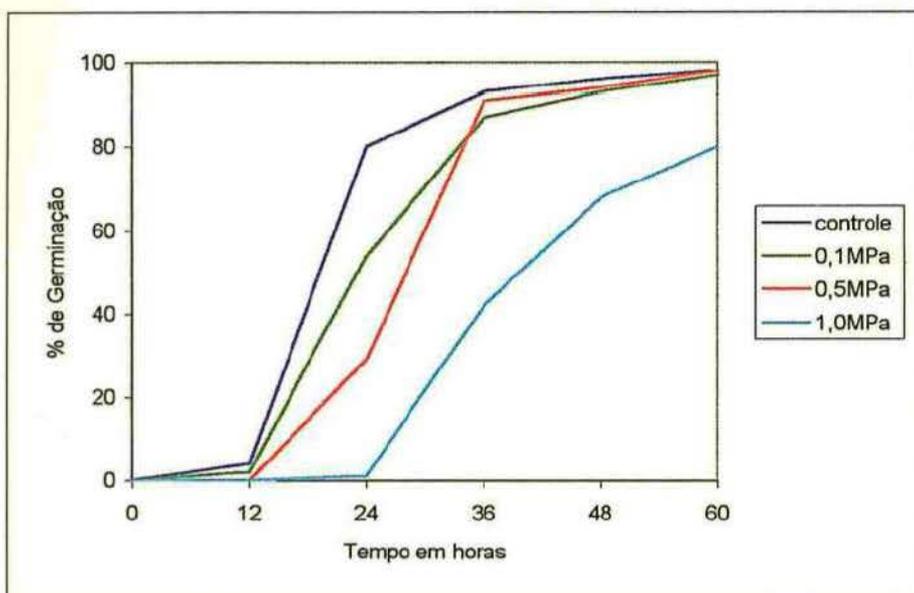


Figura 2. Curva de germinação de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar 60 Dias (B) em diferentes potenciais osmóticos gerados por soluções de NaCl. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

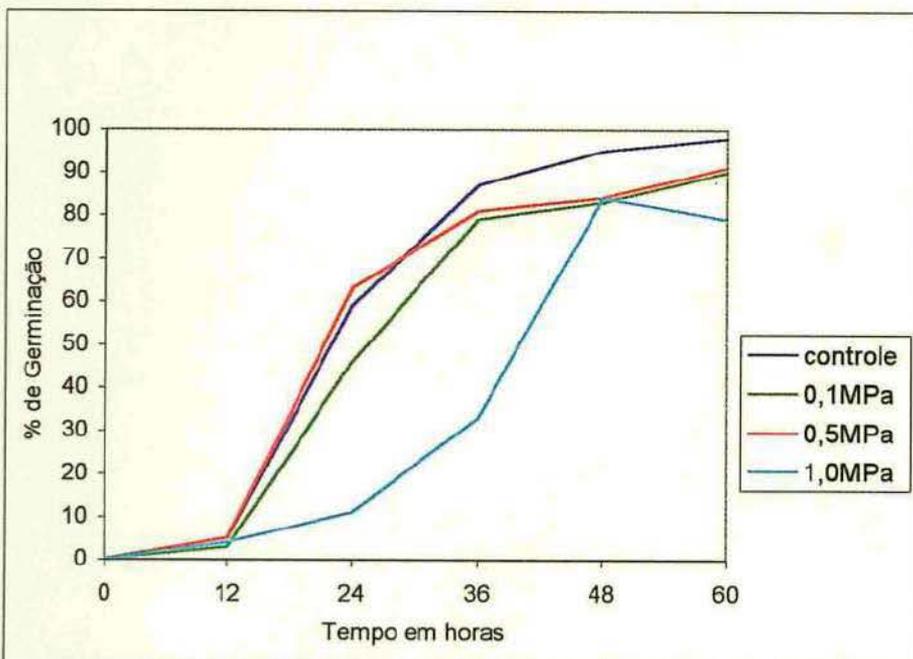


Figura 5- Curva de germinação de *Brassica oleracea* var *capitata* cultivar Louco de Verão (A) em diferentes potenciais osmóticos gerados por soluções de sacarose. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

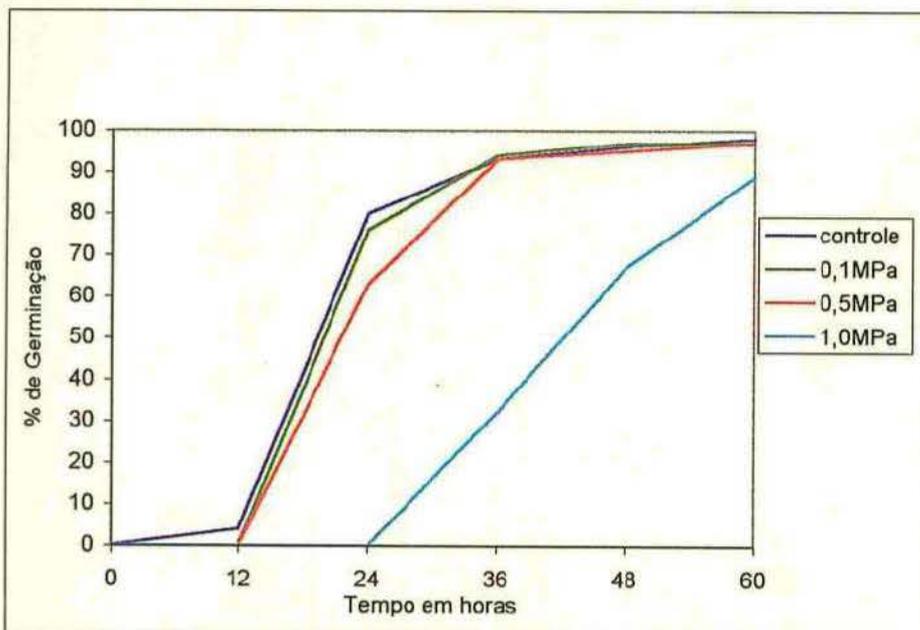


Figura 6 - Curva de germinação de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar 60 Dias (B) em diferentes potenciais osmóticos gerados por soluções de sacarose. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

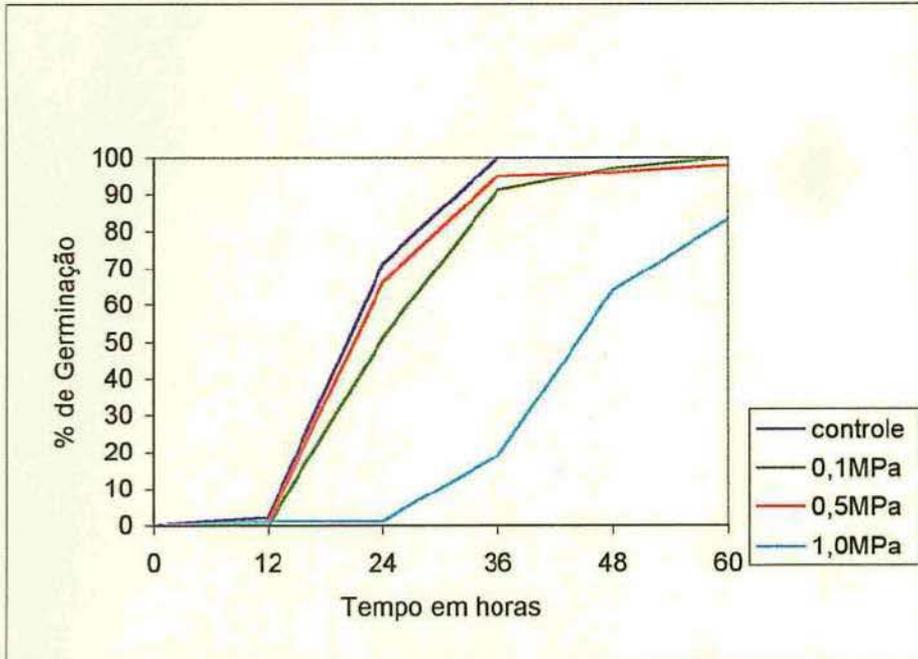


Figura 7. Curva de germinação de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Chato de Quintal (C) em diferentes potenciais osmóticos gerados por soluções de sacarose. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

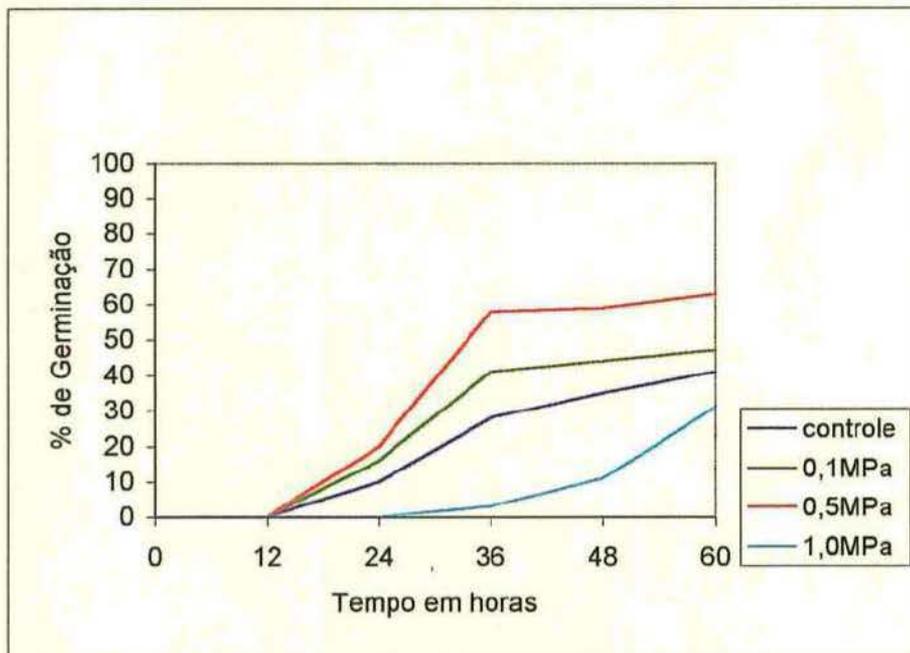


Figura 8. Curva de germinação de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Coração de Boi (D) em diferentes potenciais osmóticos gerados por soluções de sacarose. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

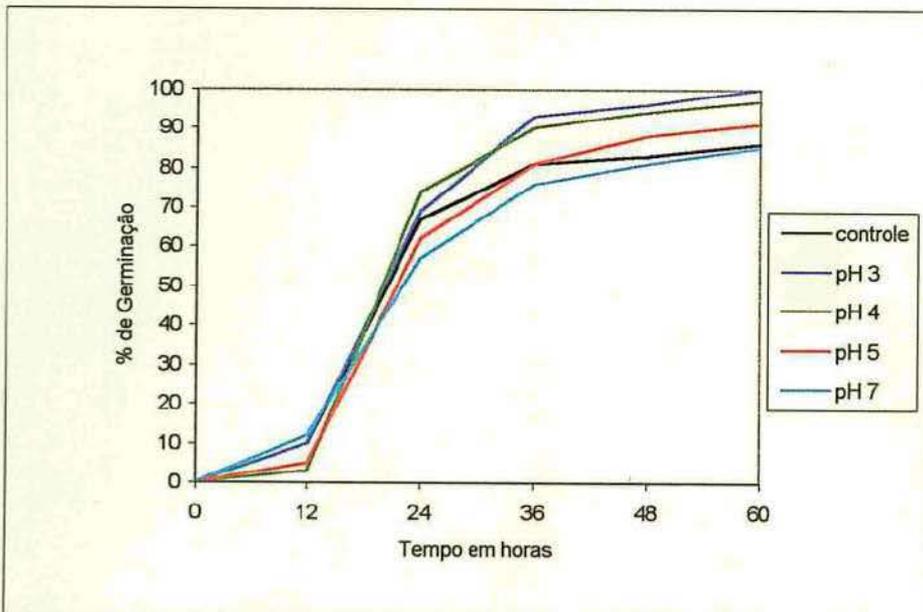


Figura 9 - Curva de germinação de *Brassica oleracea* var *capitata* cultivar Louco de Verão (A) em diferentes pH. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

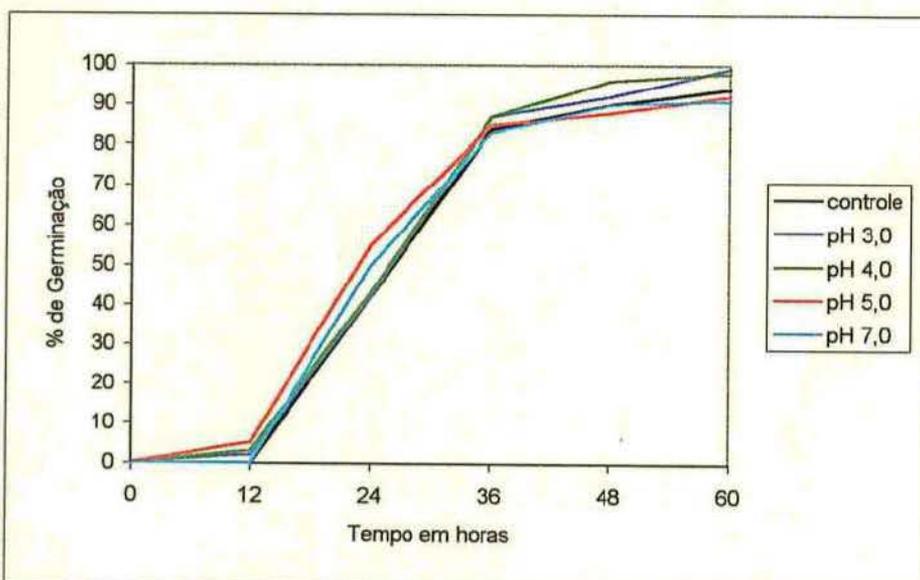


Figura 10 - Curva de germinação de *Brassica oleracea* var *capitata* cultivar 60 Dias (B) em diferentes pH. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

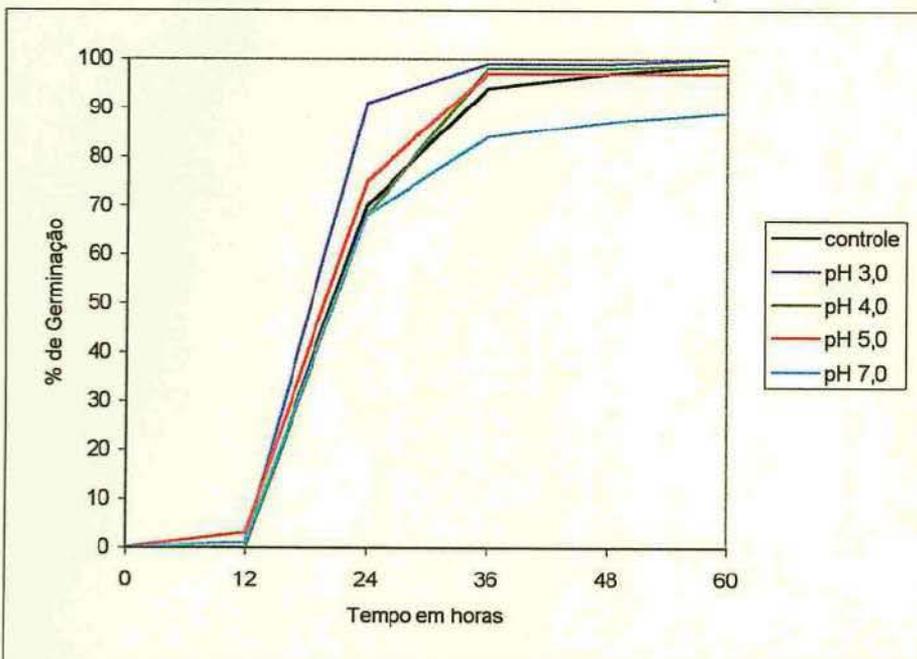


Figura 11 - Curva de germinação de *Brassica oleracea* var *capitata* cultivar Chato de Quintal (C) em diferentes pH. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

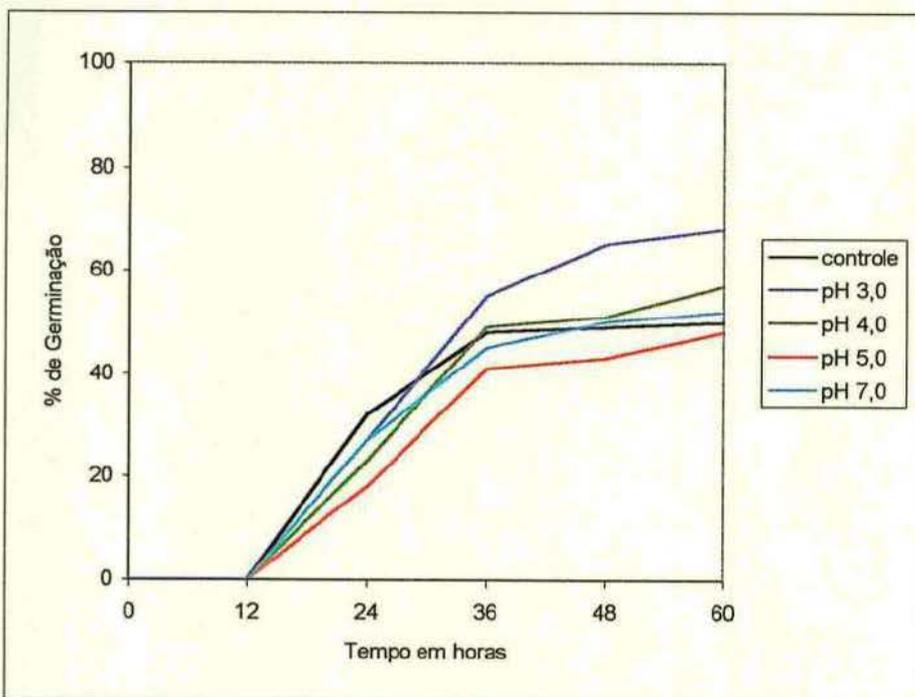


Figura 12 - Curva de germinação de *Brassica oleracea* var *capitata* cultivar Coração de Boi (D) em diferentes pH. Número total de sementes (100). Dados de germinação acumulados.

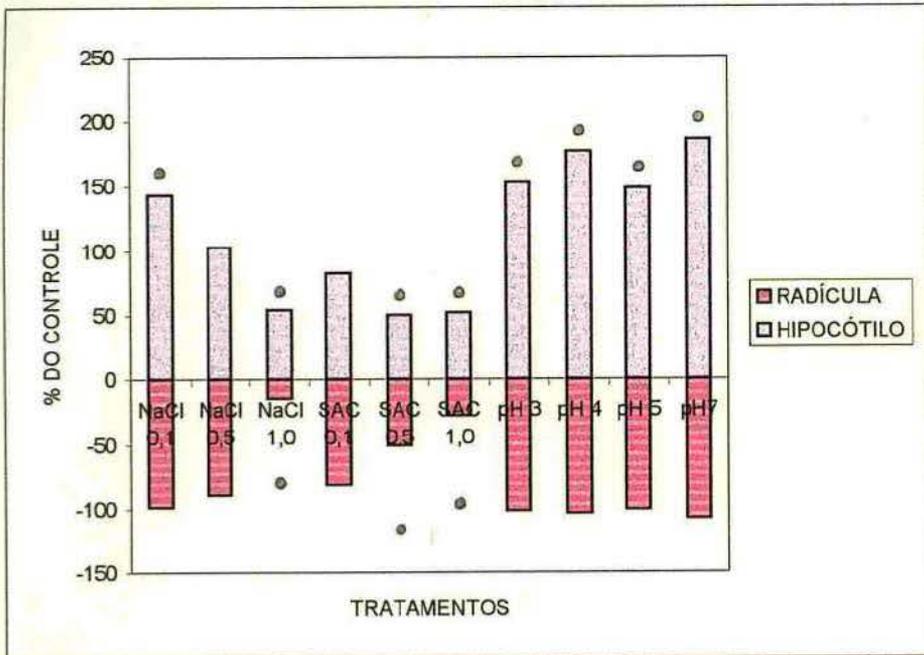


Figura 13. Crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Louco de Verão (A) em diferentes pH e potenciais osmóticos. Valores médios em % do controle para n=100. Nas barras assinaladas com ● há diferença estatística para $\alpha = 0,05$. ANOVA & Tukey.

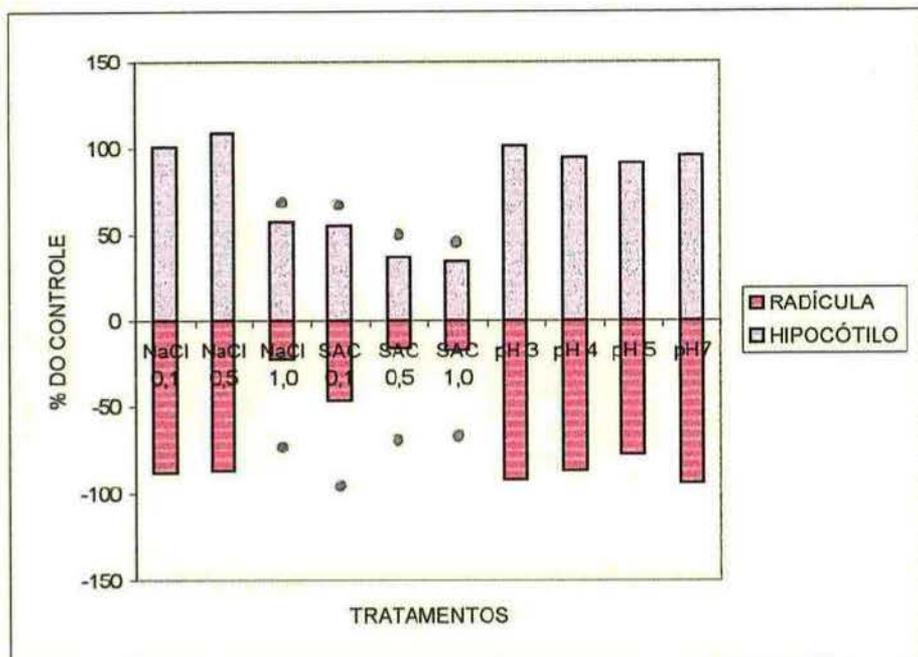


Figura 14. Crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar 60 Dias (B) em diferentes pH e potenciais osmóticos. Valores médios em % do controle para n=100. Nas barras assinaladas com ● há diferença estatística para $\alpha = 0,05$. ANOVA & Tukey.

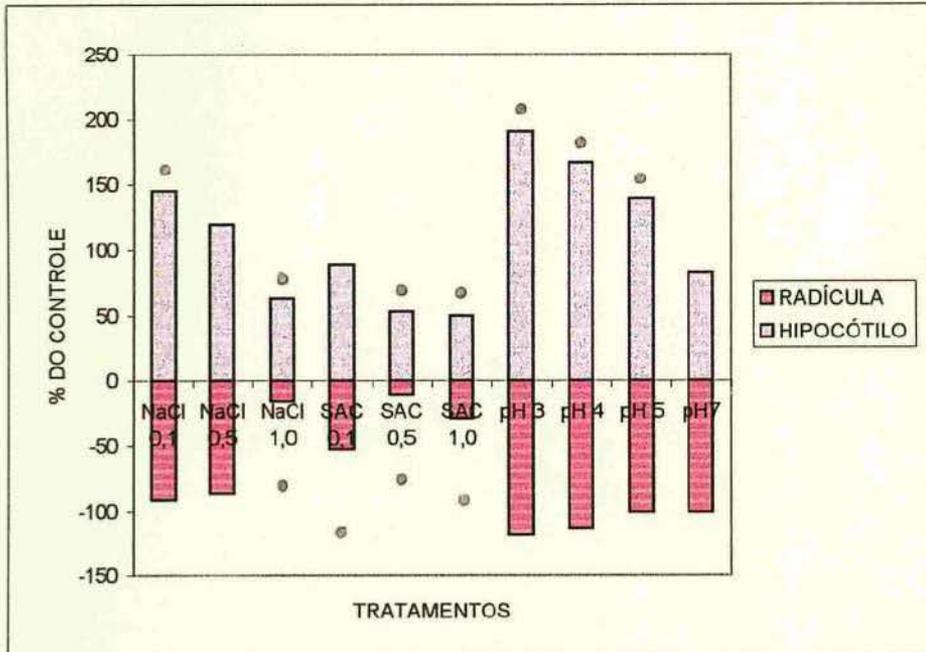


Figura 15. Crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Chato de Quintal (C) em diferentes pH e potenciais osmóticos. Valores médios em % do controle para n=100. Nas barras assinaladas com ● há diferença estatística para $\alpha = 0,05$. ANOVA & Tukey.

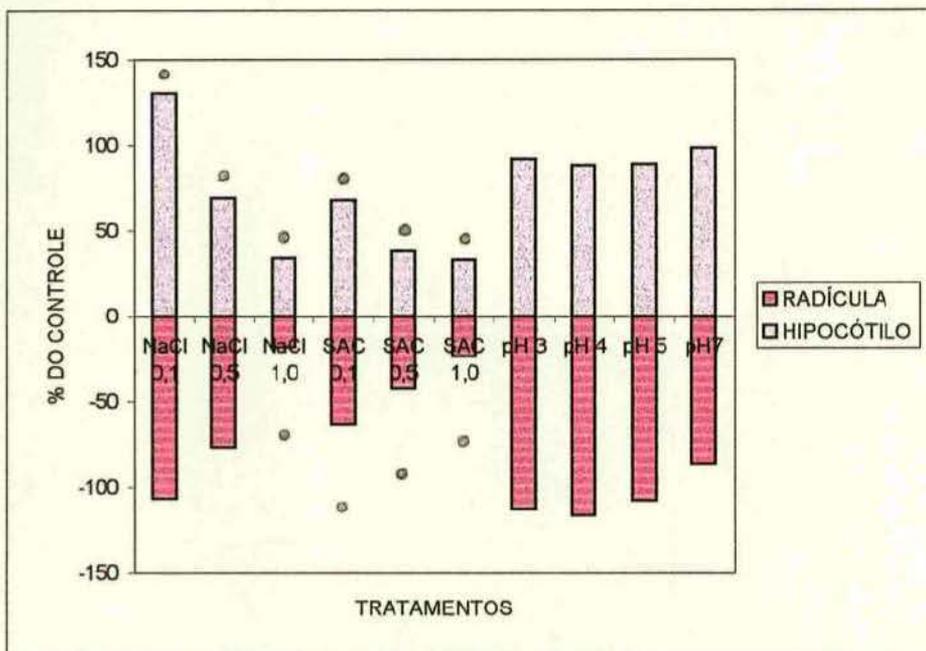


Figura 16. Crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Coração de Boi (D) em diferentes pH e potenciais osmóticos. Valores médios em % do controle para n=100. Nas barras assinaladas com ● há diferença estatística para $\alpha = 0,05$. ANOVA & Tukey.

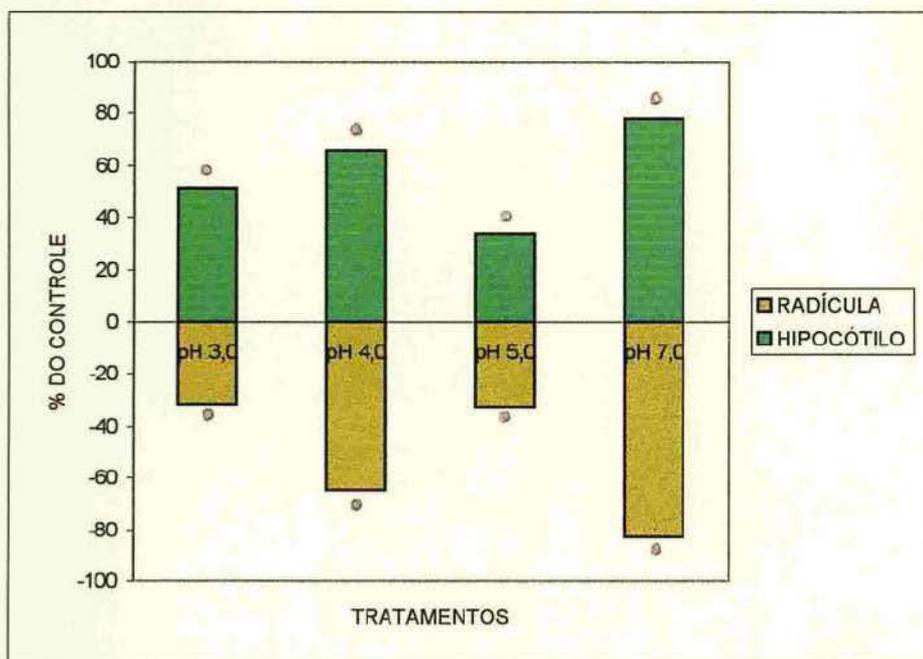


Figura 17. Crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar 60 Dias (B) em solução de NaCl -0,5MPa a diferentes pH. Valores médios em % do controle para n=100. Nas barras assinaladas com ● há diferença estatística para $\alpha = 0,05$. ANOVA & Tukey.

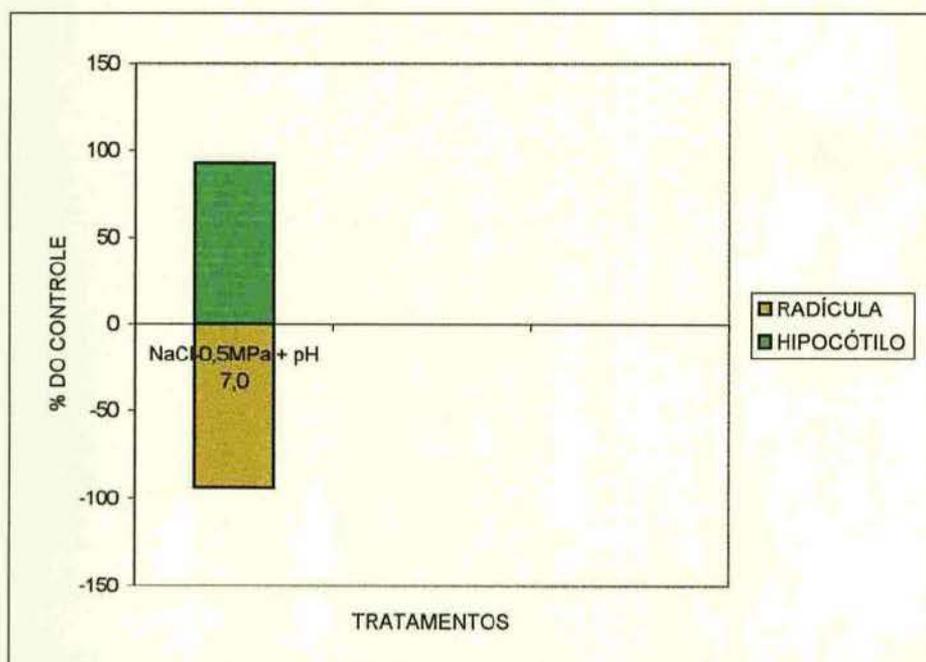


Figura 18. Crescimento de plântulas de *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivar Chato de Quintal (C) em solução de NaCl -0,5MPa com pH 7,0. Valores médios em % do controle para n=100. Nas barras assinaladas com ● há diferença estatística para $\alpha = 0,05$. ANOVA & Tukey.

CONCLUSÕES

Os resultados deste experimento sugerem que o potencial osmótico dos tratamentos tem efeito mais pronunciado tanto sobre a germinação, quanto sobre o crescimento das cultivares utilizadas, quando comparado ao pH (Chou & Young, 1974).

As plântulas de repolho são capazes de ajustar o pH do meio em que se desenvolvem (Ferreira *et al.*, 1994), não se apresentando igualmente tolerantes à maiores alterações na concentração de soluto das soluções as quais são submetidas.

Embora não tenha sido o objetivo desse trabalho abordar o efeito tóxico da salinidade sobre os cultivares, é importante ressaltar que possivelmente este, juntamente com o efeito osmótico, tenha também exercido influência sobre os resultados de germinação e crescimento naqueles tratamentos de NaCl em maior concentração.

O efeito sobre a germinação dos cultivares parece ser preponderantemente em relação ao atraso do tempo mínimo de emergência da radícula, sendo que em termos de germinabilidade, somente se obteve resposta negativa nos tratamentos de potenciais osmóticos $-1,0\text{MPa}$, gerados por soluções de sacarose e NaCl. Este resultado está de acordo com aqueles encontrados em ensaios alelopáticos (Winter, 1961) em que o retardo do tempo mínimo se apresenta mesmo em baixas concentrações de extratos e a inibição da germinação ocorre em altas concentrações.

O tratamento de controle ideal para bio-ensaios alelopáticos com repolho (dos testados até o presente momento), parece ser a combinação do potencial osmótico gerado pela solução de NaCl $-0,5\text{MPa}$ com pH 7,0 para a cultivar Chato de Quintal (C), em contrapartida à água destilada comumente utilizada, uma vez que essa solução simula uma situação mais próxima da encontrada na natureza.

PERSPECTIVAS

Para uma melhor elucidação do efeito do potencial osmótico e do pH sobre a germinação e o crescimento de plantas, deverá ser explorado em estudos posteriores, uma faixa maior de valores intermediários combinados entre si e a observação do estabelecimento e desenvolvimento a longo prazo das plântulas cujas sementes tiveram seu tempo mínimo de germinação afetado pelos tratamentos. Além disso, se faz necessário a realização de experimentos a campo, assim como, a abordagem dos mecanismos fisiológicos envolvidos nas respostas observadas.

BIBLIOGRAFIA

- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. & WATSON, J.D. 1997. *Biologia Molecular da Célula*. 3 ed. Porto Alegre, Artes Médicas, 1294p.
- ALIOTTA, C., CAFIERO, G., OLIVA, A. 1996. Morpho-physiological and anatomical responses of radish and purslane seeds to rue infusion. In : FIRST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, Andalusia. Resumos...Cádiz: ISA/SAI, 1996. p.137.
- ANAYA, A. L., PELAYO-BENAVIDES, H.R. 1997. Allelopathic potencial of *Mirabilis jalapa* L. (Nyctaginaceae): Effects on germinayion, growth and cell division of some plants. *Allelopathy Journal*, Hisar, v.4, n 1, p.57-68.
- AQUÍLA, M. E. A. 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. *IHERINGIA*, Sér. Bot. 53:51-66.
- BASKIN, C. C. & BASKIN, J. M (eds.) 1998. *Seeds – Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, New York, 666p.
- BRASIL, 1980. Regras para análise de sementes. Laboratório Nacional de Referência Vegetal - LANARV. Ministério da Agricultura – Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária SNAD. 91-106.
- CHOU, C. H. & YOUNG, C. C. 1974. Effects of osmotic concentration and pH on plant growth.. *Taiwania* Vol. 19, No 2: 157-165.
- DHAWAN, R. S., SHARMA, D. R. & CHOWDHARY, J. B. 1987. Effect of salinity on germination and yield components in three species of *Brassica* . *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 57(2) : 107-11.

- FERREIRA, A. G. & AQUILA, M. E. A. (no prelo). Alelopatia; uma área emergente da Ecofisiologia. Rev. Bras. Fisiol. Veg.
- FERREIRA, A. G., BORGHETTI, F., SCHWAMBACK, L. & SILVEIRA, T. S. 1994. Efeito do substrato e pH no desenvolvimento inicial de plantas. Caderno de Pesquisa Sér. Bot., Santa Cruz do Sul, 6(1):13-23.
- GILROY, S. & JONES, D. 2000. Through form to function: root hair development and nutrient uptake. Trends in the plant science. Vol.5. nº 2.
- INDERJIT, DAKSHINI, K. M. M. 1995. On laboratory bioassays in allelopathy. The Botanical Review, New York, v.61. p. 28-44.
- MEYER & POLJAKOFF-MAYBER. 1974. Factors affecting germination. In: The germination of seeds p.21-45.
- MIRÓ, C. P., FERREIRA, A. G. & AQUILA, M. E. A., 1998. Alelopatia de frutos de erva Mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. Pesq. Agropec. Bras., Brasília 33 (8):1261-1270.
- PIMENTEL, A. A. M. P. 1985. Olericultura no Trópico Úmido – Hortaliças na Amazônia. São Paulo, Agronômica Ceres, 322p.
- RAVEN, P. H., EVERT, R. F. & EICHHORN, S. E. 1996. Biologia Vegetal. 5ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 728p.
- RENNICK, G. & TIERNAN, P. I. 1978. Some effects of osmopriming on germination, growth and Yield of celery (*Apium graveolens*). Seed Science and Technology. 6(3):695-700.
- RICE, E. L. 1984. Allelopathy. Academic Press, Inc. 422p.

- RIZVI, S. J. & RIZVI, V. 1992. Allelopathy: Basics and applied aspects. Chapman & Hall 480p.
- RODRIGUES, L. R. A. RODRIGUES, T. J. D., REIS, R. A. 1992. Alelopatia em plantas forrageiras. Jaboticabal: FUNEP. 18p.
- SALISBURY, F. B., & ROSS, C. 1969. Plant Physiology. Belmont: Wadsworth. 747 p.
- SAXENA, O. P. & SINGH, G. 1987. Osmotic priming studies in some vegetables seeds. *Acta Horticulturae* 215:201-207.
- SINGH, A. K. 1992. Seed germination in *Brassica campestris*. *Indian Botanical Contactor* 9(4):159-162
- SHAHRAKH, M. C., SADIQ, A. & IBRAR, M. 1987. Allelopathic potential of *Calendula Arvensis* L. *Biologia* 33 (1):27-31.
- WEIDENHAMER, J.D. 1996. Distinguishing Resource Competition and Chemical Interference: Overcoming the Metodological Impasse. *Agronomy Journal* 88:866-875.
- WILLAM, H., MERRIT, L. & DEAN, J. 1965. *Metodos Instrumentales de Analisis*. Cia. Ed. Continental, México 515-545.