

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA  
VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ESTÁDIO FENOLÓGICO E NITROGÊNIO COMO  
FATORES DE VARIAÇÃO NA COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE  
CAPIM-ANNONI**

**KALINCA CECCHIN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, abril de 2015

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA  
VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ESTÁDIO FENOLÓGICO E NITROGÊNIO COMO  
FATORES DE VARIAÇÃO NA COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE  
CAPIM-ANNONI**

**KALINCA CECCHIN**

**Orientadora: Prof. Dra. Simone Meredith Scheffer Basso**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, abril de 2015





A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

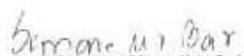
**"Estádio fenológico e nitrogênio como fatores de variação na composição química e atividade alelopática de capim-annoni."**

Elaborada por  
Kalinca Cecchin

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestra em  
Agronomia – Produção Vegetal

Aprovada em: 08/04/2015  
Pela Comissão Examinadora

  
Dra. Simone Meredith Scheffer Basso  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientador

  
Dra. Simone Meredith Scheffer Basso  
Coordenadora PPGAgro

  
Dra. Andréa Michel Sobottka  
ICB – UPF

  
Dr. Hélio Carlos Rocha  
Diretor FAMV

  
Dra. Cerci Maria Carneiro  
ICB – UPF

CIP – Catalogação na Publicação

---

- C387e Cecchin, Kalinca  
Estádio fenológico e nitrogênio como fatores de  
variação na composição química e atividade alelopática de  
capim-annoni / Kalinca Cecchin. – 2015.  
103 f. : il. color.; 25 cm.
- Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade  
de Passo Fundo, 2015.  
Orientadora: Prof. Dra. Simone Meredith Scheffer  
Basso.
1. Agronomia. 2. Crescimento (Plantas). 3. Alelopatia.  
4. Fisiologia vegetal. I. Scheffer- Basso, Simone  
Meredith, orientadora. II. Título.
- CDU: 633.2

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

**KALINCA CECCHIN** nasceu em 27 de agosto de 1988, na cidade de Ibiaçá, Rio Grande do Sul. No ano de 2009 concluiu o curso de Ciências Biológicas Bacharelado pela Universidade de Passo Fundo – UPF. Em 2013 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UPF, realizando estudos sobre o capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees), para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. O trabalho caracterizou-se pela avaliação da composição química e a ação alelopática da gramínea, em seus distintos estádios fenológicos e sob diferentes doses de nitrogênio, por meio de técnicas de espectrometria, cromatografia e bioensaios de germinação.

*“A sabedoria de um ser humano não é definida pelo quanto ele sabe,  
mas pelo quanto ele tem consciência de que não sabe”.*

Augusto Cury

*Dedico aos meus pais,  
Nelci e Gládis.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pois a consciência de Sua presença no meu lado é uma motivação permanente.

Aos meus pais, Gládis e Nelci, meu reconhecimento e gratidão pelo amor, carinho, compreensão e apoio que sempre tiveram comigo, por terem acreditado e fornecido condições para que eu concluísse essa etapa da vida.

Ao meu irmão Douglas, agradeço pela amizade, apoio, incentivo, cuidado e carinho.

Ao meu namorado Wagner, por estar ao meu lado em todos os momentos, sempre me apoiando com seu amor, compreensão, paciência e dedicação.

À minha orientadora, Prof. Dra. Simone Meredith Scheffer Basso, pelo incentivo e credibilidade que me proporcionou. Agradeço pelos ensinamentos transmitidos, por toda a disponibilidade e por compartilhar comigo sua experiência.

À professora Me. Charise D. Bertol, agradeço a orientação, os conhecimentos compartilhados e por disponibilizar seu tempo para me ensinar.

À professora Dra. Cercí Maria Carneiro, pela revisão da dissertação, pelos ensinamentos, conselhos, amizade e convivência agradável.

À professora Andréa M. Sobottka, por todo o apoio, atenção, pela revisão da dissertação e sugestões propostas para melhoria do trabalho.

Aos meus colegas do Multiveg/ICB, pelo apoio, ajuda e companheirismo. Obrigada pela amizade, carinho e pelo privilégio dos momentos que passamos juntos.

Aos meus familiares e amigos, pela amizade e que sempre torceram pelo meu sucesso. Minha profunda gratidão.

Aos colegas e professores do PPGAgro, pelas experiências compartilhadas e por contribuírem com a minha formação profissional.

Ao PPGAgro e à UPF pela oportunidade. Agradeço à CAPES, pela bolsa concedida.

Enfim, a todas as pessoas que participaram de forma direta e indireta, contribuindo para a realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	7
2.1 O capim-annoni ( <i>Eragrostis plana</i> Nees).....	7
2.1.1 Invasão nos biomas do RS: histórico e problemática.....	7
2.1.2 Composição bromatológica.....	10
2.1.3 Características alelopáticas e aleloquímicas.....	11
2.2 Metabólitos secundários como potencial aleloquímicos.....	13
2.3 Interferência do estágio fenológico na composição química das plantas.....	19
2.3.1 Metabolismo secundário.....	19
2.3.2 Composição bromatológica.....	22
2.4 Interferência do nitrogênio na composição química das plantas.....	23
2.4.1 Metabolismo secundário.....	23
2.4.2 Composição bromatológica.....	25
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	27
3.1 Área experimental.....	27
3.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	29
3.3 Amostragem.....	30
3.4 Composição bromatológica.....	31
3.5 Análise de metabólitos secundários.....	32
3.5.1 Preparo dos extratos.....	32
3.5.2 Análise por CLAE.....	33
3.6 Atividade alelopática.....	35
3.6.1 Preparo dos extratos.....	35
3.6.2 Bioensaio de germinação.....	36
3.6.3 Bioensaio do crescimento inicial.....	37
3.7 Análise estatística.....	37

	<b>Página</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
4.1 Crescimento e alocação de biomassa de capim-annoni.....	38
4.2 Caracterização bromatológica de capim-annoni.....	41
4.3 Compostos do metabolismo secundário de capim-annoni....	46
4.4 Atividade alelopática de capim-annoni.....	62
4.4.1 Germinação.....	62
4.4.2 Crescimento inicial e anormalidades.....	66
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	70
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	71

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Condições cromatográficas empregadas na análise dos grupos químicos por meio de CLAE.....	34
2	pH dos extratos aquosos de capim-annoni elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo e no florescimento tratadas com diferentes doses de N.....	36
3	Participação de folhas (F) e de colmos floríferos (CF) no material vegetal oriundo de plantas de capim-annoni tratadas com doses crescentes de N e colhidas nos estádios vegetativo e florescimento.....	41
4	Concentração de ácidos fenólicos em extratos de plantas de capim-annoni colhidas em distintos estádios fenológicos e tratadas com distintas doses de N.....	54
5	Concentração das procianidinas monoméricas (epicatequina e catequina) em extratos de capim-annoni colhido em distintos estádios fenológicos e sob doses crescentes de N.....	61
6	Germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de alface submetidas à aplicação de água destilada (Testemunha) e extratos aquosos de capim-annoni, elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo e florescimento e adubadas com distintas doses de N.....	63

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Área experimental no Campus da Universidade de Passo Fundo.....	28
2	Temperaturas médias e precipitações mensais ocorridas durante o período de crescimento das plantas. TM: Temperatura média; TN: Temperatura normal; PP: Precipitação pluvial; PN: Precipitação normal.....	29
3	Subparcela onde o capim-annoni foi colhido no estádio vegetativo (A) e no florescimento (B).....	30
4	Massa fresca de capim-annoni submetida à separação de folhas (A) e colmos floríferos (B) para a determinação da proporção dos componentes nas amostras.....	31
5	Obtenção de extratos de capim-annoni mantidos sob refluxo (A), concentrados em rotavapor (B) e particionados com acetato de etila (C).....	32
6	Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a um <i>software</i> .....	35
7	Altura (cm) do dossel de plantas de capim-annoni em distintos estádios fenológicos (A) e submetidas a doses crescentes de nitrogênio (B). Valores sobre as colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.....	39
8	Massa seca (MS) de material vegetal obtido na colheita de capim-annoni em distintos estádios fenológicos e submetido a doses crescentes de N. Letras maiúsculas comparam as doses de N em cada estádio fenológico e letras minúsculas comparam o estádio fenológico em cada dose pelo teste de Tukey a 5% de significância.....	40

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
9	Teor de proteína bruta e nitrogênio na massa seca de plantas de capim-annoni em resposta à adubação nitrogenada e estádios fenológicos vegetativo e florescimento. Letras maiúsculas comparam as doses de N em cada estádio fenológico e letras minúsculas comparam o estádio fenológico em cada dose pelo teste de Tukey a 5% de significância.....	42
10	Teor (%) de fibra em detergente neutro (FDN) e hemicelulose da massa seca de plantas de capim-annoni colhidas nos estádios vegetativo e florescimento. Valores seguidos de mesma letra sobre as colunas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.....	45
11	Perfil cromatográfico para a detecção de ácidos fenólicos em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estádio vegetativo e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N (C).....	48
12	Perfil cromatográfico para a detecção de ácidos fenólicos em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estádio de florescimento e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N (C).....	49
13	Perfil cromatográfico para a detecção de catequina e epicatequina em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estádio vegetativo e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N (C).....	50
14	Perfil cromatográfico para a detecção de catequina e epicatequina em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estádio de florescimento e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N (C).....	51
15	Perfil cromatográfico para a detecção de cumarina em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estádio vegetativo e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N (C).....	52

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
16	Perfil cromatográfico para a detecção de cumarina em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estágio de florescimento e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) e 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N (C).....	53
17	Concentração de cumarina em extratos de capim-annoni em resposta as doses de N. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.....	62
18	Plântulas de alface no 15° dia da aplicação de extratos aquosos de capim-annoni elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo (A, B e C) e florescimento (D, E e F) sob doses de 0, 100 e 200 kg.ha <sup>-1</sup> de N, respectivamente; testemunha = água destilada (G).....	67
19	Anormalidades de plântulas de alface submetidas a extratos aquosos de capim-annoni elaboradas com plantas colhidas no estágio vegetativo sob doses de 0 (B), 100 (C) e 200 kg.ha <sup>-1</sup> (D), comparado com o tratamento controle (A).....	68

**ESTÁDIO FENOLÓGICO E NITROGÊNIO COMO FATORES  
DE VARIAÇÃO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE  
ALELOPÁTICA DE CAPIM-ANNONI**

**KALINCA CECCHIN<sup>1</sup>**

**RESUMO** – Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar se a adubação nitrogenada e o estágio fenológico afetam a composição químico-bromatológica e a ação alelopática de capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees). Os tratamentos constaram da combinação de doses de nitrogênio (0, 100 e 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N) e estágio fenológico por ocasião da colheita (vegetativo e florescimento). Observou-se, quanto: 1) Ao crescimento e alocação da biomassa: incremento da altura das plantas em resposta à elevação nas doses de N e maturidade das plantas, assim como aumento na partição de folhas em estágio de florescimento com aplicação das doses extremas de N e incremento de colmos floríferos na dose intermediária de N; 2) À composição bromatológica, pelo método de espectrometria de reflectância no infravermelho proximal: aumento no teor de proteína bruta em resposta à elevação nas doses de N e em plantas colhidas no estágio de florescimento; para os teores de fibra em detergente neutro e hemicelulose houve efeito do estágio fenológico, com valores maiores em plantas colhidas no estágio vegetativo; 3) À composição química, avaliada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência: os extratos apresentaram os

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, área de concentração em Produção Vegetal.

ácidos cafeico, ferúlico, vanílico e p-cumárico; procianidinas monoméricas epicatequina e catequina; e cumarina (1,2-benzopirona). Os ácidos fenólicos tiveram maior concentração nas plantas no florescimento e nas doses de 0 e 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N. A concentração de catequina, em plantas no vegetativo, tiveram concentração superior nas doses de 0 e 100 kg.ha<sup>-1</sup> de N, sem que esse nutriente afetasse seu teor no florescimento. A quantidade de epicatequina mostrou comportamento oposto, com elevação da concentração na maior dose de N no estágio vegetativo e maior concentração na ausência de N em plantas florescidas. A concentração de cumarina não foi afetada pelo estágio fenológico, mas teve sua concentração reduzida sob a dose intermediária de N; 4) Atividade alelopática de extratos aquosos de capim-annoni sobre sementes de alface (*Lactuca sativa* L.): verificou-se que o material oriundo de plantas colhidas no estágio vegetativo e tratadas com a dose intermediária de N foram mais heterotóxicas. Assim, o estágio fenológico e a adubação nitrogenada são fatores interativos que afetam a composição químico-bromatológica e a atividade alelopática do capim-annoni.

**Palavras chave:** ácidos fenólicos, cumarina, crescimento, procianidinas, valor nutritivo.

**PHENOLOGICAL STAGE AND NITROGEN AS FACTORS OF  
VARIATION IN CHEMICAL COMPOSITION AND  
ALLELOPATHIC ACTIVITY OF TOUGH LOVEGRASS**

**ABSTRACT** –The aim of this study was to verify if the nitrogen fertilization and the phenological stage affect the chemical-bromatological composition and the allelopathic action of tough lovegrass (*Eragrostis plana* Nees). The treatments consisted of the combination of nitrogen levels (0, 100 and 200 kg.ha<sup>-1</sup> N) and phenological stages during harvest (vegetative and flowering). It was verified as for: 1) Growth and biomass allocation: increase plant height in response to the increase N levels and maturity in the plants, as well as increase leaves partition in flowering stage with application of extreme levels of N and increase in the culm partition with the N intermediate levels; 2) Bromatologic composition evaluated by near infrared spectroscopy method: increase in crude protein content in response to the increase in the N levels and plants harvested in the flowering stage; for neutral detergent fiber and hemicellulose, was effect of phenological stage, with higher values in plants harvested in the vegetative stage. 3) Chemical composition evaluated by high performance liquid chromatography: the extracts showed the acids caffeic, ferulic, vanillic and p-coumaric; the monomeric procyanidins epicatechin and catechin; and the coumarin (1,2 benzopyran). The phenolic acids had a higher concentration in plants in the flowering plant and with levels of 0 and 200 kg.ha<sup>-1</sup> N. The concentration of catechin, in plants in the vegetative stage, had higher in levels of 0 e

100 kg.ha<sup>-1</sup> N, not allowing that this nutrient affected their content in the flowering. The quantity of epicatechin showed opposite behavior, with increased of the concentration higher N levels in vegetative stage and higher concentration in the absence of N in flowered plants. The concentration of coumarin was not affected by the phenological stage, but has its low concentration in the intermediate N levels. 4) Allelopathic activity of tough lovegrass aqueous extracts in lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.): was verified that material coming from plants harvested in the vegetative stage and treated with the N intermediate levels were more heterotoxic. Therefore, the growth stage and nitrogen fertilization are interactive factors affecting the chemical-bromatological composition and the allelopathic activity of tough lovegras.

**Key words:** phenolic acids, coumarin, growth, procyanidins, nutritive value.

## 1 INTRODUÇÃO

O capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) é a principal invasora dos campos do sul do Brasil. As vantagens que a gramínea apresenta sobre o campo nativo pode ser determinada pela sua elevada competitividade de crescimento, resistência a flutuações do clima e alta capacidade de estabelecimentos na vegetação campestre (ABICHEQUER et al., 2006). Além disso, possui baixa qualidade nutricional e mecanismos alelopáticos que favorecem seu estabelecimento (COELHO, 1986; FAVARETTO et al., 2011), afetando negativamente o crescimento das demais espécies nativas. Essa invasora é de baixo valor forrageiro, pois possui baixos teores de proteína bruta e elevados teores de fibra, o que implica na rejeição pelos animais, e, em consequência, elevando sua expansão nas pastagens (NASCIMENTO & HALL, 1978; MEDEIROS et al., 2004).

Uma das estratégias utilizadas pelas plantas invasoras para competir em novos ambientes é a liberação de aleloquímicos, produtos do metabolismo secundário que podem alterar o crescimento e o desenvolvimento das plantas e demais organismos (RICE, 1984; FERREIRA & AQUILA, 2000). Esses compostos são, geralmente, pertencentes a um dos três grupos mais comuns nos vegetais: terpenos, alcaloides e compostos fenólicos (SARTOR et al., 2009). No capim-annoni, há relatos da presença de compostos fenólicos da classe dos ácidos fenólicos (ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico e vanílico) e da cumarina (1,2-benzopirona), bem como as procianidinas monoméricas (catequina, epicatequina) (FAVARETTO, 2014). A

presença desses compostos nas plantas pode afetar o padrão natural de formação e sucessão das populações vegetais. Por outro lado, pode ser uma fonte de moléculas com ação herbicida (QASEM & FOY, 2001; DUKE et al., 2002).

A composição química das plantas varia com o estágio fenológico e ambiente. Isso remete à possibilidade de que, de acordo com a composição estrutural da planta, a ser atestada pela partição da biomassa, haja variação na sua ação aleloquímica. Já, dentre os fatores ambientais, a disponibilidade de nutrientes é um dos mais importantes. Para gramíneas, o nitrogênio (N) é, sem dúvida, aquele que mais amplamente é avaliado em estudos dessa natureza.

O objetivo deste estudo foi verificar se o estágio de maturidade, associado ou não com a aplicação de N, afeta a composição químico-bromatológica e a ação alelopática do capim-annoni. Para isso, foram realizadas atividades experimentais a fim de determinar se as plantas de capim-annoni mostram alteração a tais fatores quanto:

- 1- O crescimento e alocação de biomassa;
- 2- À concentração de proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN);
- 3- À concentração dos ácidos fenólicos, procianidinas monoméricas e cumarina (1,2-benzopirona);
- 4- À atividade alelopática sobre sementes e plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.).

Os resultados serão subsídios ao manejo da adubação de pastagens naturais invadidas pelo capim-annoni e para estudos que visem a bioprospecção da espécie.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O capim-annoni

#### 2.1.1 Invasão nos biomas do Rio Grande do Sul: histórico e problemática

As espécies invasoras são reconhecidas como uma das maiores ameaças biológicas ao ambiente, com enormes prejuízos a economia, à biodiversidade e aos ecossistemas naturais. Geralmente possuem características adaptativas que facilitam sua reprodução e dispersão. Dessa forma, as invasoras passam a ter vantagens competitivas em relação às nativas, causando desequilíbrios no ecossistema (PITELLI, 2007).

Várias gramíneas exóticas vindas da África foram introduzidas acidentalmente no Brasil como impurezas de sementes de espécies forrageiras, tornando-se invasoras. De maneira geral, a invasão de plantas exóticas é facilitada pela alta frequência de espaços vazios em áreas de pastagens naturais, decorrentes do inadequado manejo das áreas. A existência de recursos não utilizados nesses espaços, como nutrientes, água e luz, criam condições ótimas que favorecem o estabelecimento de espécies invasoras. Acredita-se que estas sejam algumas das causas da invasão pelo capim-annoni nas pastagens nativas do sul do Brasil (PARSONS, 1972; PILLAR et al., 2009).

O capim-annoni é uma gramínea sul-africana, que foi introduzida acidentalmente no início do ano de 1950, em Tupanciretã-

RS (REIS, 1993), e que estava presente, como impureza, em lotes de sementes de capim-de-rhodes (*Chloris gayana* Kunth) importados da África (SARS, 1978). A espécie foi visualizada em 1971, por Ernesto José Annoni, em sua propriedade, no município de Sarandi-RS. Nesse local foi feita a multiplicação das sementes, com posterior distribuição no Estado. Acreditava-se que essa gramínea seria um “milagre” forrageiro para as condições do rigor do inverno gaúcho. No entanto, estudos posteriores à essa época apontaram que essa planta, conhecida popularmente como “capim-annoni”, era deficiente em valor nutritivo e palatabilidade (NASCIMENTO, 1976; NASCIMENTO & HALL, 1978; FIGUEIRÓ, 1976).

Dessa forma, com a rejeição pelos animais, a espécie alastrou-se pelos campos gaúchos, demonstrando possuir elevada adaptação local. Características biológicas do capim-annoni, como a produção de sementes, crescimento, rebrota, resistência à seca e a geadas, e a baixa aceitabilidade pelos animais, foram determinantes para sua expansão no Rio Grande do Sul (SARS, 1978; ABICHEQUER et al., 2006; MEDEIROS & FOCHT, 2007). Soma-se a isso a vantagem encontrada pela espécie em comunidades vegetais submetidas à elevada pressão de pastejo, que promove abertura de espaços e eleva a compactação do solo (OLIVEIRA, 1993). Por isso, o capim-annoni está presente na maioria dos habitats, desde de pastagens, margens de lavoura, estradas rurais, espaços abertos em asfalto de rodovias, terrenos baldios nas cidades. Só não é observado em locais sombreados, o que é comum em plantas do tipo fotossintético C4, que é o caso dessa espécie (OLIVEIRA, 1993; DUKES & MOONEY, 1999).

A espécie tem sementes de pequeno tamanho e alta capacidade germinativa. Estas apresentam habilidade para enterrar-se, evitando a germinação precoce e formando bancos de sementes no solo. Este mecanismo de escape prolonga a longevidade da semente, habilitando a espécie a regenerar-se e reinstalar novas populações em resposta a eventuais distúrbios no solo (MEDEIROS et al., 2006, MEDEIROS & FOCHT, 2007).

O alto potencial de produção e distribuição de suas sementes aumenta a pressão de propágulos e acelera o processo invasor. Uma vez estabelecida, respondem pela drástica redução na frequência e riqueza de muitas espécies nativas, da heterogeneidade da vegetação do bioma Campos (MEDEIROS et al., 2006) e queda da produtividade pecuária (REIS, 1993), com prováveis prejuízos também à riqueza biológica do solo.

O sistema radicial é extenso, profundo e muito desenvolvido, o que dificulta a retirada da planta do solo, proporcionando vantagens na absorção de nutrientes e acesso à umidade do solo, além de explicar a sua tolerância a solos compactados (KISSMANN & GROTH, 1997; REIS & COELHO, 2000).

Danos econômicos e ambientais são decorrentes da presença e da expansão de área dessa gramínea sobre os 6,5 milhões de hectares de pastagem nativa, onde localizam-se os campos de pecuária de corte do RS e os remanescentes da vegetação campestre (HANSENACK et al., 2007), típica do Bioma Pampa. Estima-se que a espécie foi responsável por perdas financeiras de US\$ 88.500.000,00 entre os anos de 1996 e 2005 (FOCHT, 2008).

Com base nestas informações, 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).

### **2.1.2 Composição bromatológica**

Estudos revelaram que o capim-annoni detém baixas concentrações de PB e elevados teores de fibra. Normalmente, estes componentes guardam estreita correlação com a digestibilidade de forrageiras (WILSON & HATTERSLEY, 1989; QUEIROZ et al., 2000).

Nascimento (1976) observou decréscimo no teor de PB, de 7,1% a 2,3%, aos 30 e 150 dias de crescimento, respectivamente, e aumento no teor de fibra com o avanço da idade do capim-annoni. Em outro estudo foram verificados teores de PB, no período do verão, de 7,7% (PELLEGRINI et al., 2012). Segundo os autores, este fato pode estar associado ao avanço do período estival e do estágio fisiológico da planta. Isso demonstra a inadequação dessa gramínea como planta forrageira. Para ruminantes, teores de PB abaixo de 7% são limitantes aos microrganismos do rúmen (CECATO, 1993), ao passo que teores elevados de fibras restringem o aproveitamento da planta, incrementando suas características de planta invasora.

A fração FDN é constituída por celulose, hemicelulose, lignina e nitrogênio insolúvel em detergente neutro, e é inversamente correlacionada à digestibilidade (MERTENS, 1982). Além disso, representa a fração química que guarda correlação com o consumo,

sendo que valores de constituintes de parede celular acima de 55 a 60% de FDN se correlacionam negativamente com o consumo de forragem (VAN SOEST, 1965; MERTENS, 1987). A FDA, por sua vez, contém lignina, celulose e nitrogênio insolúvel em detergente ácido, representando a porção menos digestível da parede celular. As forragens com valores de FDA em torno de 40%, ou mais, apresentam menor digestibilidade (CECATO, 1993; NUSSIO et al., 1998). A lignina e a FDA estão associadas à digestibilidade e outros componentes da parede celular, particularmente hemicelulose e FDN, relacionados ao consumo voluntário do animais (VAN SOEST, 1978).

As condições climáticas que promovem o maior crescimento das plantas podem influenciar na composição química, pois acarretam acúmulo de material morto e maior atividade metabólica convertendo os produtos da fotossíntese em tecidos estruturais, incrementando a parede celular, aumentando a FDN e a FDA, reduzindo, dessa forma, os teores proteicos (MACHADO et al., 1998).

### **2.1.3 Características alelopáticas e aleloquímicas**

A ação alelopática do capim-annoni foi comprovada, inicialmente, por Coelho (1986), que detectou heterotoxicidade de extratos da planta na germinação de sementes e no desenvolvimento das plântulas de trevo-branco (*Trifolium repens* L.) e azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.). Posteriormente, Ferreira et al. (2008) apontaram tal ação sobre sementes de grama-forquilha (*Paspalum notatum* Flüggé) e capim-kazungula (*Setaria anceps* Stapf). Do ponto

de vista prático, o efeito prejudicial precoce sobre grama-forquilha foi considerado preocupante, em razão dessa espécie ser a mais abundante e de maior valor nutritivo das pastagens nativas do sul do Brasil.

Recentemente, ao investigar a ação alelopática de extratos aquosos de folhas e raízes de capim-annoni na germinação de sementes e crescimento de plântulas de trevo-branco, Favaretto et al. (2011) observaram que aqueles elaborados com folhas foram mais heterotóxicos em relação aos elaborados com raízes. No entanto, ambos provocaram alterações morfológicas nas plântulas, incluindo a necrose da raiz primária, retenção dos cotilédones e ausência de raízes secundárias. Os resultados indicaram, portanto, que os órgãos da planta devem possuir distinta composição aleloquímica, revelando importante informação para estudos de bioprospecção da espécie.

A alelopatia é a ciência que estuda os processos em que substâncias interferentes de plantas e de microrganismos são envolvidas, afetando o crescimento e desenvolvimento do sistema biológico (MACÍAS et al., 2007). Assim, uma planta pode reduzir o crescimento das plantas vizinhas pela liberação de aleloquímicos no solo, isso pode ter como consequência a maior chance de acesso à luz, à água e aos nutrientes e, portanto, propiciar sua maior adaptação evolutiva (TAIZ & ZEIGER, 2013).

As substâncias alelopáticas são encontradas distribuídas em concentrações variadas em diferentes partes da planta e durante seu ciclo de vida. Quando essas substâncias são liberadas em quantidades suficientes causam inibição ou estimulação da germinação, crescimento e/ou desenvolvimento de plantas já estabelecidas (CARVALHO, 1993). Por isso, atribui-se, parcialmente,

à alelopatia, a facilidade de expansão do capim-annoni nas comunidades vegetais.

Além do estudo de Favaretto (2014), que detectou a presença dos ácidos cafeico, ferúlico, vanílico e p-cumárico, da catequina, epicatequina e da cumarina, se desconhece aspectos relativos a metabólitos secundários em capim-annoni.

## **2.2 Metabólitos secundários como potenciais aleloquímicos**

Os processos metabólicos que estão envolvidos na produção de macromoléculas, como carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, essenciais à vida do organismo e comuns aos seres vivos, são designados de metabolismo primário. A partir dos produtos do metabolismo primário, através de rotas biossintéticas, as espécies vegetais são capazes de produzir substâncias conhecidas como metabólitos secundários. Essas substâncias são micromoléculas que se caracterizam como elementos de diferenciação e, embora não essenciais para a vida do organismo, garantem vantagens para a sua sobrevivência e perpetuação, em seu ecossistema. A este processo, dá-se a denominação de metabolismo secundário (SANTOS, 2004; PARANHOS, 2005).

Metabólitos secundários são compostos orgânicos que não estão diretamente envolvidos nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos. Ao contrário dos metabólitos primários, a ausência dos metabólitos secundários não resulta na morte imediata, mas a longo prazo afeta a sobrevivência, fecundidade ou estética do organismo, podendo mesmo não ter

qualquer impacto significativo. Os metabólitos secundários são frequentemente restritos a um grupo reduzido de espécies de um grupo filogenético, além disso, têm um papel importante nas defesas vegetais contra a herbivoria e outras defesas interespecies (STAMP, 2003).

A identificação de substâncias químicas em diferentes espécies de plantas tem contribuído para um conhecimento mais acurado de inúmeros compostos secundários, que podem ser agrupados de diversas formas. Aproximadamente 20 a 30% dos vegetais superiores têm sido investigados quanto aos seus constituintes do metabolismo secundário, permitindo a elucidação da estrutura química de cerca de 50.000 compostos (DE LUCA & ST PIERRE, 2000). Muitos desses compostos são potencialmente aleloquímicos, os quais são liberados no ambiente podendo causar efeito direto ou indireto, alterando o crescimento e o desenvolvimento das plantas e demais organismos (RICE, 1984; FERREIRA & AQUILA, 2000).

Os aleloquímicos podem fazer parte de várias classes, como aqueles derivados de cumarinas, esteroides, ácidos graxos de cadeia longa, lactonas insaturadas, flavonoides, taninos e fenóis simples, dentre outros. Esses aleloquímicos podem ser divididos em três grandes grupos: os terpenos, os alcaloides e os compostos fenólicos, que são os mais importantes e comuns nos vegetais (DIAS et al., 2005; WANDSCHEER & PASTORINI, 2008; SARTOR et al., 2009).

Os terpenos são biossintetizados a partir do ácido mevalônico e/ou do piruvato e 3-fosfoglicerato. Vários terpenos são

conhecidos e utilizados pelo homem, em virtude de suas propriedades inseticidas e aromáticas, como os óleos essenciais derivados dos monoterpenos (VIEGAS Jr., 2003).

Os alcaloides são produtos naturais nitrogenados de origem não-peptídica, biossintetizados a partir de aminoácidos. São abundantes em vegetais superiores, tendo características básicas e podem ser encontrados na forma livre (lipossolúvel) ou na forma de sal (hidrossolúvel), podendo ser extraídos variando-se o pH do meio e utilizando solventes imiscíveis (LEITE, 2009). O papel dos alcaloides nas defesas químicas das plantas é sustentado pela grande variedade de efeitos fisiológicos que estes exercem sobre os animais e também por suas atividades antimicrobianas (FUMAGALI et al., 2008).

Os compostos fenólicos são derivados da rota do acetato-malato ou do ácido chiquímico. São substâncias que possuem pelo menos um anel aromático, no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Esses compostos estão amplamente distribuídos no reino vegetal e nos microrganismos. Existem cerca de cinco mil fenóis largamente distribuídos no reino vegetal, como cumarinas, flavonoides, taninos, ácidos fenólicos e outros (CARVALHO et al., 2004; ANGELO & JORGE, 2007).

Os ácidos fenólicos são divididos em dois grupos. O primeiro é composto pelos derivados do ácido benzoico, que possuem sete átomos de carbono (C6-C1) e que são os mais simples encontrados na natureza, incluindo os ácidos p-hidroxibenzoico, protocatéquico, vanílico e siríngico. O segundo é formado pelos ácidos derivados do ácido cinâmico, que possuem nove átomos de carbono (C6-C3), incluem os ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico e

sinápico. Os ácidos fenólicos, além de se apresentarem sob sua forma livre, podem estar ligados entre si ou com outros compostos (BRAVO, 1998; SOARES, 2002).

Os flavonoides constituem o maior grupo de compostos fenólicos das plantas. São polifenóis que ocorrem naturalmente em alimentos de origem vegetal. Ocorrem, quase que exclusivamente, em plantas superiores, nas quais são responsáveis pela coloração das flores e dos frutos, além de estarem relacionados à defesa dos vegetais, como proteção contra raios ultravioleta, ações antifúngica e antibacteriana (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003). O esqueleto básico dos flavonoides são dois anéis aromáticos, conectados por uma ponte de três carbonos (C6-C3-C6), resultantes de rotas biossintéticas separadas: a do ácido chiquímico e a do acetato. A primeira origina fenilalanina, que vai dar origem a um dos anéis aromáticos e à ponte de três carbonos. A segunda resulta no outro anel aromático do esqueleto básico dos flavonoides (SANTOS, 2004).

Os taninos hidrolisáveis são polímeros polifenólicos de elevado peso molecular, derivados do ácido chiquímico, constituídos de unidades de açúcar, ácido gálico e/ou seus derivados. Os taninos condensados (TC) são formados pela ligação de unidades de flavan-3-ol, provenientes do metabolismo dos flavonoides (SANTOS, 2004). Os TC são conhecidos como proantocianidinas. Essas, por sua vez, são formadas basicamente por procianidinas e prodelfinidinas. Os monômeros livres formadores das procianidinas são catequina e epicatequina, ao passo que aqueles que formam as prodelfinidinas são galocatequina e a epigalocatequina (BRUNET & HOSTE, 2006). Os monômeros de procianidinas se diferenciam dos monômeros de

prodelfinidinas pelo número de hidroxilas no anel B, os primeiros possuem duas hidroxilas, enquanto que os outros apresentam três hidroxilas no anel B (LEITE, 2009).

As cumarinas são derivados da 5,6-benzo-2-pirona. Originam-se do ácido *trans*-cinâmico e que, por oxidação, resulta no ácido *o*-cumárico, cuja hidroxila fenólica condensa com uma unidade de glicose. Esse composto isomeriza no seu correspondente *cis*, o qual, por ciclização, forma a cumarina (SANTOS, 2004).

As plantas têm capacidade de produzir estes aleloquímicos em todos os seus órgãos, incluindo folhas, caules, flores, raízes, frutos e sementes. Para as gramíneas, as evidências apontam a parte aérea, seguida das raízes e sementes, em ordem decrescente, como as principais fontes de substâncias potencialmente alelopáticas (SOUZA FILHO, 1995). No entanto, há variação quanto à composição, concentração e localização no vegetal, com liberação, para o ambiente, de diversas formas. Fatores ambientais, como temperatura, luz, disponibilidade de nutrientes e condições hídricas, influenciam nesse processo.

A decomposição de resíduos vegetais é uma das fontes mais importantes de aleloquímicos. Pode-se citar também a exsudação por raízes, a volatilização pelas folhas e a lixívia das superfícies foliares pela chuva e/ou neblina (REIGOSA et al., 1999; MARASCHIN-SILVA & ÁQUILA, 2005). Uma vez liberadas no ambiente, as substâncias aleloquímicas entram em contato com as plantas, pela ação direta ou indireta. Nessa última, incluem-se alterações nas propriedades do solo, condições nutricionais e alterações de populações e/ou atividade dos microrganismos. O modo

de ação direta ocorre quando o aleloquímico liga-se às membranas da planta receptora, ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo (FERREIRA & AQUILA, 2000).

Os compostos aleloquímicos, depois de alcançarem a planta, podem afetar estruturas citológicas e ultraestruturais, hormônios, permeabilidade das membranas, absorção de minerais, movimentos dos estômatos, síntese de pigmentos de proteínas, fotossíntese, respiração, metabolismo de lipídios e dos ácidos graxos, atividade enzimática, relações hídricas e material genético (INDERJIT & DUKE, 2003). Os compostos aromáticos, fenólicos, cumarinas, aldeídos e flavonoides podem, por exemplo, afetar a respiração (FERREIRA & AQUILA, 2000; YUNES & CALIXTO, 2001).

Uma das estratégias utilizadas pelas plantas invasoras para competir e dominar em comunidades vegetais é a liberação desses aleloquímicos (LARCHER, 2000). Assim, espécies invasoras tem potencial para excluir espécies nativas a partir de resíduos e substâncias liberadas no ambiente (HIERRO & CALLAWAY, 2003). Nesse caso, a atividade dos aleloquímicos é apenas inibitória e pouco relacionada com a competição por recursos abióticos (CALLAWAY, 2002). Portanto, a presença dessas espécies em áreas de cultivo apresenta potencial para influenciar negativamente o desenvolvimento de culturas (BATISH et al., 2001; SINGH et al., 2001; QASEM & FOY, 2001), como também, no padrão natural de formação e sucessão das populações e comunidades vegetais (FERREIRA & AQUILA, 2000).

O crescente desenvolvimento de novas técnicas analíticas, como a cromatografia, especialmente cromatografia líquida de alta

eficiência (CLAE), e o constante aperfeiçoamento dos instrumentos de análise espectrométrica, constituem na principal força motora para o esclarecimento e registro dos constituintes resultantes do metabolismo secundário dos vegetais (MATOS, 1997). Esses constituintes são alternativas para substituir pesticidas sintéticos e, assim, reduzir a poluição ambiental e aumentar a produtividade agrícola (QASEM & FOY, 2001; DUKE et al., 2002).

## **2.3 Interferência do estágio fenológico na composição química das plantas**

### **2.3.1 Metabolismo secundário**

Os aleloquímicos tem um papel chave na defesa das plantas. Eles influenciam tanto na biodiversidade, como na composição das comunidades vegetais. Além disso, são propensos a variações qualitativas e quantitativas, dependendo das condições fisiológicas, estação, época de colheita e método analítico de preparação da amostra. O estágio fenológico, bem como os diferentes órgãos vegetais, são de considerável importância e são fatores que também causam variabilidade na produção de metabólitos secundários (ÇIRAK et al., 2008; DOAN et al., 2004).

As diferenças nas potencialidades alelopáticas entre as duas fases de desenvolvimento das plantas é provável que estejam associadas à liberação de substâncias alelopáticas para o meio ambiente, no início da fase reprodutiva, pois as plantas alocam recursos para seu crescimento e defesa (SOUZA-FILHO et al., 2000).

Estudos relataram que a quantidade de fenólicos totais em *Silphium perfoliatum* L. variou em folhas, inflorescências, caules e raízes (KOWALSKI & WOLSKI, 2005).

Em geral, folhas e flores têm maior quantidade de metabólitos secundários do que caules e raízes (HAKULINEN & JULKUNEN-TIITTO, 2000). Em manjerição (*Origanum majorana* L.), os níveis de terpenos voláteis aumentaram na medida em que a planta se desenvolveu, atingido o máximo no florescimento (SELLAMI et al., 2009). Isso pode ser explicado pela baixa taxa de biossíntese de compostos bioativos durante a fase vegetativa, o que pode ser devido à inativação parcial de enzimas necessárias para a biossíntese de alguns compostos (CHEN et al., 2012).

O acúmulo de compostos aleloquímicos durante a fase de florescimento pode ser porque, durante essa fase, a proteção da planta é obtida principalmente por esses compostos, como uma atividade de mecanismo de defesa das plantas (GRASSMANN et al., 2002). Além disso, a acumulação de aleloquímicos no florescimento pode estar relacionada às exigências das funções ecológicas, tais como intensificação de defesas antifúngicas e a atração de polinizadores (LANGENHEIM, 1994).

Sabe-se que os tecidos mais novos geralmente possuem maior taxa biossintética de metabólitos, tais como óleos essenciais, ácidos fenólicos, flavonoides e alcaloides (HARTMANN, 1996). Extratos metanólicos da parte aérea das plantas de feno-grego (*Trigonella foenum-graecum* L.) revelaram que as plantas sintetizaram mais flavonoides no estágio vegetativo do que no florescimento (OMEZZINE et al., 2014).

Elevadas concentrações de taninos hidrolisáveis e de alguns terpenoides ocorrem principalmente em tecidos jovens, que estão em crescimento, e suas concentrações rapidamente caem quando as folhas já estão maduras (BALDWIN et al., 1987; POTTER & KIMMERER, 1989; OSSIPOV et al., 1997). Portanto, a acumulação de metabólitos secundários varia conforme a espécie e as fases de desenvolvimento (JAMES, 1950). Isso remete à possibilidade de que, de acordo com a composição estrutural da planta, a ser atestada pela partição da biomassa, haja variação na sua ação aleloquímica.

A determinação das prováveis variações na atividade alelopática das plantas assume papel relevante no estabelecimento de estratégia de manejo das espécies, principalmente de pastagem visando maximizar a atividade alelopática em relação ao controle de plantas invasoras (SOUZA-FILHO et al., 2000).

No entanto, a interferência da produção de compostos alelopáticos no estágio fenológico ainda é escasso. Os trabalhos publicados sobre esse tópico estão mais voltados a componentes particulares e/ou espécies de plantas (AYAN et al., 2007; ÇIRAK et al., 2008).

### **2.3.2 Composição bromatológica**

Vários fatores interferem na composição química e na qualidade das gramíneas forrageiras, destacando-se o estágio fenológico de colheita (AYUP et al., 1999). Com o avanço da idade, geralmente, ocorrem acréscimos nos teores de carboidratos estruturais, fibras e lignina, o que muitas vezes resulta em redução da PB e da

digestibilidade da forragem. Além disso, observam-se alterações nas relações folha:colmo, a qual reduz em plantas mais velhas com maior participação do colmo na matéria seca total em comparação às lâminas foliares que tendem a ser mais digestíveis (REIS & RODRIGUES, 1993).

Com o avanço da idade alteram-se os componentes nutricionais das folhas e colmos de formas diferentes. Os colmos tendem a apresentar menores conteúdos de matéria seca e PB, e superiores de FDN, FDA e lignina, comparados com as folhas. Isso ocorre em razão de acréscimos superiores desses componentes na fração de colmo em idades mais avançadas. Entretanto, a partir de certa idade, que varia em resposta as condições do ambiente, manejo e adubação, essas diferenças nos conteúdos de matéria seca e FDN são eliminadas (OLIVEIRA et al., 2000).

Assim, informações sobre o valor nutritivo das plantas forrageiras de acordo com seu estágio fenológico auxilia técnicos e produtores a manejar adequadamente as pastagens a fim de obter maior produtividade de carne e leite. Já, tais informações a respeito das gramíneas invasoras e/ou introduzidas, voluntaria ou involuntariamente, alerta sobre riscos para o sistema de produção animal e para o ambiente.

## **2.4 Interferência do nitrogênio na composição química das plantas**

### **2.4.1 Metabolismo secundário**

Os fatores de estresse do ambiente, tais como luz, temperatura, água, nutrientes, aplicação de herbicidas, ataque de pragas estão fortemente relacionados com a alelopatia. Esses fatores aumentam a produção de aleloquímicos, o que eleva a interferência alelopática (INDERJIT, 1998; BATISH et al., 2005).

A alelopatia pode operar simultaneamente, sequencialmente e em combinação com os mecanismos de interferência, tal como a adição de nutrientes no solo, particularmente de N. Alguns estudos demonstraram que as concentrações de certos nutrientes no solo interferem na produção dos metabólitos secundários nas plantas (XIAO et al., 2007; GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

A influência de nutrientes no solo está correlacionada com intensidade de luz incidente e voltada para discussões sobre alocação de recursos, as quais visam estabelecer uma relação entre as disponibilidades de N, carbono e luz. De modo geral, a produção de metabólitos secundários, exceto os nitrogenados, mostra correlação positiva com a hipótese do balanço de carbono/nutriente (CNB). Sob condições limitantes de nutrientes, há menor taxa de crescimento da planta e aumento na produção de compostos à base de carbono, particularmente de metabólicos secundários (NGUYEN & NIEMEYER, 2008; GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Em manjeriço, os resultados comprovaram essa relação, observando-se que na medida em que houve adição de doses crescente de N a

quantidade de ácidos fenólicos reduziu (NGUYEN & NIEMEYER, 2008). Em centeio (*Secale cereale* L.) verificou-se elevação na quantidade de aleloquímicos em resposta à redução na adubação nitrogenada (MWAJA et al., 1995).

Contudo, há, ainda, divergência quanto à hipótese do balanço CNB, pois já foi demonstrado que podem existir condições em que a disponibilidade de nutrientes não influencia na produção de metabólitos secundários (MUZIKA & PREGITZER, 1992). Além disso, questões genótípicas não devem ser dispensadas das discussões.

Em geral, a produção global de metabólitos nitrogenados pelas plantas (alcaloides, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos) é aumentada com a maior disponibilidade de N no solo. Mas, com a consequente elevação na massa seca da planta em resposta à adubação, a concentração do N nos tecidos pode diminuir, pelo efeito da diluição. Além disso, existem evidências de que não é somente a disponibilidade ambiental de N, em si, que influencia o metabolismo secundário, mas sim, a quantidade deste que é incorporada aos tecidos vegetais. Em solos ácidos, devido à redução na taxa de conversão de amônio a nitrato, a incorporação de N pode ser inibida, o que explicaria os altos níveis de metabólitos secundários (especialmente compostos fenólicos) em plantas crescendo nesse tipo de solo (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Os efeitos de nutrientes nos níveis de derivados do ácido chiquímico (especialmente ácidos cinâmicos simples e taninos hidrolisáveis e condensados) são bem documentados e deficiências em N, fósforo, enxofre e potássio geralmente resultam em maiores concentrações destes metabólitos. Por outro lado, os metabólitos

derivados do mevalonato parecem não mostrar correlações consistentes com mudanças na disponibilidade de N, fósforo ou potássio (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Muzika e Pregitzer (1992) sugeriram que a disponibilidade de N afeta as concentrações de fenólicos mais fortemente do que dos terpenóides porque vários compostos fenólicos são produzidos via ácido chiquímico. Entretanto, o aumento dos compostos fenólicos em relação à disponibilidade de nutrientes no solo pode variar entre as espécies de plantas e com as diferentes rotas de biossíntese desses compostos (HAUKIOJA et al., 1998; FREITAS et al., 2008; LEITE et al., 2012).

#### **2.4.2 Composição bromatológica**

A composição bromatológica constitui um dos parâmetros na avaliação da qualidade das plantas forrageiras. Daí a importância da sua avaliação nas pastagens submetidas a distintos ambientes, manejo e, especialmente, no caso de gramíneas, ao suprimento de N, por ser o elemento de maior influência sobre a produção dessas plantas.

A adubação nitrogenada acelera o crescimento, tornando possível colheitas mais frequentes da forragem, incrementa a produção de matéria seca e PB, ao passo que pode proporcionar a redução da parede celular e lignina (MONTEIRO & WERNER, 1977; BRÂNCIO et al., 2002).

Como os açúcares são utilizados na síntese de aminoácidos e proteínas, o aumento no suprimento de N reduz o

conteúdo de açúcares nas plantas. As proteínas são acumuladas no conteúdo celular e têm o efeito de diluição dos componentes da parede celular, aumentando a digestibilidade. Por outro lado, ocorre maior lignificação, pois há maior crescimento e desenvolvimento das plantas. O resultado final no valor nutritivo dependerá, então, desses dois efeitos, contrários, que interagem com os efeitos do ambiente (VAN SOEST, 1994).

Em geral, as gramíneas respondem positivamente quanto à concentração de PB à elevação das doses de N, como foi verificado em capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.) (BARBOSA et al., 2003). Porém, para FDA e FDN os resultados são divergentes. Nessa mesma espécie foi verificado declínio no teor de FDN em resposta à adubação nitrogenada por Belarmino et al. (2001) e Almeida et al. (2000), mas Ruggiero (2003) não verificou efeito do N nesse atributo. Para FDA, Benett et al. (2008) obtiveram redução à aplicação de N em capim-colonião, mas Costa (2003) verificou que não houve alteração nesse atributo com o aumento da adubação nitrogenada.

Portanto, a composição bromatológica das plantas é variável de acordo com fatores genotípicos e ambientais, que, frequentemente, interagem. Soma-se a isso o fato de que as divergências de resultados podem decorrer da partição distinta de fotoassimilados nas plantas, que, muitas vezes, não é avaliada, dificultando a interpretação dos resultados. É sabido que na lâmina foliar das gramíneas há maior conteúdo proteico e menor teor de fibras, ao contrário do que se verifica nos colmos. Portanto, o aumento de um ou outro componente afeta, conseqüentemente, a qualidade nutricional da planta.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram realizadas avaliações sobre o capim-annoni, quanto ao crescimento e alocação de biomassa, caracterização bromatológica, avaliação de metabólitos secundários potencialmente alelopáticos e atividade alelopática.

#### 3.1 Área experimental

A área em que a aplicação dos tratamentos ocorreu se caracterizava por ser de vegetação secundária, com presença de gramíneas e dicotiledôneas rasteiras (20%) no extrato inferior e de capim-annoni no extrato superior (80%). Historicamente, essa área não recebeu adubação, nem sofreu queimadas. Porém, era submetida a roçadas anuais.

Para o início deste estudo, em agosto de 2010, 100 m<sup>2</sup> da área foi cercada, para impedir o tráfego de máquinas agrícolas. Em julho de 2013 foi realizada a coleta de amostras do solo (Latosolo Vermelho Distroférico), na profundidade de 0-20 cm. O resultado, a partir de análise realizada conforme Tedesco et al. (1995), apontou: teor de argila: 40,7%; pH em água: 5,3; P: 6,6 mg.dm<sup>-3</sup>; K: 164 mg.dm<sup>-3</sup>; matéria orgânica: 3,7%; Al: 0,3 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Ca: 4,2 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,9 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; H+Al: cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; CTC: 15,2 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; saturação de bases: 43%; saturação de Al: 4%; saturação de K: 2,8%; S: 10,0 mg.dm<sup>-3</sup>; Mn: 30,9 mg.dm<sup>-3</sup>; Bo: 0,5 mg.dm<sup>-3</sup>; Zn: 1,20 mg.dm<sup>-3</sup>; Cu: 2,1 mg.dm<sup>-3</sup>. Para reduzir a acidez e elevar o teor de fósforo, em julho de 2013, foi aplicado o equivalente a 2 t.ha<sup>-1</sup> de

calcário e  $72 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , em superfície, imediatamente após uma roçada, seguida da retirada do material vegetal da superfície do solo. A vegetação foi mantida em crescimento livre até a demarcação das parcelas e aplicação dos tratamentos, em setembro do mesmo ano. Nesse mês foi feito um emparelhamento da área, mediante a passagem de uma roçadeira costal, com posterior retirada do material com auxílio de ancinhos (Figura 1).



Figura 1- Área experimental no Campus da Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, 2013.

As temperaturas médias e precipitação mensal ocorridas durante o período experimental, de setembro de 2013 a janeiro de 2014, estão apresentadas na Figura 2.

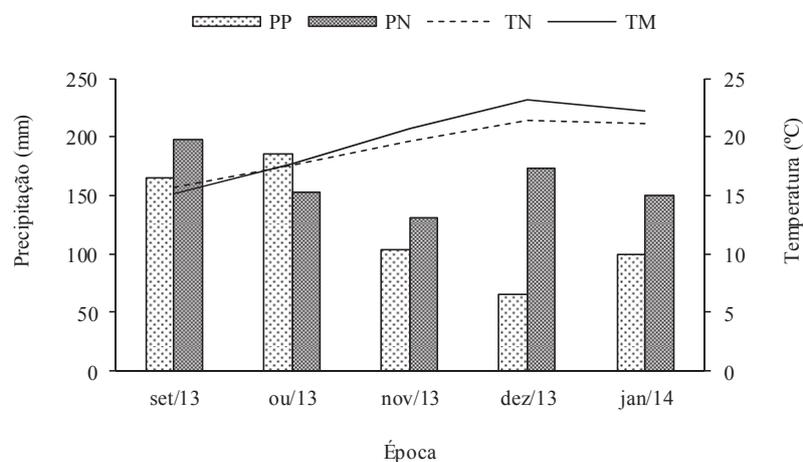


Figura 2- Temperaturas médias e precipitações mensais ocorridas no período de crescimento das plantas. TM: Temperatura média; TN: Temperatura normal; PP: Precipitação pluvial; PN: Precipitação normal. Fonte: Embrapa (2014).

### 3.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos consistiram da combinação de doses de N (0, 100 e 200 kg.ha<sup>-1</sup>) e estágio fenológico por ocasião da colheita das amostras (vegetativo e florescimento), arranjados em parcela subdivida, e em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. Na parcela principal, constituída de uma área de 8 m<sup>2</sup>, foram alocadas as doses de N, e nas subparcelas (4 m<sup>2</sup>), o estágio fenológico. As doses de N foram divididas em duas frações, com aplicação da primeira em 6/9/2013 e da segunda em 23/09/2013 (17 dias após). As plantas foram mantidas sob crescimento livre até a colheita das plantas para obtenção de material vegetal para preparo dos extratos. Quinzenalmente, realizou-se a medição da altura.

### 3.3 Amostragem

A primeira colheita de material vegetal ocorreu quando as plantas estavam em estágio vegetativo, em 18/11/2013. Nessa ocasião havia passado sessenta dias após a segunda e última aplicação das doses de N, quando as plantas estavam com 77 dias de crescimento (Figura 3A). A segunda colheita, quando as plantas estavam em florescimento, ocorreu em 7/1/2014 (50 dias após a primeira colheita), quando as plantas estavam com 128 dias (Figura 3B).

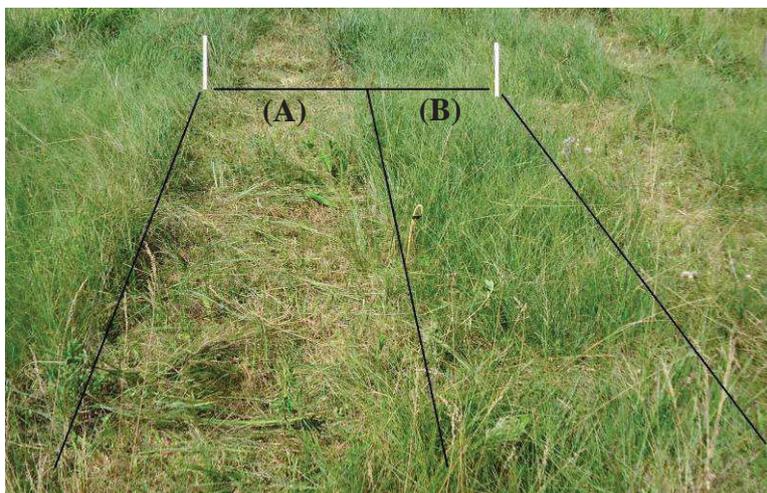


Figura 3- Subparcela onde o capim-annoni foi colhido no estágio vegetativo (A) e no florescimento (B). Passo Fundo, 2013.

Em ambas as ocasiões, a vegetação presente nas subparcelas foi cortada rente ao solo. No laboratório houve a separação das plantas de capim-annoni das demais espécies. O material senescente do capim-annoni foi descartado, ficando apenas o material metabolicamente ativo. Uma subamostra de, aproximadamente, 500 g de massa fresca dessa gramínea, foi separada e submetida à separação de folhas e colmos floríferos, que foram

secos em estufa de ar forçado a 60 °C por 72 horas, com posterior pesagem, para determinação da proporção dos componentes nas amostras (Figura 4). O restante da amostra de capim-annoni da subparcela foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa de ar forçado a 35 °C, até obtenção de peso constante, seguido de trituração em micromoinho. Uma parte da amostra foi seca em 60 °C, para análise do teor de N, a fim de caracterizar as amostras a serem processadas para obtenção dos extratos, e para a análise bromatológica.



Figura 4- Massa fresca de capim-annoni submetida à separação de folhas (A) e colmos floríferos (B) para a determinação da proporção dos componentes nas amostras. Passo Fundo, 2014.

### 3.4 Composição bromatológica

As amostras de capim-annoni foram avaliadas quanto ao teor de PB, FDA e FDN, pelo método de NIRS, previamente calibrado pelo Centro de Pesquisa em Alimentos (CEPA, UPF). Calculou-se a concentração de N de cada amostra pela divisão dos valores de PB por 6,25 e da hemicelulose pela diferença entre FDN e FDA.

### 3.5 Análise de metabólitos secundários

#### 3.5.1 Preparo dos extratos

Os extratos de capim-annoni foram preparados com 10 g do material vegetal, previamente seco e moído, mantidos sob refluxo por uma hora com 485 mL de etanol 95% e 15 mL de ácido clorídrico. Os extratos foram filtrados e concentrados em rotavapor, sob pressão reduzida e à temperatura de 80 °C, até a obtenção de extratos secos. Em seguida, foram ressuspensos em 150 mL de água destilada e particionados com acetato de etila (Figura 5). Os extratos foram, então, novamente concentrados em rotavapor e, desse material, 0,05 g de cada amostra foram ressuspensas em 5 mL de metanol grau CLAE. Após a ressuspensão, os extratos foram filtrados em membrana de nylon com diâmetro de poros de 0,45 µm e colocados em *vials* para a análise por CLAE.

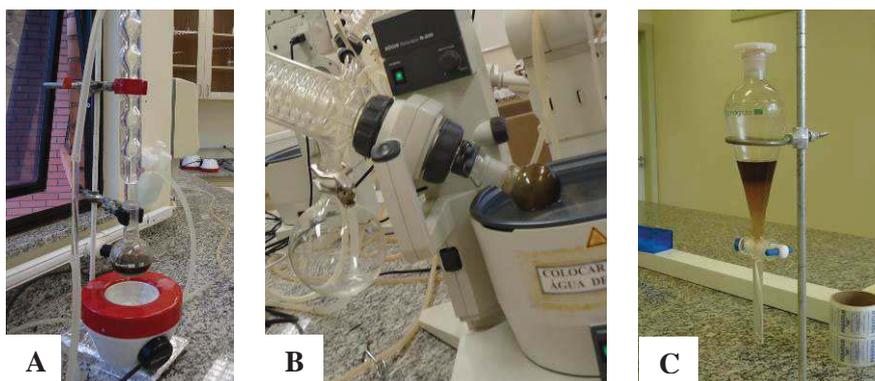


Figura 5- Obtenção de extratos de capim-annoni mantidos sob refluxo (A), concentrados em rotavapor (B) e particionados com acetato de etila (C). Passo Fundo, 2014.

### 3.5.2 Análise por CLAE

Foram quantificados os seguintes metabólitos secundários: compostos fenólicos da classe dos ácidos fenólicos (ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico, vanílico e gálico), a cumarina (1,2-benzopirona), os monômeros formados de procianidinas (catequina, epicatequina), os flavonoides (rutina, quercetina e canferol).

A metodologia para tais análises foi desenvolvida e validada por Chini (2013) e Favaretto (2014), que utilizaram as seguintes substâncias químicas de referência (SQR): ácido vanílico (>97%, Sigma Aldrich, lote BCBF7869V), ácido ferúlico (99%, Sigma Aldrich, lote STBC5005V), ácido p-cumárico (>98%, Sigma Aldrich, lote 091M1197V), ácido cafeico (>98%, Sigma Aldrich, lote SLBB5479V), cumarina (>98%, Sigma Aldrich, lote 030M1441V). Além das SQR de rutina (Sigma Aldrich lote BCBD8327V), quercetina (Sigma Aldrich LOTE 060M1196V), catequina (Sigma Aldrich LOTE BCBC2740), epicatequina (Sigma Aldrich BCBC8078V), ácido gálico (Sigma Aldrich LOTE 54705138) e canferol (Sigma Aldrich BCBD1168). Soluções ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foram preparadas dissolvendo-se 0,1 g das SQRs em balão volumétrico com 100 mL de metanol grau HPLC.

A fase móvel utilizada para os compostos foi água ultrapurificada obtida pelo Sistema Directi-Q – Millipore®/Millipore Corporation (EUA) com pH específico para cada composto e acetonitrila, em diferentes proporções (Tabela 1):

Tabela 1 – Condições cromatográficas empregadas na análise dos grupos químicos por meio de CLAE

Grupo químico	SQR	Fase móvel
Ácidos fenólicos	ácido cafeíco ácido ferúlico ácido vanílico ácido p-cumárico	acetonitrila: água pH 3,4 (25:75)
	ácido gálico	acetonitrila: água pH 3,0 (10:90)
Procianidinas mononéricas	catequina epicatequina	acetonitrila: água pH 3,0 (18:82)
	quercetina	acetonitrila: água pH 3,0 (45:55)
Flavonoides	canferol	acetonitrila: Solução A (30:70) Solução A= metanol: acetonitrila: água pH 3,0: ácido acético (40:15:45:2)
	rutina	acetonitrila: água pH 3,0 (18:82)
Cumarinas	1-2 benzopirona	acetonitrila: água pH 3,4 (55:45)

As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Flexar LC Perkin Elmer (Burnsville, MN, USA), contendo bomba binária Flexar LC, injetor automático Autosampler Flexar LC, detector de comprimento de onda variável Flexar PDA em 280 e 274 nm, auto-amostrador, no qual os dados cromatográficos foram analisados em Software Chromera Workstation.

Foi utilizada uma coluna de fase reversa C<sub>18</sub> ACE (250 x 4,6 mm) e uma pré-coluna do mesmo material (Figura 6). Foram injetados alíquotas de 20 µL dos extratos, em triplicata. Os compostos presentes em cada extrato foram identificados e quantificados.



Figura 6- Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a um *software*.  
Passo Fundo, 2014.

### **3.6 Atividade alelopática**

#### **3.6.1 Preparo dos extratos**

Para testar a atividade alelopática, foram preparados extratos aquosos com o material oriundo das colheitas no estágio vegetativo e florescimento, em concentração de  $0,15 \text{ g.mL}^{-1}$ . Misturou-se 15 g do material vegetal com 100 mL de água destilada, com posterior permanência, no escuro, por 24 horas, em temperatura ambiente, de acordo com método de maceração estática de Soares & Vieira (2000). Em seguida, o material foi filtrado, ficando apenas o extrato aquoso, que foi caracterizado quanto ao pH, que ficou dentro dos valores normais (OLIVEIRA et al., 2012) (Tabela 2).

Tabela 2- pH dos extratos aquosos de capim-annoni elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo e no florescimento tratadas com diferentes doses de N

Nitrogênio (kg.ha <sup>-1</sup> )	Estádio fenológico	
	Vegetativo	Florescimento
	pH	
0	5,3	5,8
100	5,8	5,9
200	6,4	6,2

### 3.6.2 Bioensaio de germinação

O bioensaio constou de teste de germinação de sementes de alface, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos foram a combinação das três doses de N e dois estádios fenológicos, acrescido do tratamento-controle (água destilada). As unidades experimentais constaram de placas Gerbox, nas quais foram colocadas cinquenta (50) sementes, dispostas equidistantes, sobre papel Germitest umedecido com 9 mL de cada extrato e do tratamento-controle. Após a aplicação dos tratamentos, as caixas foram vedadas com filme plástico, para evitar a perda da água por evaporação, e permaneceram em câmara de germinação, a 20 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante dez dias.

A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente. Considerou-se germinadas as sementes com 2 mm de protrusão radicial (FERREIRA & AQUILA, 2000). A partir disso foram avaliadas a germinabilidade (G), o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação (TMG) (RANAL & SANTANA, 2006), de acordo com as seguintes fórmulas: a) G:  $(\sum ni \cdot N^{-1}) \cdot 100$ , no qual  $\sum ni$  é o número total de sementes germinadas

em relação ao número de sementes dispostas para germinar (N); b) IVG:  $G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ , onde G1, G2, Gn é o número de sementes germinadas e N1, N2, Nn é o número de dias após a semeadura; c) TMG:  $\sum ni \cdot ti / \sum ni$ , onde ni é o número de sementes germinadas dentro de determinado intervalo de tempo (ti).

### 3.6.3 Bioensaio do crescimento inicial

Para a avaliação do crescimento inicial das plântulas de alface foram utilizadas sete plântulas pré-germinadas em água destilada. Após três dias de germinação foi feita a medição do comprimento da raiz e da parte aérea das plântulas, em seguida, foram transferidas para as caixas gerbox contendo papel Germitest umedecido com 9 mL dos mesmos tratamentos utilizados para o teste de germinação. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. As caixas de gerbox permaneceram em câmara de germinação durante 15 dias nas mesmas condições descritas para o teste de germinação.

### 3.7 Análise estatística

Os resultados do crescimento, da alocação de biomassa, da bromatologia, dos metabólitos secundários e da atividade alelopática foram submetidos à ANOVA, no modelo de parcela subdividida no tempo, com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Crescimento e alocação de biomassa do capim-annoni

A altura das plantas de capim-annoni respondeu positivamente ao aumento das doses de N, independentemente do estágio fenológico. Como era esperado, no estágio de florescimento observou-se elevação no dossel, em virtude do alongamento dos colmos (Figura 7A). O mesmo foi observado quando da aplicação de N, sem ocorrer variação entre as duas maiores doses (Figura 7B). Em *Eragrostis teff* (Zucc) Trotter), Mirutse et al. (2009) apontaram resposta positiva na altura das plantas com aplicação de até 46 ou 69 kg.ha<sup>-1</sup> N, em relação a doses inferiores e ao controle.

A quantidade de massa seca (MS) de capim-annoni foi significativamente influenciada pela interação da adubação nitrogenada e estágio fenológico. Na colheita realizada por ocasião do florescimento obteve-se maior quantidade de MS, em virtude da participação de colmos e inflorescências na parte aérea das plantas (Figura 8).

A diferença na quantidade de MS colhida nos dois estágios fenológicos só foi verificada quando houve a aplicação de N, o que indica o efeito positivo do nutriente no alongamento e/ou produção de colmos floríferos. É sabido que o N acelera o crescimento, o perfilhamento, a produção de folha e, conseqüentemente, a expansão da parte aérea (FREITAS et al., 2005). Mirutse et al. (2009), à semelhança do que foi verificado na altura de

plantas de *E. teff*, também observaram efeito positivo do N sobre tal atributo.

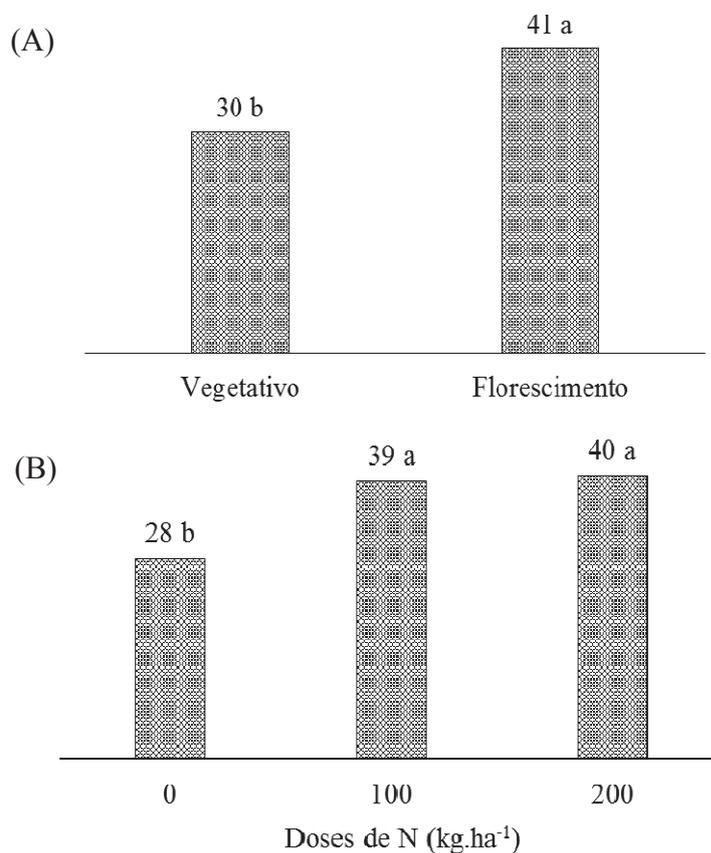


Figura 7 - Altura (cm) do dossel de plantas de capim-annoni em distintos estádios fenológicos (A) e submetidas a doses crescentes de nitrogênio (B). Valores sobre as colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância. Passo Fundo, 2014.

O capim-annoni é uma gramínea que não alonga os entrenós no estágio vegetativo, fase em que sua parte aérea é formada basicamente por folhas. Assim, o alongamento dos entrenós ocorre apenas em colmos com ponto de crescimento diferenciado, ou seja, colmos que portam a inflorescência. Assim, na MS colhida no estágio

vegetativo não houve participação de outro órgão além de folhas (Tabela 3), ao passo que no estágio de florescimento a alocação nos colmos floríferos variou entre 31 e 46%, dependendo da dose de N. Na dose intermediária de N houve significativo aumento na participação de colmos floríferos, com aumento médio de 48% em relação aos demais tratamentos de N.

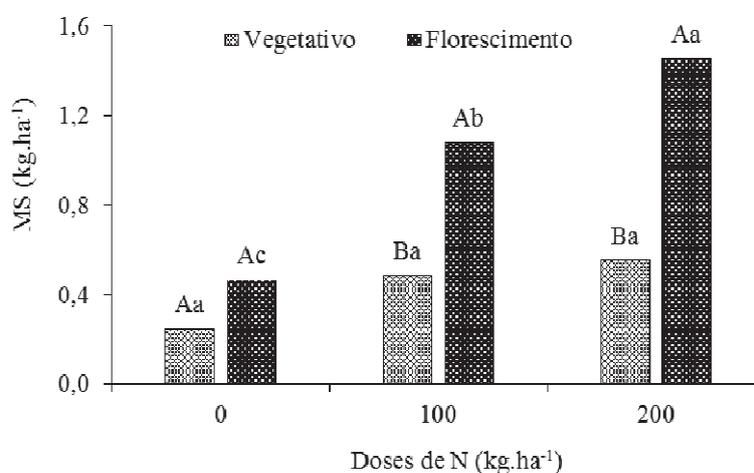


Figura 8 – Massa seca (MS) de material vegetal obtido na colheita de capim-annoni em distintos estádios fenológicos e submetido a doses crescentes de nitrogênio. Letras maiúsculas comparam as doses de N em cada estágio fenológico e letras minúsculas comparam o estágio fenológico em cada dose pelo teste de Tukey a 5% de significância. Passo Fundo, 2014.

A aplicação de 100 kg.ha<sup>-1</sup> de N estimulou a formação desse componente, em detrimento da formação mais ativa de folhas, ao passo que com a dose superior ocorreu o inverso. Nesse caso, o decréscimo da MS em colmos floríferos pode ter sido em decorrência de uma possível competição por nutrientes, sol e água, em virtude do estímulo à iniciação e expansão foliar, o que comumente gera a

mortalidade de afilhos reprodutivos (CARÁMBULA, s.d). Isso deve ter sido, ainda, potencializado, pelo fato de que este experimento foi conduzido em uma área de vegetação secundária, e que, apesar de ter sido roçada rente ao solo, apresentou a rebrota de gramíneas e eudicotiledôneas no estrato inferior.

Tabela 3- Participação de folhas (F) e de colmos floríferos (CF) no material vegetal oriundo de plantas de capim-annoni tratadas com doses crescentes de N e colhidas nos estádios vegetativo e florescimento

Doses de N (kg.ha <sup>-1</sup> )	Vegetativo		Florescimento	
	F	CF	F	CF
	-----%-----			
0	100	0	69	31
100	100	0	54	46
200	100	0	67	32

#### 4.2 Caracterização bromatológica de capim-annoni

O capim-annoni respondeu à adubação nitrogenada, uma vez que sem aplicação de N o valor incorporado nos tecidos foi menor comparado com a aplicação de 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N. Essa incorporação foi maior quando as plantas estavam em estágio vegetativo (Figura 9). Há na literatura evidências de que não é somente a disponibilidade de N no solo, em si, que influencia na composição química, mas sim, a quantidade deste que é incorporada aos tecidos vegetais (GOBBONETO & LOPES, 2007). Por isso, foi realizada a análise do N no presente trabalho.

As folhas de capim-annoni colhidas de plantas em estágio vegetativo mostraram aumentos significativos nos teores N e PB em resposta ao aumento da adubação nitrogenada, e a magnitude variou

de acordo com a dose de N (Figura 9). Birch (1967) obteve elevação nos teores de gramínea de hábito similar, *E. curvula* (Schrad.) Nees, à aplicação de até 180 kg.ha<sup>-1</sup> de N.

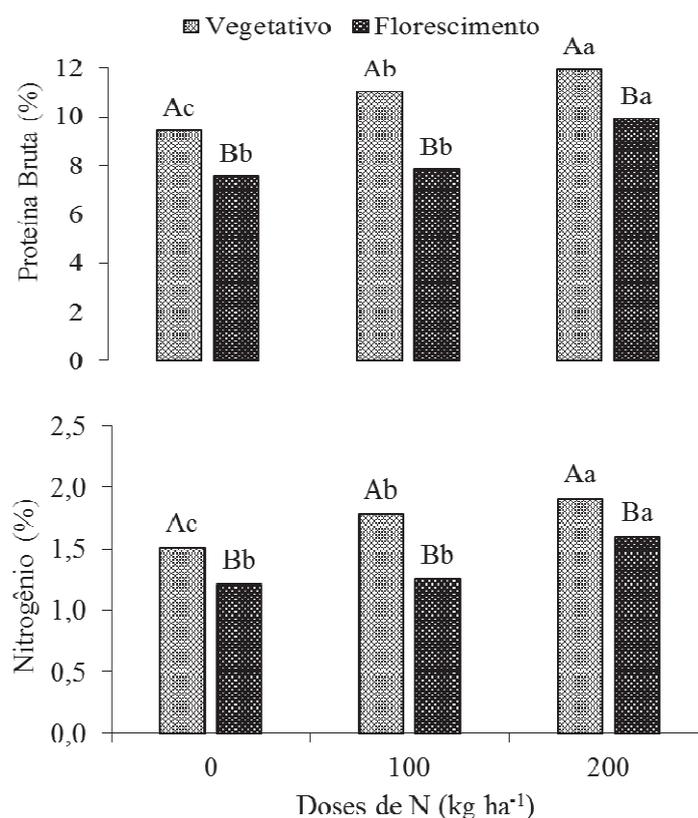


Figura 9- Teor de proteína bruta e nitrogênio na massa seca de plantas de capim-annoni em resposta à adubação nitrogenada e estádios fenológicos vegetativo e florescimento. Letras maiúsculas comparam as doses de N em cada estágio fenológico e letras minúsculas comparam o estágio fenológico em cada dose pelo teste de Tukey a 5% de significância. Passo Fundo, 2014.

Mesmo com o aumento dos teores de PB no capim-annoni, os valores que foram verificados são baixos para fins de nutrição de ruminantes, uma vez que para o bom desempenho animal, a gramínea

deve conter, aproximadamente, 15% de PB (WHITEMAN, 1980). Estes valores não são facilmente encontrados em forrageiras tropicais (C4), que é o caso do capim-annoni, mas em compensação, apresentam elevada taxa de acumulação de MS em relação às espécies temperadas (C3). Segundo Van Soest (1982), as plantas C4 tem menor valor nutritivo que as C3. Teores de PB inferiores a 7% são limitantes à produção animal, causando menor consumo voluntário, redução na digestibilidade e balanço nitrogenado negativo (MACHADO et al., 1998). Estas informações mostram que o capim-annoni é uma planta de baixo valor forrageiro, não oferecendo suporte nutricional para os animais.

No material oriundo de plantas colhidas no estágio de florescimento, os teores de N e PB foram menores em virtude de que, nesse caso, houve a participação de colmos floríferos. Segundo Cuomo et al. (1996), com o avanço do desenvolvimento da planta, a proporção de lâminas foliares diminui progressivamente, à medida que se intensifica o processo de alongamento do colmo, resultando na redução gradativa da relação lâmina/colmo. Isso é normalmente observado em gramíneas, como foi relatado em braquiária (*Brachiaria* spp.) (BRITO et al., 2003).

A inclusão dos colmos, sejam ou não floríferos, afeta negativamente o valor nutritivo das gramíneas, uma vez que as folhas possuem teores de PB mais elevados que os colmos. Isso foi evidenciado nesse estudo ao observar que, quando o capim-annoni tinha somente folhas, o teor de PB foi de 9,5% e quando houve partição de colmos floríferos esse valor decresceu para 7,6% (sem a interferência da aplicação nitrogenada). Além disso, os colmos não

são a fração preferencial na dieta consumida pelos animais, que consomem quantidades maiores de folhas em relação a outras partes da planta, em virtude de sua menor resistência à quebra pela mastigação e do menor tempo de retenção no rúmen (MINSON, 1990).

Quanto ao conteúdo de fibra, observou-se efeito apenas do estágio fenológico e, somente, nos teores de FDN e hemicelulose. Os maiores teores de FDN foram no material seco contendo somente folhas (74%) (Figura 10). Resultados similares foram observados por Alfaya et al. (2000) que constataram valores de FDN de 81% quando o capim-annoni foi cortado no estágio vegetativo. Isso evidencia que as folhas dessa gramínea são altamente fibrosas, o que compromete o seu consumo nas pastagens por ele invadidas, e eleva sua persistência nas mesmas. Estudos apontaram a espécie como deficiente em qualidade e palatabilidade, não oferecendo suporte nutricional para ovelhas adultas e cordeiros, tornando-se um grande problema para os pecuaristas, pois a rejeição dos animais favorece o acúmulo de grande quantidade de massa (FIGUEIRÓ, 1976; NASCIMENTO & HALL, 1978; MEDEIROS et al., 2004).

A FDN é uma medida do conteúdo total de fibra insolúvel do alimento e constitui o parâmetro mais usado para o balanceamento de dietas dos ruminantes (MACEDO-JÚNIOR et al., 2007). Sua concentração é positivamente correlacionada com o preenchimento do trato digestivo e negativamente correlacionada com a disponibilidade energética, a concentração de FDN é usada para expressar os mecanismos de regulação de consumo e ao tempo de mastigação do animal (BUXTON, 1989). De acordo com Brâncio et al. (2002), teores

acima de 55-60% na MS correlacionam-se negativamente com o consumo da planta. Com isso, baixos valores de FDN permitem ao animal consumir uma forragem de melhor qualidade (VAN SOEST,1994).

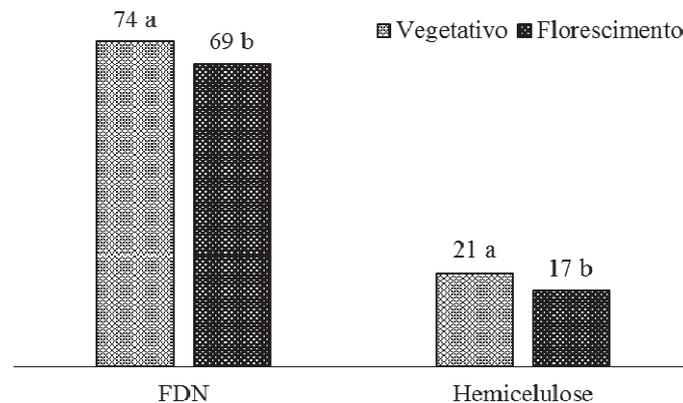


Figura 10- Teor (%) de fibra em detergente neutro (FDN) e hemicelulose da massa seca de plantas de capim-annoni colhidas nos estádios vegetativo e florescimento. Valores seguidos de mesma letra sobre as colunas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância. Passo Fundo, 2014.

A hemicelulose é uma coleção heterogênea de polissacarídeos amorfos com grau de polimerização muito inferior ao da celulose (VAN SOEST, 1994). Em células maduras, as hemiceluloses encontram-se mais associadas à lignina por ligações covalentes do que os outros polissacarídeos, tornando-se indisponíveis à solubilização. Neste estudo, os teores de hemicelulose não aumentaram com a idade, diminuíram com o aparecimento de colmos floríferos na MS colhida, evidenciando que há um maior teor de hemicelulose quando a planta é composta por somente folhas.

Além da fenologia da planta e da aplicação de N, os fatores climáticos, como a temperatura, também tem papel primordial sobre o valor nutricional. No presente estudo, as temperaturas tiveram um aumento tanto na colheita das plantas no vegetativo, como no florescimento (Figura 2), o que pode ter ocasionado maior teores de FDN e hemicelulose.

Isso pode ser atribuído ao fato de que as atividades metabólicas da planta são aceleradas sob altas temperaturas de crescimento, o que causa decréscimo no conjunto de metabólitos do conteúdo celular, e os produtos fotossintéticos são, dessa forma, rapidamente convertidos em componentes estruturais.

Além disso, altas temperaturas ambientais resultam em aumento na lignificação da parede celular (VAN SOEST, 1994). Sob condições de campo, os fatores climáticos interagem determinando alterações qualitativas na planta.

#### **4.3 Compostos do metabolismo secundário de capim-annoni**

Os resultados deste trabalho são inéditos para a espécie, considerando que, até o momento, não há registros sobre o efeito da adubação nitrogenada e do estágio fenológico na concentração dessas substâncias. Em extratos de capim-annoni foi observada a presença dos ácidos cafeico, ferúlico, vanílico e p-cumárico, das procianidinas monoméricas, epicatequina e catequina e de cumarina. Não foi constatada a presença de ácido gálico e dos flavonoides (canferol, quercetina e rutina). De acordo com Silva (2007), tais flavonoides são raros na família das Poaceae.

Os cromatogramas mostraram que a concentração dos compostos fenólicos variou conforme o estágio fenológico e as doses de N (Figuras 11, 12, 13, 14, 15 e 16).

Três dos ácidos fenólicos analisados são derivados do ácido cinâmico (p-cumárico, cafeico e ferúlico) e um é derivado do ácido benzoico (vanílico). Os ácidos ferúlico, cafeico e p-cumárico, juntamente com o ácido sinápico, são comumente encontrados em gramíneas (STONE, 2010). No capim-annoni, a concentração desses ácidos foi afetada pela interação dos fatores aqui estudados, N e estágio fenológico. Na média de dose de N e estágio fenológico, a ordem decrescente de concentração dos ácidos foi: ácido p-cumárico > vanílico > ferúlico > cafeico, em que os dois primeiros representaram 54% e 38% dos ácidos fenólicos avaliados, e dos demais, entre 4 e 5% (Tabela 4).

Em se considerando separadamente os estágios fenológicos, os ácidos ferúlico e cafeico inverteram as posições, pois no estágio vegetativo o ácido ferúlico foi o que se apresentou em menor concentração. O oposto foi verificado no estágio de florescimento, em que essa posição foi do ácido cafeico, evidenciando a alteração de rotas metabólicas desses ácidos com o processo ontogênico da gramínea estudada.

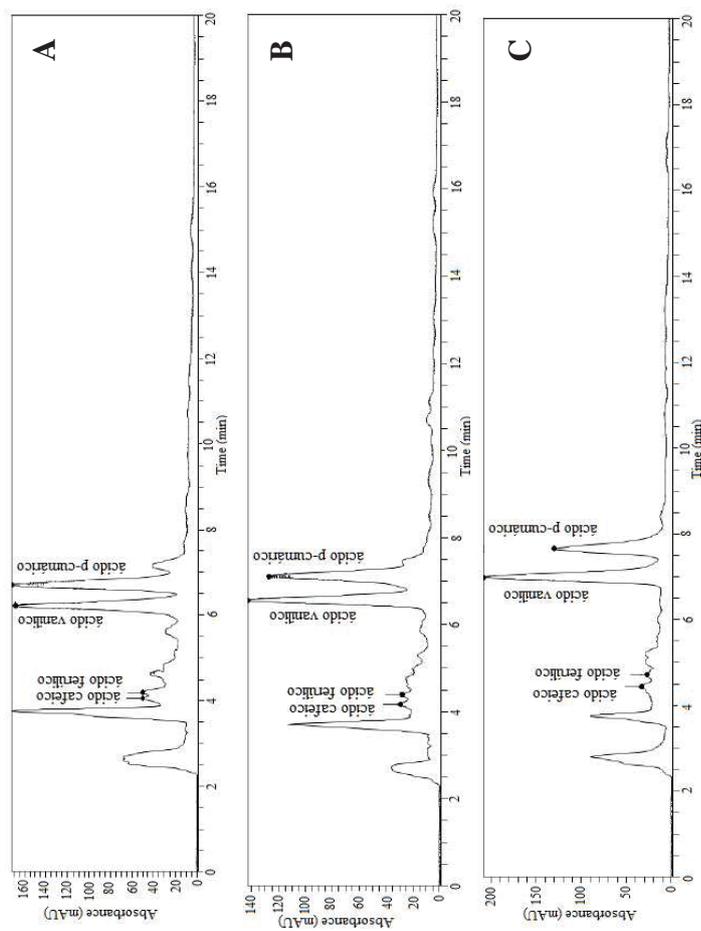


Figura 11 – Perfil cromatográfico para a detecção de ácidos fenólicos em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estágio vegetativo e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N (C). Passo Fundo, 2014.

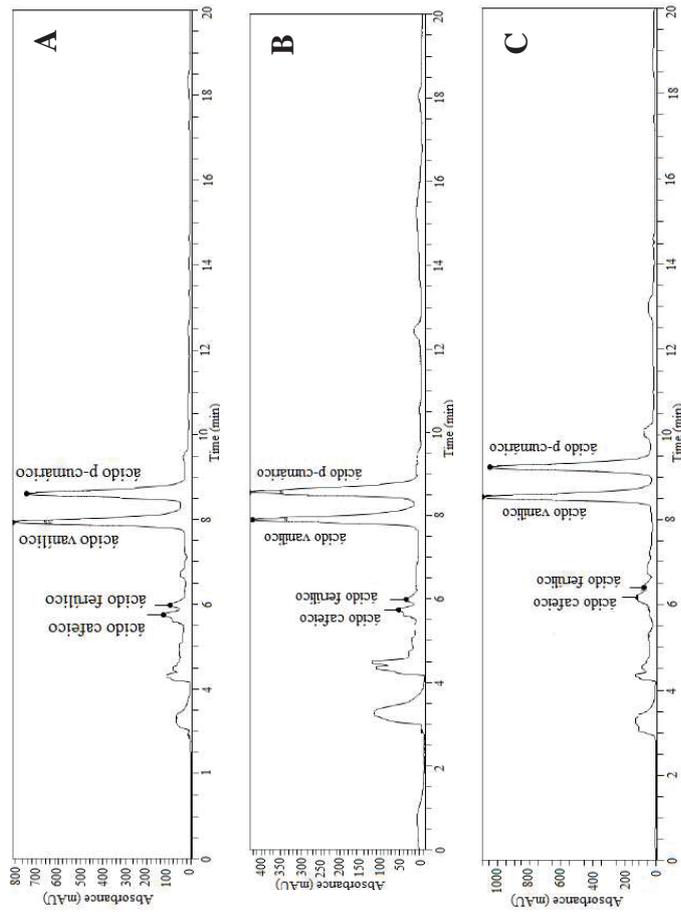


Figura 12 – Perfil cromatográfico para a detecção de ácidos fenólicos em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estágio de florescimento e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg ha<sup>-1</sup> de N (C). Passo Fundo, 2014.

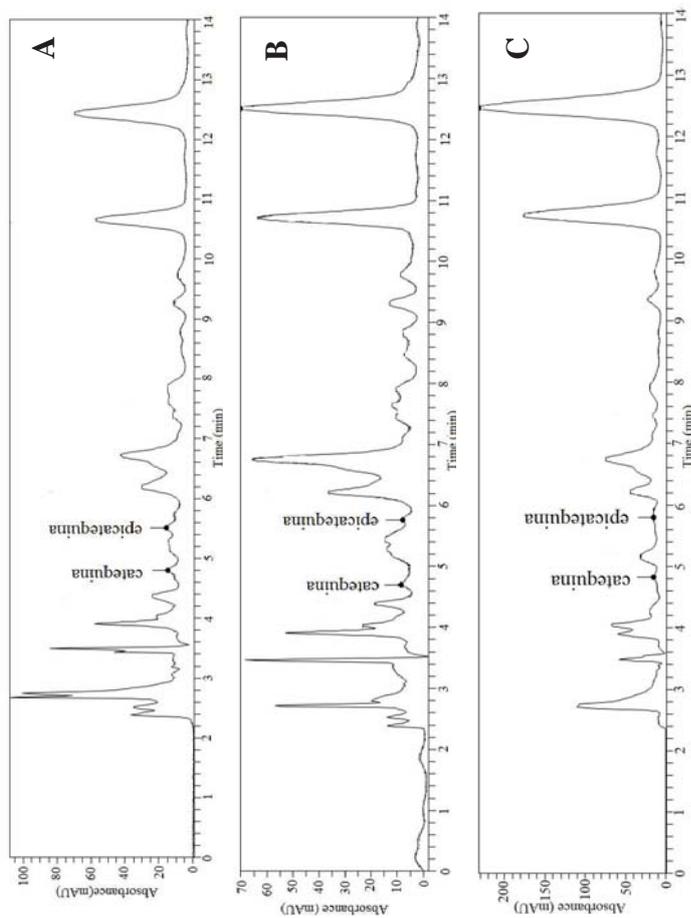


Figura 13 – Perfil cromatográfico para a detecção de catequina e epicatequina em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estágio vegetativo e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N (C). Passo Fundo, 2014.

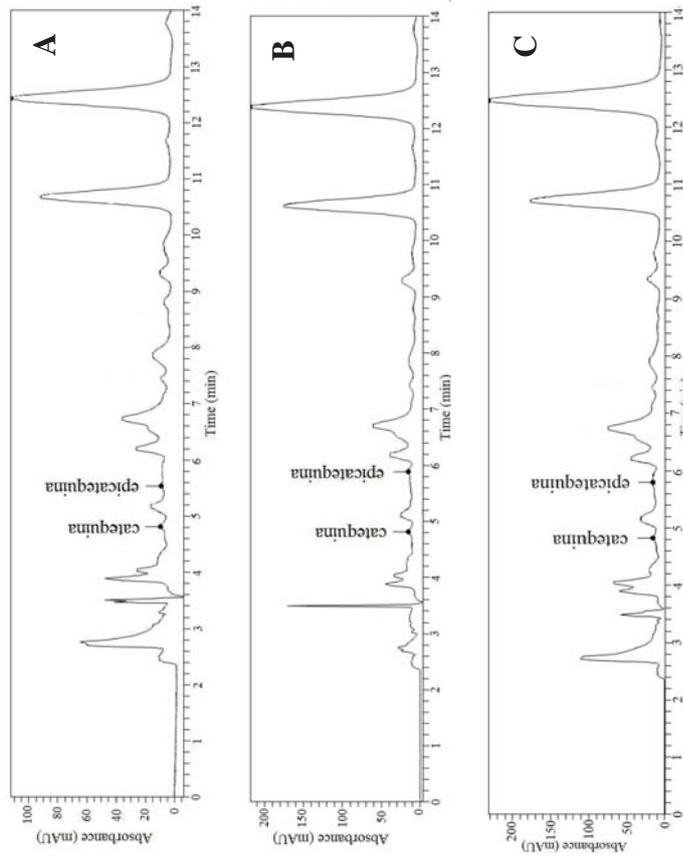


Figura 14 – Perfil cromatográfico para a detecção de catequina e epicatequina em extratos de capim-annoni preparados com plantas colhidas no estágio de florescimento e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200 kg·ha<sup>-1</sup> de N (C). Passo Fundo, 2014

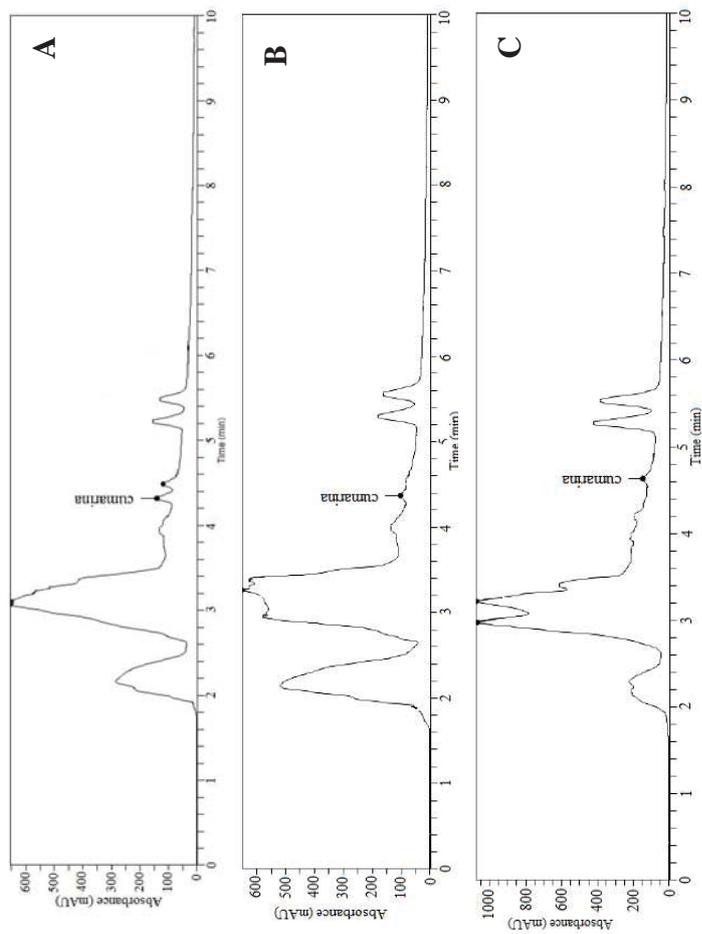


Figura 15 – Perfil cromatográfico para a detecção de cumarina em extratos de capim-ammoni preparados com plantas colhidas no estágio vegetativo e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) ou 200  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N (C). Passo Fundo, 2014.

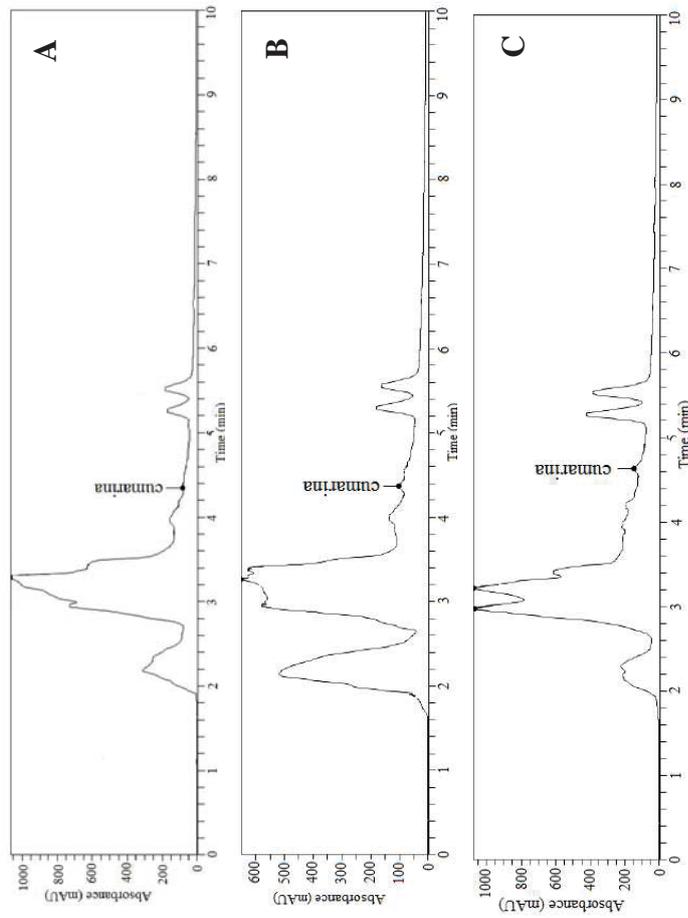


Figura 16 – Perfil cromatográfico para a detecção de cumarina em extratos de capim-ammoni preparados com plantas colhidas no estágio de florescimento e tratadas com doses de 0 (A), 100 (B) e 200 kg·ha<sup>-1</sup> de N (C). Passo Fundo, 2014.

Tabela 4 – Concentração de ácidos fenólicos em extratos de plantas de capim-annoni colhidas em distintos estádios fenológicos e tratadas com distintas doses de N. Passo Fundo, 2014

Nitrogênio (kg.ha <sup>-1</sup> )	Estádio fenológico		Média
	Vegetativo	Florescimento	
	Ácido cafeico (mg.g <sup>-1</sup> )		
0	0,67 Aa	0,80 Aa	0,73 a
100	0,49 Aa	0,49 Ab	0,50 b
200	0,43 Ba	0,81 Aa	0,62 c
<i>Média</i>	<i>0,53 B</i>	<i>0,70 A</i>	
	Ácido ferúlico (mg.g <sup>-1</sup> )		
0	0,24 Ba	3,20 Aa	1,72 a
100	0,23 Ba	0,41 Bc	0,32 c
200	0,05 Ba	1,17 Ab	0,61 b
<i>Média</i>	<i>0,17 B</i>	<i>1,59 A</i>	
	Ácido vanílico (mg.g <sup>-1</sup> )		
0	2,84 Ba	9,82 Ab	6,33 b
100	2,32 Ba	6,22 Ac	4,27 c
200	3,63 Ba	13,44 Aa	8,50 a
<i>Média</i>	<i>2,93 B</i>	<i>9,82 A</i>	
	Ácido p-cumárico (mg.g <sup>-1</sup> )		
0	4,45 Ba	13,28 Ab	8,86 ab
100	3,71 Ba	10,38 Ac	7,04 b
200	3,60 Ba	19,38 Aa	11,49 a
<i>Média</i>	<i>3,92 B</i>	<i>14,34 A</i>	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os ácidos fenólicos aqui avaliados podem ser um dos fatores que contribui para a baixa aceitabilidade do capim-annoni pelos animais (MEDEIROS et al., 2004), uma vez que esses ácidos influenciam a qualidade e a digestibilidade das gramíneas (DJURDJEVIĆ et al., 2005), e são, possivelmente, aqueles que mais influenciam na seletividade dos animais em pastejo (BUCHSBAUM et al., 1984). Gramíneas tropicais tem, geralmente, elevadas quantidades desses ácidos (THEODOROU et al., 1994). Djurdjević et al. (2005) atribuíram a baixa qualidade de *Festuca vallesiaca*

Scheleicher e *Chrysopogon gryllus* (L.) Trin., gramíneas das estepes siberianas, à elevada quantidade de ácidos fenólicos, incluindo ácido ferúlico e p-cumárico, que são os mais comumente encontrados em parede celular de gramíneas (HARTLEY et al., 1990). Kondo et al. (1994) demonstraram que o conteúdo de ácido ferúlico e p-cumárico foi inversamente correlacionado com a degradabilidade de gramíneas. Lowry et al. (1993) verificaram que, em 19 espécies de gramíneas nativas ou introduzidas, na Austrália, os ácidos p-cumárico e ferúlico foram predominantes e que o ácido cafeico foi encontrado em apenas três espécies, com cerca de  $10 \text{ g.kg}^{-1}$  na maioria das espécies.

No capim-annoni, a concentração do ácido p-cumárico foi predominante, em relação aos demais ácidos fenólicos estudados na espécie. Isso pode explicar o alto teor de FDN nas folhas de capim-annoni (Figura 10), uma vez que esse ácido é um dos mais encontrados na parede celular das gramíneas, dificultando a mastigação dos ruminantes e/ou provocando sua rejeição. Em geral, o ácido p-cumárico é o que apresenta maior efeito negativo sobre a digestibilidade de forrageiras (CARVALHO & PIRES, 2008).

Dos fatores testados, o estágio fenológico foi aquele que teve maior poder de alteração da concentração desses metabólitos, uma vez que o N não alterou tal caractere em plantas colhidas no estágio vegetativo (Tabela 4). Sabe-se que, dentre os fatores que afetam o metabolismo secundário das plantas, está a maturidade das plantas, não apenas pela presença de flores, mas também pela alteração na rota metabólica que pode incrementar a concentração dos metabólitos nos órgãos vegetativos. Resultados similares foram observados por Chou & Lee (1988), em capim-pangola (*Digitaria*

*decumbens* Stent). Isso decorre do menor crescimento das plantas nesse estágio em relação ao estágio vegetativo, o que faz com que o excesso de carbono fique disponível para síntese desses metabólitos (FRUTOS et al., 2004). Além disso, durante a fase de floração a taxa metabólica pode ser aumentada por causa do desvio de fotoassimilados de frutos e sementes, exibindo efeitos mais fitotóxicos. Assim, com a taxa metabólica aumentada, há aumento da biossíntese e maior acúmulo de compostos do metabolismo secundário (SINGH et al., 2013). Portanto, o estágio fenológico é um fator determinante na composição de metabólitos secundários, uma vez que determina diferentes proporções dos órgãos da parte aérea das plantas. Isso indica a importância de se determinar a composição do material utilizado para a elaboração dos extratos vegetais.

Na média das doses de N, plantas de capim-annoni em estágio mais avançado de maturidade mostraram aumento de 40%, 237%, 266% e 966% na concentração dos ácidos cafeico, vanílico, p-cumárico e ferúlico, respectivamente, em relação ao que foi verificado no estágio vegetativo. Apesar das pequenas quantidades de ácido ferúlico (Tabela 4), esse ácido foi o que teve maior aumento com o florescimento das plantas, o que encontra suporte no estudo de Baby et al. (2013). Os autores atribuíram a esse ácido, a emissão de luz azul e vermelha fluorescente nas estruturas florais de gramíneas, e que esse composto teria fundamental importância na atração de insetos, possibilitando, portanto, a polinização entomófila nessas plantas. Em milho, foi verificado o dobro de ácido ferúlico nas flores masculinas (0,27%) em relação ao verificado nas folhas.

Em gramíneas, o avanço da maturidade é caracterizado pelo aumento da lignificação da parede celular, e conseqüentemente, o acréscimo dos compostos fenólicos. O ácido p-cumárico está presente em pequenas concentrações na parede primária, mas na parede secundária lignificada sua concentração é maior (STONE, 2010), o que explica a maior quantidade verificada em extratos obtidos em plantas em estágio avançado de maturidade. A análise da concentração desse ácido é considerada uma medida mais sensível do desenvolvimento da parede secundária do que a determinação da lignina (SCOBBIÉ et al., 1993).

Além da maturidade, a composição química das plantas é dependente da condição nutricional, que afeta a repartição de fotoassimilados, os eventos reprodutivos, a senescência, entre outros eventos. Para gramíneas, o N é o elemento que tem sido prioritariamente estudado, pela sua importância na produção desse grupo de plantas. Neste estudo, a concentração de ácidos fenólicos foi afetada pelo N, porém apenas quando as plantas estavam em florescimento (Tabela 4). Com a aplicação da dose máxima de N houve aumento na concentração dos ácidos vanílico e p-cumárico, o ácido ferúlico sofreu redução no seu teor, ao passo que o ácido cafeico não sofreu alteração. Em capim-pangola a concentração desses mesmos ácidos (vanílico e p-cumárico) foi maior sob elevadas doses de N (CHOU & LEE, 1988).

Porém, o fato mais interessante verificado no presente trabalho foi a significativa redução na concentração de todos os ácidos avaliados com a dose intermediária de N. A provável explicação para tal comportamento é o fato de que nessa dose o material vegetal

colhido exibiu, significativamente, maior proporção de colmos floríferos e, conseqüentemente, menor proporção de folhas, em relação ao que foi obtido com as doses extremas (Tabela 4). Isso indica que, no capim-annoni, os ácidos fenólicos estiveram presentes, basicamente, nas folhas, e que, pela lignificação da parede secundária, houve o aumento com o avanço da maturidade das plantas. As plantas colhidas no estágio vegetativo, que possuíam apenas folhas, essas estavam com, no máximo, 77 dias, que foi o intervalo decorrido entre o corte de uniformização e a colheita. Já, as folhas do material colhido no estágio de florescimento, poderiam estar com até 128 dias de crescimento. Destaca-se que o material utilizado para a elaboração dos extratos foi composto apenas por órgãos metabolicamente ativos, uma vez que o material morto foi descartado da amostra. Assim, é provável que a principal causa do aumento dos ácidos fenólicos no material colhido no estágio de florescimento tenha sido decorrente da lignificação, que naturalmente é incrementada com a maturação da planta. A lignina é um complexo polímero fenólico, formado basicamente de ácido p-cumárico e ferúlico (JUNG & DEETZ, 1992).

Além do fator morfo-genético, estresses abióticos decorrentes de elevadas temperaturas e baixa pluviosidade, são determinantes na lignificação das plantas. Em gramíneas C4, como é o capim-annoni, essas condições são comumente observadas no subtropical brasileiro no período estival, quando ocorre o florescimento. Neste trabalho, o período decorrido entre o corte de uniformização e a colheita no estágio vegetativo foi de clima ameno, com temperatura média de 17 °C, e elevada precipitação pluviométrica (402 mm), descartando-se o estresse por tais fatores.

Com o avanço da primavera, as temperaturas elevaram, com média de 22 °C no período entre a colheita no estágio vegetativo e o corte feito no florescimento. Nessa segunda etapa do crescimento das plantas, a precipitação foi abaixo da série histórica (Figura 2), ocorrendo um período de severa deficiência hídrica. Essa condição é um dos fatores que eleva a concentração de metabólitos secundários (GLOBBONETO & LOPES, 2007).

Tal como ocorreu com os ácidos fenólicos, a concentração das procianidinas monoméricas e da rutina foi afetada pela interação do N e estágio fenológico (Tabela 5). Na média desses atributos, a maior quantidade foi da epicatequina seguida da catequina, com 79% e 21%, respectivamente, a mesma tendência para as médias do estágio vegetativo e do florescimento.

Os taninos, de acordo com a concentração com que se encontram na planta, podem estar associados a determinados efeitos benéficos ou maléficos ao metabolismo animal. Efeitos benéficos foram observados em concentração de 3% a 4% de taninos condensados nas folhas de *Lotus* spp. Essa concentração aumentou a absorção intestinal de aminoácidos essenciais, sem afetar o consumo. Além disso, concentrações em torno de 0,5% podem evitar a ocorrência de timpanismo espumoso, em razão da redução na degradabilidade ruminal na proteína (BARRY & MCNABB, 1999).

Os efeitos maléficos foram relatados por Cummins (1971) ao determinar a concentração de taninos nas folhas e colmo. O autor relata que valores médios de 6% de taninos condensados presentes nas folhas e colmo de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) afetaram o processo de digestão nos animais, uma vez que podem causar redução na

utilização de nutrientes e desempenho dos animais. Resultados similares foram encontrados em *Lotus pedunculatus* Cav., que mostrou 9,5% de taninos condensados na MS (McSWEENEY et al., 2001). Assim, a presença de taninos nas plantas não as torna tóxica para os animais, porém pode prejudicar sua aceitabilidade em função da concentração.

Em relação à adubação nitrogenada, as concentrações de procianidinas monoméricas sofreram variação conforme o estágio fenológico. No estágio vegetativo, a dose máxima de N aumentou a quantidade de epicatequina e diminuiu a catequina. O oposto foi observado para o estágio de florescimento, diminuição da quantidade de epicatequina e a catequina não teve variação significativa. Um exemplo semelhante do que ocorreu com a catequina nas plantas colhidas no vegetativo foi relatado em folhas de manjerição, em que os compostos fenólicos tiveram redução quando os níveis de N aplicado nas plantas foram maiores (NGUYEN & NIEMEYER, 2008). Isso sugere que plantas cultivadas em solos com maior adubação nitrogenada ocasionam uma redução nas concentrações de compostos do metabolismo secundário. No entanto, a literatura é divergente sobre o assunto. Alguns estudos mostram o contrário, indicando que a produção global de metabólitos por uma planta pode ser aumentada com a maior disponibilidade de N no solo (GLOBBONETO & LOPES, 2007). Isso foi observado nesse estudo em relação à concentração de epicatequina quando as plantas foram colhidas em estágio vegetativo (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentração das procianidinas monoméricas (epicatequina e catequina) em extratos de capim-annoni colhido em distintos estádios fenológicos e sob doses crescentes de N. Passo Fundo, 2014

Nitrogênio (kg.ha <sup>-1</sup> )	Estádio fenológico		Média
	Vegetativo	Florescimento	
	Catequina (mg.g <sup>-1</sup> )		
0	0,82 Aab	0,68 Aa	0,75 a
100	0,91 Aa	0,74 Aa	0,82 a
200	0,34 Bb	1,16 Aa	0,75 a
Média	0,70 A	0,86 A	
	Epicatequina (mg.g <sup>-1</sup> )		
0	1,25 Bb	5,88 Aa	3,57 a
100	1,24 Ab	1,63 Ab	1,44 a
200	5,43 Aa	2,48 Bab	3,96 a
Média	2,64 A	3,33 A	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A concentração de cumarina foi afetada apenas pela adubação nitrogenada, sem sofrer efeito do estágio fenológico (Figura 17), com decréscimo significativo na dose intermediária de N, tal como ocorreu com os ácidos fenólicos. Nessa dose, houve menor proporção de folhas e maior de colmos floríferos, em relação a aplicação das demais doses nitrogenadas. Isso sugere que, no capim-annoni, esses metabólitos são produzidos em maior concentração nas folhas, e que isso se acentua com o avanço da maturidade. Macrae & Towers (1984) constataram teor de cumarina cerca de duas vezes maior em folhas maduras que em folhas novas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) (Acanthaceae).

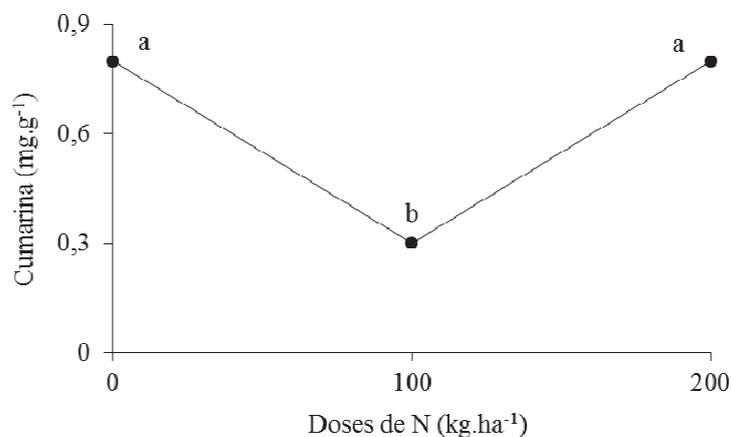


Figura 17 - Concentração de cumarina em extratos de capim-annoni em resposta as doses de N. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Passo Fundo, 2014.

Portanto, o estágio fenológico é um fator determinante na composição de metabólitos secundários, uma vez que determina diferentes proporções dos órgãos da parte aérea das plantas. Além disso, o metabolismo secundário do capim-annoni não é uniforme, pode variar com as diferentes rotas de biossíntese dos compostos fenólicos, em função da disponibilidade de nutrientes no solo.

#### 4.4 Atividade alelopática de capim-annoni

##### 4.4.1 Germinação

A atividade alelopática dos extratos de capim-annoni foi afetada pela interação de N e estágio fenológico (Tabela 6). Ao considerar separadamente os estágios fenológicos, todos os atributos

avaliados nas sementes-alvo foram reduzidos quando as plantas foram colhidas no estágio vegetativo.

Tabela 6- Germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de alface submetidas à aplicação de água destilada (Testemunha) e extratos aquosos de capim-annoni, elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo e florescimento e adubadas com distintas doses de N. Passo Fundo, 2014

Nitrogênio (kg.ha <sup>-1</sup> )	Estádio fenológico	
	Vegetativo	Florescimento
	Germinabilidade (%)	
0	97 Aa	93 Aa
100	25*Bb	90 Aa
200	83 Aa	70*Ab
<i>Testemunha</i>	99	
IVG		
0	16 Aa	14 Aa
100	3*Bb	13 Aab
200	12 Aa	10*Ab
<i>Testemunha</i>	43	
TMG (dia)		
0	3 Ab	3 Aa
100	5*Aa	4 Ba
200	4 Ab	4 Aa
<i>Testemunha</i>	1,3	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (\*) indica diferença em relação à testemunha pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

A heterotoxicidade na germinabilidade e no IVG das sementes de alface ocorreu sob ação de extratos elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo e adubadas com a dose intermediária de N (VEG-100) e com aquelas colhidas no estágio de florescimento sob a dose máxima de N (FL-200) (Tabela 6). No entanto, o grau de heterotoxicidade dos extratos VEG-100 foi três

vezes maior em comparação com o tratamento FL-200. Resultado similar foi encontrado em sementes de gervão (*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl.) submetidas a extratos aquosos de capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), a germinação foi reduzida em maior magnitude pelos extratos preparados a partir de material colhido no estágio vegetativo, indicando maior concentração de compostos alelopáticos nesta fase do desenvolvimento da planta (SOUZA-FILHO et al., 2000). O mesmo foi observado em sementes de alface submetidas a extrato aquoso de feno-grego (*Trigonella foenum-graecum* L.) colhidas no vegetativo, em que maior efeito foi observado com extratos de plantas em estágio vegetativo (OMEZZINE et al., 2014). Segundo estes autores, é provável que, com o avanço das fases de desenvolvimento das plantas, tenha ocorrido diminuição na quantidade de moléculas bioativas na planta.

A dose intermediária de N provocou, provavelmente, maior síntese do(s) composto(s) aleloquímico(s), nas folhas. Já, no estágio de florescimento, em que os extratos foram elaborados com mistura de folhas (54%) e de colmos floríferos (46%), isso ocorreu com a maior dose de N. Interessantemente, nas doses extremas de N (ausência de N e 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N), a proporção desses componentes foi a mesma (Tabela 3), o que eliminaria esse fator como o causador da heterotoxicidade. O mais provável é que, nas plantas adubadas com a dose máxima de N e colhidas no estágio de florescimento, tenha ocorrido uma maior renovação foliar, com a participação de folhas mais jovens em relação aos demais tratamentos de N. Uma vez que em gramíneas, a adubação nitrogenada estimula a formação de folhas e novos afilhos (FREITAS et al., 2005).

As plantas colhidas no florescimento estavam com 128 dias a mais de crescimento em relação aquelas colhidas no vegetativo. Infortunadamente, não foi avaliado neste estudo, a idade das folhas coletadas para a elaboração dos extratos, em ambos os estádios. Esse pode ser um fator preponderante para elucidação dos efeitos do N e do estágio fenológico na atividade alelopática do capim-annoni. Uma sugestão seria coletar apenas as folhas em expansão.

Trabalhos que tem por objetivo verificar a ação alelopática, é importante analisar as características químicas do solo em que as plantas se encontram, pois a quantidade de N e, conseqüentemente a matéria orgânica, interferem na produção de substâncias alelopáticas, como observado nesse estudo. Luu et al. (1982) mostraram que a fertilização nitrogenada presente no extrato aquoso de festuca (*F. arundinacea* Schreb.), aumentou a inibição da germinação e do crescimento de plântulas de cornichão (*Lotus corniculatus* L.).

O TMG, que indica o tempo médio em que as sementes germinaram, teve a mesma resposta verificada quanto à germinabilidade e o IVG quanto ao tratamento VEG-100. Porém, esse atributo não variou sob extratos preparados com doses distintas de N em plantas colhidas no estágio de florescimento. Resultados obtidos por Ali et al. (2013) evidenciaram que o maior TMG em sementes de feijão-mungo (*Vigna radiate* L.) foi sob ação de extrato aquoso de folhas da leguminosa *Rhynchosia capitata* (Roth.), em relação a extratos da planta inteira, devido ao maior teor de compostos aleloquímicos presente nesse extrato.

Porém, neste estudo, a atividade alelopática de extratos de capim-annoni mostrou comportamento inverso ao que se verificou quanto aos metabólitos secundários (Tabela 4 e 5). De modo geral, a concentração desses compostos foi inferior nos extratos obtidos a partir de plantas colhidas no estágio vegetativo. Uma das causas dessa divergência pode estar no tipo de solvente utilizado para a elaboração dos extratos, uma vez que para a avaliação da atividade alelopática, foi utilizada água, ao passo que para a quantificação dos aleloquímicos por CLAE foi feita a extração ácida. A extração ácida é mais potente em relação à água. Assim, os extratos aquosos do capim-annoni apresentaram diferenças de atividade alelopática em virtude de compostos passíveis de serem extraídos com água.

Outra hipótese seria a de que os compostos fenólicos avaliados neste estudo, embora sejam considerados aleloquímicos (TAIZ & ZEIGER, 2013), não sejam os principais causadores do heterotoxicidade do capim-annoni sobre as sementes de alface. Isso remete ao fato de que outro(s) composto(s) seja o principal agente aleloquímico nessa planta, merecendo a continuidade dos estudos.

#### **4.4.2 Crescimento inicial e anormalidades**

As plântulas de alface submetidas a extratos de capim-annoni elaborados com plantas colhidas no vegetativo e florescimento sob diferentes doses de N, morreram depois de 15 dias em contato com os extratos (Figura 18). Isso mostra que o capim-annoni produziu substâncias alelopáticas, que impediram o crescimento e desenvolvimento das plântulas-alvo.

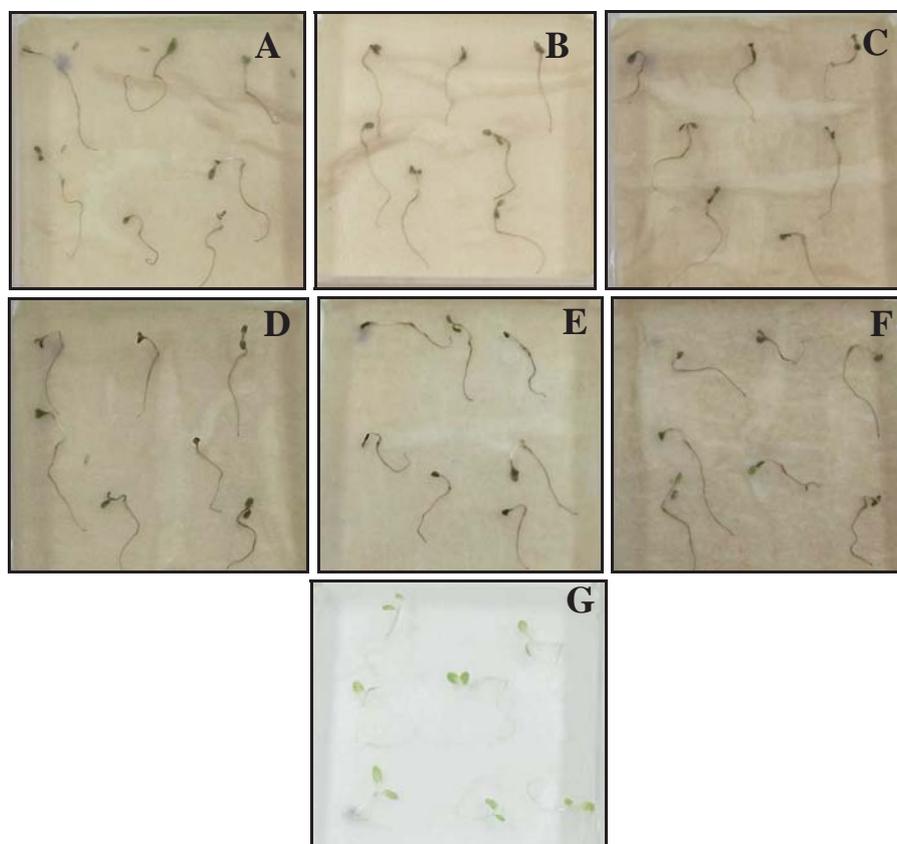


Figura 18- Plântulas de alfaca no 15º dia da aplicação de extratos aquosos de capim-annoni elaborados com plantas colhidas no estágio vegetativo (A, B e C) e florescimento (D, E e F) sob doses de 0, 100 e 200 kg.ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente; testemunha = água destilada (G). Passo Fundo, 2014.

Por esse motivo, foram utilizadas, para avaliação das anormalidades, as plântulas provenientes do teste de germinação. Os efeitos foram nítidos comparado com o tratamento controle para todos os extratos incluindo: raiz ou radícula e parte aérea ou extensão do coleóptilo reduzido, necrose das pontas das raízes, enrolamento do eixo radicial, falta de pelos radiciais e morte da plântula (Figura 19). Esses efeitos morfológicos podem ser manifestações secundárias de eventos primários, causadas por um variedade de efeitos mais

específicos, que atuam a nível celular ou molecular nas plantas (RICE, 1984).



Figura 19- Anormalidades de plântulas de alface submetidas a extratos aquosos de capim-annoni elaboradas com plantas colhidas no estágio vegetativo sob doses de 0 (B), 100 (C) e 200  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  (D), comparado com o tratamento controle (A). Passo Fundo, 2014.

A avaliação da normalidade das plântulas é um fator importante, pois embora germinadas elas podem apresentar anomalias resultantes da atividade alelopática do extrato, inviabilizando a formação de uma planta saudável em condições de campo (FERREIRA & BORGHETTI, 2004). Além disso, os efeitos da atividade alelopática são mais comuns sobre as plântulas quando comparado a germinação (FERREIRA & AQUILA, 2000).

Observou-se, em avaliação subjetiva, que as raízes de alface foram mais afetadas pelos extratos de capim-annoni em relação à parte aérea, o que também já foi observado em outros trabalhos (ABDELGALEIL & HASHINAGA, 2007). Embora a germinação da semente, em condições de campo, possa garantir o estabelecimento das espécies, o estágio de plântula é o período mais suscetível a influência de fatores externos (ADKINS et al., 2007).

Em ambientes naturais, a alelopatia desempenha um importante papel na dominância, sucessão e formação de comunidades vegetais (CHOU, 1999), além de ser uma das estratégias importantes de colonização de muitas plantas exóticas sobre a comunidade natural (HIERRO & CALLAWAY, 2003), como é o caso do capim-annoni. Ao passo que a alelopatia poderá desempenhar papel de extrema importância na área de pastagens cultivadas, como uma ferramenta de manejo das pastagens e como fornecedor de estruturas básicas para a produção de bioherbicidas.

## 5 CONCLUSÕES

O estágio fenológico e a adubação nitrogenada são fatores interativos que afetam a massa seca, a composição química e a atividade alelopática do capim-annoni, em que:

1. O N eleva o crescimento e o acúmulo de massa seca;
2. A composição bromatológica evidencia maiores teores de PB em plantas no estágio vegetativo e com doses crescentes de N. O FDN e a hemicelulose são mais elevados no estágio vegetativo.
3. No florescimento há elevação na concentração de ácidos fenólicos e das procianidinas monoméricas. A concentração de cumarina é reduzida sob a dose intermediária de N;
4. A maior heterotoxicidade dos extratos sobre a germinação de sementes de alface ocorre sob ação de extratos obtidos com plantas colhidas em plantas no estágio vegetativo.

**REFERÊNCIAS**

ABDELGALEIL, S.; HASHINAGA, F. Allelopathic potential of two sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, Honolulu, v. 35, n. 11, p. 737-742, 2007.

ABICHEQUER, A. D.; MEDEIROS, C. M. O.; SPANNENBERG, P. R. O. Crescimento e distribuição de raízes de capim-annoni-2: vantagem competitiva em relação ao campo nativo. In: REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAGEIRAS DO CONE SUL, 21., 2006, Pelotas. *Anais... Palestras e Resumos*, 2006. CD-ROM.

ADKINS, S.; ASHMORE, S.; NAVRE, S. *Seeds: biology, development and ecology*. 5. ed. Cambridge: CAB International, 2007. 496 p.

ALFAYA, H.; SUÑÉ, L. N. P.; SIQUEIRA, C. M. G.; SILVA, D. J. S. DA; SILVA, J. B. DA; PEDERZOLLI, E. M.; LÜEDE, W. E. Capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees): crescimento, produção de feno e amonização. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. *Anais...Viçosa*, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. 1 CD-ROM.

ALI, H. H.; TANVEER, A.; NADEEM, M. A.; JAVAID, M. M.; KASHIF, M. S.; CHADHAR, A. R. Allelopathic effects of *Rhynchosia capitata* on germination and seedling growth of mungbean. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 501-509, 2013.

ALMEIDA, E. X.; MARASCHIN, G. E.; HARTHMANN, O. E. L.; RIBEIRO-FILHO, H. M. N.; SETELICH, E. A. Oferta de forragem de Capim-Elefante Anão 'Mott' e o rendimento animal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 1288-1295, 2000.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

AYAN, A. K.; YANAR, O.; CIRAK, C.; BILGENER, M. Morphogenetic and diurnal variation of total phenols in some *Hypericum* species from turkey during their phenological cycles. *Bangladesh Journal of Botany*, Bangladesh, v. 36, n. 1, p. 39-46, 2007.

AYUP, M.; DEWI, A. P.; TANVEER, A. Forage yield and quality of barley as influenced by nitrogen application and harvest dates. *Pakistan Journal of Biological Science*, Faisalabad. v. 2, n. 4, p. 1278-1282, 1999.

BABY, S.; JOHNSON, A. J.; GOVINDAN, B.; LUKOSE, S.; GOPAKUMAR, B.; KOSHY, K. C. UV induced visual cues in grasses. *Scientific Reports*, London, v. 3, n. 2738, p. 1-6, 2013.

BALDWIN, I. T.; SCHULTZ, J. C.; WARD, D. Patterns and sources of leaf tannin variation in yellow birch (*Betula alleghenensis*) and potter sugar maple (*Acer saccharum*). *Journal of Chemical Ecology*, Berlin, v. 13, n. 5, p. 1069–1078, 1987.

BARBOSA, M. A. A. F.; OLIVEIRA, R. L.; CECATO, U.; MATOS, R. C.; SANTIAGO, M. S. B.; RODRIGUES, A.; COSTA, R. G.; CARVALHO, J. A.; MENEZES, L. F. O. Frações de proteínas e de carboidratos de *Panicum maximum* Jacq. cv. Mombaça sob diferentes intervalos de corte e níveis de adubação nitrogenada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: SBZ, 2003. CD-ROM.

BARRY, T. N.; McNABB, W. C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v. 81, n. 4, p. 263-272, 1999.

BATISH, D. R.; SINGHH, P.; KAUR, S. Crop allelopathy and its role in ecological agriculture. *Journal of Crop Production*, Nova York, v. 4, n. 2, p. 121-161, 2001.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; PANDHER, J. K.; KOHLI, R. K. Allelopathic interference of *Parthenium hysterophorus* residues in soil. *Allelopathy Journal*, Haryana, v. 15, n. 2, p.267-274, 2005.

BELARMINO, N. C. J.; PINTO, J. C.; ROCHA, G. P. Teores de FDN e FDA na forragem de *Panicum maximum* Jacq. em função da aplicação de doses de fósforo e nitrogênio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., Piracicaba, 2001. *Anais...* Piracicaba: SBZ, 2001. CD ROM.

BENETT, C. G. S.; BUZETTI, S.; SILVA, K. S.; BERGAMASCHINE, A. F.; FABRÍCIO, J. A. Produtividade e composição bromatológica do capim-marandu a fontes e doses de nitrogênio. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1629-1636, 2008.

BEZERRA, A. S.; NÖRNBERG, J. L.; LIMA, F. O.; ROSA, M. B.; CARVALHO, L. M. Parâmetros climáticos e variação de compostos fenólicos em cevada. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n. 9, p. 1546-1552, 2013.

BIRCH, E. B. Nitrogen fertilisation of weeping love grass (*Eragrostis curvula*) at Dohne. *African Journal of Range and Forage Science*, Grahamstown, v. 2, n. 1, p. 39-43, 1967.

BRÂNCIO, P. A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V. P. B.; REGAZZI, A. J.; ALMEIDA, R. G.; FONSECA, D. M. Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo. Composição química e digestibilidade da forragem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 1605-1613, 2002.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. *Nutrition Reviews*, Montpellier, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRITO, C. J. F. A., RODELLA, R. A., DESCHAMPS, F. C. Perfil Químico da Parede Celular e suas Implicações na Digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 32, n. 6, p.1835-1844, 2003.

BRUNET, S.; HOSTE, H. Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 54, n. 20, p. 7481-7487, 2006.

BUCHSBAUM, M. S.; DELISE, L. E.; HOLCOMB, H. H. Anteroposterior gradients in cerebral glucose use in schizophrenia and affective disorders. *Archives of General Psychiatry*, Chicago, v. 41, p. 1159-1166, 1984.

BUXTON, D. R. In vitro digestion kinetics of temperate perennial forage legumes and grass stems. *Crop Science*, Madison, v. 29, n. 1, p. 213-219, 1989.

CALLAWAY, R. M. The detection of neighbors by plants. *Trends in Ecology & Evolution*, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 104-105, 2002.

CARÁMBULA, M. *Producción y manejo de pasturas sembradas*. Montevideo: Hemisferio Sur, [s.d.]. 464 p.

CARVALHO, S. I. C. Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. *vulgaris* cv. Bandeirante. 1993. 72 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1993.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade, 2004. p. 510-535.

CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V. Organização dos tecidos de plantas forrageiras e suas implicações para os ruminantes. *Archivos de Zootecnia*, Viçosa, v. 57, p. 13-28, 2008.

CECATO, U. *Influência da frequência de corte, níveis e formas de aplicação de nitrogênio na produção e composição bromatológica do Capim Aruana (Panicum maximum Jacq. cv. Aruana)*. 1993. 73 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Departamento de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1993.

CHEN, Y.; ZHU, Z.; GUO, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, X. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Prunella vulgaris* L. related to plant parts and phenological stages. *Biological Research*, Santiago, v. 45, p. 171-175, 2012.

CHINI, S. O. *Taninos e flavonoides em Lotus spp.* 2013. 132 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2013.

CHOU, C. H. Role of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. *Critical Review in Plant Sciences*, Apopka, v. 18, n. 5, p. 609-636, 1999.

CHOU, C. H.; LEE, K. L. Effects of nitrogen fertilizer levels on the allelopathic potencial of pangola grasses and weeds. *Botanical Bulletin-Academia Sinica*, Taipei, v. 29, p. 39-47, 1988.

COELHO, R. W. Substâncias fitotóxicas presentes no capim-annoni-2. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 3, p. 255-263, 1986.

COSTA, K. A. P. *Efeito da formulação N:K com o uso do enxofre na produção de massa seca e valor nutritivo do capim -Tanzânia irrigado*. 2003. 55 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2003.

CUMMINS, D. G. Relationships between tannin content and forage digestibility in sorghum. *Agronomy Journal*, Madison, v. 63, n. 3, p. 500-502, 1971.

CUOMO, G. J.; BLOUIN, D. C.; CORKERN, D. L. McCOY, J. C.; WALZ, R. Plant morphology and forage nutritive value of three bahiagrass as affected by harvest frequency. *Agronomy Journal*, Madison, v. 88, n. 1, p.85-89, 1996.

ÇIRAK, C.; RADUSIENE, J.; CAMASS, N. Pseudohypericin and hyperforin in two Turkish *Hypericum* species: Variation among plant parts and phenological stages. *Biochemical Systematics and Ecology*, Honolulu, v. 36, n. 5, p. 377–382, 2008.

DE LUCA, V.; ST PIERRE, B. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. *Trends Plant Science*, Norrtälje, v. 5, n. 4, p. 168-173, 2000.

DIAS, J. F. G.; CÍRIO, G. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss., Celastraceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 15, n. 3, p. 220-223, 2005.

DJURDJEVIĆ,L.; MITROVIĆ,M.; PAVLOVIĆ,P.; PERIŠIĆ,S.; MAČUKANOVIĆ-JOCIĆ, M. Total phenolics and phenolic acids content in low (*Chrysopogon gryllus*) and mediocre quality (*Festuca vallesiaca*) forage grasses of Deliblato Sands meadow-pasture communities in Serbia. *Czech Journal of Animal Science*, Champaign, v. 50, n. 2, p. 54–59, 2005.

DOAN, A. T.; ERWIN, G.; FELTON, G. Temporal effects on jasmonate induction of anti-herbivore defense in *Physalis angulata*: seasonal and ontogenetic gradients. *Biochemical Systematics and Ecology*, Honolulu, v. 32, n. 2, p. 117-126, 2004.

DUKES, J. S.; MOONEY, H. A. Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology and Evolution*, Inglaterra, v. 14, n. 4, 135-139. 1999.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; BAERSON, S. R.; SCHEFFLER, B. E.; OTA, E.; BELZ, R. G. Strategies for the use of natural products for weed management. *Journal of Pesticide Science*, Tokyo, v. 27, n. 3, p. 298-306, 2002.

EMBRAPA, *Informações Meteorológicas*, 2014. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

FAVARETTO, A.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; FELINI, V.; ZOCH NETO, A.; CARNEIRO, C. M. Growth of white clover seedlings treated with aqueous extracts of leaf and root of tough lovegrass. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 40, n. 6, p. 1168-1172, 2011.

FAVARETTO, A. *Aspectos alelopáticos, fitoquímicos e anatômicos do capim-annoni (Eragrostis plana Nees)*. 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. G., BORGHETTI, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004, 323 p.

FERREIRA, N. R.; MEDEIROS, R. B.; SOARES, G. L. G. Potencial alelopático do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 30, n. 2, p. 43-50, 2008.

FIGUEIRÓ, P. Resposta do Capim Annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) ao Pastoreio com Ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 13., 1976, Salvador. *Anais...* Salvador: SBZ, 1976. p. 281-282.

FOCHT, T. *Ecologia e dinâmica do capim-annoni-2 (Eragrostis plana Nees), uma invasora dos campos sulinos: prevenção da sua expansão*. 2008. 132 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

FRAENKEL, G. S. The raison d'Être of secondary plant substances. *Science*, Tóquio, v. 129, n. 3361, p. 1466-1470, 1959.

FREITAS, K. R.; ROSA, B.; RUGGIERO, J. A.; NASCIMENTO, J. L.; HEINEMAM, A. B.; FERREIRA, P. H.; MACEDO, R. Avaliação do capim mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) submetido a diferentes doses de nitrogênio. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 27, n. 1, p. 83-89, 2005.

FREITAS, M. S. M.; MONNERAT, P. H.; VIEIRA, I. J. C. Mineral deficiency in *Passiflora alata* Curtis: vitexin bioproduction. *Journal of Plant Nutrition*, Tharandt, v. 31, n. 10, p. 1844-1854, 2008.

FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F. J.; MANTECÓN, A. R. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, Madrid, v. 2, n. 2, p.191-202, 2004.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Abernaemontana* e *Aspidosperma*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários, *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRASSMANN, J.; HIPPELI, S.; ELSTNER, E. F. Plant's defense and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. *Plant Physiology Biochemistry*, Bari, v. 40, n. 6, p. 471-478, 2002.

HAKULINEN, J.; R. JULKUNEN-TIITTO. Variation in leaf phenolics of field-cultivated willow (*Salix myrsinifolia*) clones in relation to occurrence of *Melampsora* rust. *Forest Pathology*, Malden, v. 30, n. 1, p. 29-41, 2000.

HANSENACK, H.; CORDEIRO, J. L. P.; COSTA, B. S. C. Cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO DE FORRAGEIRAS E PRODUÇÃO ANIMAL, 2., Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: UFRGS - Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, 2007. p. 15-21.

HARTLEY, R. D.; MORRISSON, W. H.; HILMMELSBACH, D. S.; BORNEMAN, W. S. Cross-linking of cell wall phenolic arabinoxylans in graminaceous plants. *Phytochemistry*, Marburg, v. 29, n. 12, p. 3705-3709, 1990.

HARTMANN, T. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Malden, v. 53, p. 177-188, 1996.

HAUKIOJA, E.; OSSIPOV, V.; KORICHEVA, J.; HONKANEN, T.; LARSSON, S.; LEMPA, K. Biosynthetic origin of carbon-based secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization? *Chemoecology*, New York, v. 8, n. 3, p. 133-139, 1998.

HENDRICKS, H.; WILDEBOER, Y. A.; ENGELS, G.; BOS, R.; WOERDENBAG, H. J. The content of parthenolide and its yield per plant during the growth of *Tanacetum parthenium*. *Planta Medica*, Nova York, v. 63, n. 4, p. 356-359, 1997.

HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R. M. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil*, Crawley, v. 256, n. 1, p. 29-39, 2003.

INDERJIT; DUKE, S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, Bonn, v. 217, n. 4, p. 529-539, 1995, 2003.

INDERJIT. Influence of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) on selected soil properties. *American Journal of Botany*, Saint Louis, v. 85, n. 1, p. 64-69, 1998.

JAMES, W. O. Alkaloids in the plant. In: MANSKE, R. H. F.; HOLUES, H. L. I. (Eds.). *The alkaloids*. New York: Academic Press Inc., 1950. p. 16.

JUNG, H. G.; DEETZ, D. A. Cell wall lignification and degradability. In: JUNG, G. HATIFIELD, D. R. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison: American Society of Agronomy, 1992. p. 315-346.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. *Plantas infestantes e nocivas*. 2. ed. São Paulo: BASF, 1997. 825 p.

KONDO, T.; OHSHITSA, T.; KYUMA, T. Comparison of phenolic acids in lignin fractions from forage grasses before and after digestion by sheep. *Animal Feed Science Technology*, Madrid, v. 47, p. 277-285, 1994.

KOWALSKI, R.; WOLSKI, T. The chemical compositions of essential oils of *Silphium perfoliatum* L. *Journal of Flavour and Fragrance*, Malden, v. 20, n. 3, p. 306-310, 2005.

LANGENHEIM, J. H. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal Chemical Ecology*, Nova York, v. 20, n. 6, p. 1223-1280, 1994.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: Rima, 2000. 531p.

LEITE, J. P. V. Química dos produtos naturais: uma abordagem biossintética. In: LEITE, J. P. L. *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas*. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 47-97.

LEITE, G. L. D.; SILVA, F. W. S.; GUANABENS, R. E. M.; FERNANDES, L. A.; FIGUEIREDO, L. S.; SILVA, L. F. NPK and flavonoids affecting insect populations in *Dimorphandra mollis* seedlings. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 34, n. 1, p. 17-22, 2012.

LOWRY, J. B.; SUMPTER, E. A.; MCSWEENEY, C. S.; SCHLINK, A. C.; BOWDEN, B. Phenolic acids in the fibre of some tropical grasses, effect on feed quality and their metabolism by sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, Canberra, v. 44, p. 1123–1133, 1993.

LUU, K. T.; MATCHES, A. G.; PETERS, E. J. Allelopathic effects on tall fescue on birdsfoot trefoil as influence by fertilization and seasonal changes. *Agronomy Journal*, Madison, v. 74, n. 5, p.805-808, 1982.

MACEDO-JÚNIOR, G. L.; ZANINE, A. M.; BORGES, I.; PÉREZ, J. R. O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. *Ciência Animal*, Goiânia, v. 17, n. 1, p. 7-17, 2007.

MACHADO, A. V.; CECATO, U.; MIRAET, R. T. et al. Avaliação de composição química *in vitro* da matéria seca de cultivares e acessos de *Panicum maximum* Jacq. sob duas alturas de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 1057-1063, 1998.

MACÍAS, F. A.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M.; GALIND, J. C. G. Allelopathy: a natural alternative for weed control. *Pest Management Science*, Sussex, v. 63, n. 4, p. 327-348, 2007.

MACRAE, W. D.; TOWERS, A. C. N. *Justicia pectoralis*: a study of the bases for its use as a hallucinogenic snuff ingredient. *Journal of Ethnopharmacology*, Clare, v. 12, n. 1. p. 93-111, 1984.

MARASCHIN-SILVA, F.; ÁQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. *Iheringia*, Porto Alegre, v. 60, n. 1, p. 91-98, 2005.

MATOS, F. J. A. *Introdução a fitoquímica experimental*. 2. ed. Fortaleza: UFC, 1997. 141 p.

McSWEENEY, C. S.; PALMER, B.; McNEILL, D. M.; KRAUSE, D. O. Microbial interactions with tannins: nutricionales consequences for ruminants, *Animal Feed Science and Technology*, Madrid, v. 91, n. 2, p. 83-93, 2001.

MEDEIROS, R. B.; PILLAR, V. P.; REIS, J. C. L. Expansão de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni-2) no Rio Grande do Sul e indicativos de controle. In: REUNION DEL GRUPO TÉCNICO REGIONAL DEL CONO EM MEJORAMIENTO Y UTILIZACIÓN DE LOS RECURSOS FORRAGEROS DEL ÁREA TROPICAL Y SUBTROPICAL, 20., 2004, Salto. *Memorias...* Salto: INIA, 2004. p. 208-211.

MEDEIROS, R. B.; FOCHT, T.; FREITAS, M. R.; MENEGON, L. L. Longevidade de sementes de capim-annoni-2 em solo de campo natural. In: REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAGEIRAS DO CONE SUL, 21., 2006, Pelotas. *Anais...* Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. p. 89-130.

MEDEIROS, R. B.; FOCHT, T. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, Porto Alegre, v. 13, n. 1, p. 105-114, 2007.

MERTENS, D. R. Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations. In: PROC. GA. NUT. CONF. FOR THE FEED INDUSTRY. Athens: University Georgia, 1982. p. 116-26.

MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *Journal Animal Science*, Champaign, v. 64, n. 5, p. 1548-1558, 1987.

MINSON, D. J. *Forage in ruminant nutrition*. New York: Academic Press, Inc., 1990. 483 p.

MIRUTSE, F.; HAILE, M.; KEBEDE, F.; TSEGAY, A.; YAMOA, C. Response of teff [*Eragrostis tef*] (Zucc) Trotter] to phosphorus and nitrogen on vertisol at north Ethiopia. *Journal of the drylands*, Mekelle, v. 2, n. 1, p. 8-14, 2009.

MONTEIRO, F. A.; WERNER, J. C. Efeitos das adubações nitrogenada e fosfatada em capim-colonião, na formação e em pasto estabelecido. *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, v. 34, n. 1, p. 91-101, 1977.

MUZIKA, R. M.; PREGITZER, K. S. Effect of nitrogen fertilization on leaf phenolic production of grand fir seedlings. *Trees*, Heidelberg, v. 6, n. 4, p. 241-244, 1992.

MWAJA, V.; MASIUNAS, J. B.; WESTON, L. A. The effect of fertility on biomass phytotoxicity and allelochemical content of cereal rye. *Journal Chemical Ecology*, Nova York, v. 21, n. 1, p. 81-96, 1995.

NASCIMENTO, A. *Caracterização química e digestibilidade do capim-annoni-2 (Eragrostis plana Nees) comparada com o pasto nativo, em diferentes estádios de desenvolvimento*. 1976. 67 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1976.

NASCIMENTO, A.; HALL, C. A. B. Estudos comparativos de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana*) e pastagem nativa de várzea da região de Santa Maria, Rio Grande do Sul. I. Características químico-bromatológicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 13, n. 2, p. 7-14, 1978.

NGUYEN, P. M.; NIEMEYER, E. D. Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, München, v. 56, n. 18, p. 8685-8691, 2008.

NUSSIO, L. G.; MANZANO, R. P.; PEDREIRA, C. G. S. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASAGEM, 15., 1998, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ/ESALQ, 1998, p. 203-242.

OMEZZINE, F.; MOHAAMED, B.; SIMMONDS, S. J.; HAOUALA, R. Variation in chemical composition and allelopathic potential of mixoploid *Trigonella foenum-graecum* L. with developmental stages. *Food Chemistry*, Reading, v. 148, p. 188-195, 2014.

OLIVEIRA, O. L. P. Considerações sobre o capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees): histórico e evolução no CNPO. In: REUNIÃO REGIONAL DE AVALIAÇÃO DE PESQUISA COM ANNONI-2, 1991, Bagé. *Anais...* Bagé: EMBRAPA-CPPSUL, 1993. p. 41-51.

OLIVEIRA, M. A.; PEREIRA, O. G.; GARCIA, R.; OBEID, J. A.; CECON, P. R.; MORAES, S. A.; SILVEIRA, P. R. Rendimento e valor nutritivo do capim-tifton 85 (*Cynodon* spp.) em diferentes idades de rebrota. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 1949-1960, 2000.

OLIVEIRA, S. C. C.; GUALTIERI, S. C. J.; DOMÍNGUEZ, F. A. M.; MOLINILLO, J. M. G.; MONTROYA, R. V. Estudo fitoquímico de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) e sua aplicação na alelopatia. *Acta Botanica Brasilica*, Feira de Santana, v. 26, n. 3, p. 607-618, 2012.

OSSIPOV, V.; LOPONEN, J.; OSSIPOVA, S.; HAUKIOJA, E.; PIHLAJA, K. Gallotannins of birch *Betula pubescens* leaves: HPLC separation and quantification. *Biochemical Systematics and Ecology*, Honolulu, v. 25, n. 6, p. 493–504, 1997.

PARANHOS, A. Cultura de célula e tecidos vegetais in vivo: uma fonte alternativa de metabólitos secundários. In: CUNHA, A. P. *Farmacognosia e fitoquímica*. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2005. 66 p.

PARSONS, J. J. Spread of African pasture grasses to the American Tropics. *Journal of Rangeland Management*, Tucson, v. 25, n. 1, p. 12-17, 1972.

PELLEGRINI, C. B.; MEDEIROS, R. B.; CARLOTTO, S. B.; NÖRNBERG, J. L.; GARCIA, R. P. A.; LISBOA, C. A. V. Caracterização de pastagem nativa com predominância de *Eragrostis plana* Nees e desempenho reprodutivo de vacas primíparas suplementadas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v. 7, n. 4, p. 697-705, 2012.

PILLAR, V. P.; CRISTINA, S.; CASTILHOS, Z. M. S.; JACQUES, A. V. A. *Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade*. Brasília: MMA, 2009. 403 p.

PITELLI, R. A. Plantas exóticas invasoras. In: BARBOSA, L. M.; SANTOS JUNIOR, N. A. (Orgs.). *A botânica no brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais*. São Paulo: Sociedade Botânica do Brasil, 2007. p. 409-412.

POTTER, D. A.; KIMMERER, T. W. Inhibition of herbivory on young holly leaves: evidence for the defensive role of saponins. *Oecologia*, Nova York, v. 78, n. 3, p. 322–329, 1989.

QASEM, J. R.; FOY, C. L. Weed allelopathy, its ecological impacts and future prospects: a review. *Journal of Crop Production*, Nova York, v. 4, n. 2, p. 43-119, 2001.

QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 1. Digestibilidade *in vitro* e composição química. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 53-60, 2000.

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. de. How and why to measure de germination process? *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.

REIGOSA, M. J. SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, Apopka, v. 18, n. 5, p. 577-608, 1999.

REIS, J. C. L.; COELHO, R. W. *Controle do capim-annoni-2 em campos naturais e pastagens*. Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 2000. 21 p. (Circular Técnica, 22)

REIS, R. A.; RODRIGUES, L. R. A. *Valor nutritivo de plantas forrageiras*. Jaboticabal: FCAVJ-UNESP: FUNEP, 1993. 26 p.

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

RUGGIERO, J. *Avaliação de diferentes lâminas de água e de doses de nitrogênio na produção de matéria seca e composição bromatológica do capim Mombaça*. 2003. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2003.

SANTOS, R. I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004. p. 403-434.

SARS. Relatório e apreciação sobre o valor nutritivo, produtividade e comportamento do “capim-annoni-2” (*Eragrotis plana* Nees). In: *Relatório*. Porto Alegre: IPZFO, Secretaria Agricultura do Rio Grande do Sul, 1978. p. 13.

SARTOR, L. R.; ADAMI, P. F.; CHINI, N.; MARTIN, T. N.; MARCHESE, J. A.; SOARES, A. B. Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1653-1659, 2009.

SCOBBI, L.; RUSSEL, W.; PROVAN, G. J.; CHESSON, A. The newly extended maize internode: a model for the study of secondary cell wall formation and consequences for digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Malden, v. 61, n. 2, p. 217-255, 1993.

SELLAMI, I. H.; MAAMOURI, E.; CHAHED, T.; WANNES, W. A.; KCHOUK, M.E.; MARZOUK, B. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*, North Dakota, v. 30, n. 3, p. 395-402, 2009.

SILVA, A. G. A importância de flavonoides na taxonomia de Monocotiledôneas. *Natureza online*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 1, p. 44-47, 2007.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Allelopathy in agroecosystems. *Journal of Crop Production*, New York, v. 4, n. 2, p. 1-41, 2001.

SINGH, N. B.; KUMAR, S.; SINGH, D.; YADAV, K. 2013. Allelopathic effects of different phenological stages of *Cassia occidentalis* L. on *Parthenium hysterophorus* L. *Iranian Journal of Plant Physiology*, Saveh, v. 3, n. 4, p. 817-828, 2013.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 71- 81, 2002.

SOARES, J. L. G.; VIEIRA, T. R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. “grandrapids”) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. *Floresta e Ambiente*, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 180-197, 2000.

SOUZA-FILHO, A. P. S.; ALVES SÉRGIO, M.; DUTRA, S. Variações na atividade potencialmente alelopática do capim-marandu em função do estágio de desenvolvimento das plantas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 37., 2000, Viçosa. *Anais...* Viçosa: Embrapa, 2000, p. 1-3.

STAMP, N. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, Chicago, v. 78, n. 1, p. 23-55, 2003.

STONE, B. A. Prospects for improving the nutritive value of temperate, perennial pasture grasses. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, New Zealand, v. 37, n. 3, p. 349-363, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2013. 719 p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. *Análises de solo, plantas e outros materiais*. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. (Boletim Técnico, 5)

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; MCALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, Madrid, v. 48, n. 1, p.185-197, 1994.

VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake relation to chemical composition and digestibility. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 24, n. 3, p. 834-844, 1965.

VAN SOEST, P. J. Preharvest factors influencing quality of conserved forage. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 47, n. 3, 1978.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminants*. New York: Cornell University Press, 1982. 373 p.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VIEGAS Jr., C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 949-953, 2008.

WHITEMAN, P. C. *Tropical pasture science*. Oxford: Oxford University Press, 1980. 392 p.

WILSON, J. R., HATTERSLEY, P. W. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of *Panicum* and other grass genera of C4 photosynthetic pathway. *Australian Journal of Agricultural Research*, Camberra, v. 40, n. 1, p.125-136, 1989.

XIAO, H. L.; PENG, S. L.; MING MO, J.; CHEN, Z. Q.; RONG WU, J. Relationships between the allelopathy and nutrients content in plant and soil. *Allelopathy Journal*, Haryana, v. 19, n. 2, p. 297-310, 2007.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: métodos de estudos, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente*. Chapecó: ARGOS, 2001. 523 p.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004. p. 577-614.