

GRACIELE FERNANDA DE SOUZA PINTO

**FITOTOXICIDADE E ANÁLISE FITOQUÍMICA A PARTIR DE FOLHAS
DE CINCO ESPÉCIES DE CERRADO**

ASSIS

2015

GRACIELE FERNANDA DE SOUZA PINTO

**FITOTOXICIDADE E ANÁLISE FITOQUÍMICA A PARTIR DE FOLHAS
DE CINCO ESPÉCIES DE CERRADO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestra em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientadora: Dra. Rosana Marta Kolb

ASSIS

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da F.C.L. – Assis – UNESP

P659f Pinto, Graciele Fernanda de Souza
Fitotoxicidade e análise fitoquímica a partir de folhas de cinco espécies de Cerrado /Graciele Fernanda de Souza Pinto. Assis, 2015
67 f. ; il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis - Universidade Estadual Paulista.
Orientador: Dr^a Rosana Marta Kolb

1. Alelopatia. 2. Germinação. 3. Metabolismo secundário. 4. Fitoquímica. 5. Ecofisiologia vegetal. I.Título.

CDD 581.1

Àqueles que me esperam, de braços
abertos, depois de meus cansaços e
comemoram comigo as minhas
conquistas.

Dedico a minha mãe Maria Aparecida, e
aos meus irmãos Claudio e Cristiane.

Ao meu pai Sebatião Braz (in memoriam),
que me ensinou a amar e o sentido da
vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meu Deus e Pai por todas as coisas boas que Ele permitiu em minha vida, por que sei que o bem apenas dele é que vem. O que vivi de ruim em minha vida, foi por ignorância, estupidez e escolha minha. Mas minha felicidade eu só devo ao Pai!

Agradeço a paciência e o entendimento de todas as pessoas que amo, pela minha ausência, ausência que não escolhi, mas necessária na busca pelos meus sonhos.

Agradeço a minha família. A pessoa mais importante da minha vida, a razão da minha existência e dos meus sonhos, minha base, meu lar e amor, minha mãe Maria. Ao meu pai Sebastião (in memoriam) por tudo que sou e que tenho. Aos meus irmãos Claudio e Cristiane, pelo apoio em tantas horas e pela confiança; as tantas vitórias de minha vida, não seriam possíveis sem vocês. Aos meus sobrinhos José, Carol, Duda, Carla e Camila, por quem quero ser cada vez melhor.

À Dra. Rosana Marta Kolb, minha orientadora, por me guiar na busca pelo conhecimento científico, mas principalmente pela oportunidade e por me ensinar a acreditar.

Aos companheiros e amigos de laboratório, Raquel, Carina, Henrique, Lucas, Luiz Felipe, Milena, Suellen e Thaís, por toda ajuda na execução deste trabalho, pelas tantas conversas agradáveis, pelos risos e cantos, por se permitirem fazer parte da minha história. Agradecimento especial ao meu amigo Jonathan por ter sido meu ombro, meu amigo em tantas horas, minha gratidão, por sempre estar lá quando eu precisava.

As minhas amigas Mírian, Vanessa, Yara e Veronica, por terem contribuído de alguma forma com este trabalho, mas principalmente por serem minhas companheiras de tantas horas.

Aos Professores: Dra. Catarina dos Santos, Dra. Renata Giassi Udulutsch, Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, Dr. Luis Octávio Regasini e Dr. Luiz Fernando Rolim de Almeida, pelas leituras atentas, críticas e sugestões que colaboraram para a melhor realização deste trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Escritório de Pesquisa e Biblioteca da Faculdade de Ciências e Letras de Assis, pela atenção e disponibilidade quando solicitados.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro que permitiu minha dedicação a esta dissertação, e às valiosas contribuições de seus pareceristas.

*“Javé, o rei se alegra com tua força,
e como exulta com tua vitória!
Concedeste o desejo do seu coração,
e não lhe negaste o pedido de seus
lábios.”*

(Salmo 21)

PINTO, Graciele Fernanda de Souza. **Fitotoxicidade e análise fitoquímica a partir de folhas de cinco espécies de Cerrado**. 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2015.

RESUMO

A alelopatia é usualmente definida como qualquer processo que envolva a produção de metabólitos secundários, por plantas e/ou microrganismos, que influenciam o desenvolvimento de sistemas biológicos. Há uma imensa variedade de compostos com este tipo de atividade, sendo sua produção alterada por fatores ambientais. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito fitotóxico de extratos aquosos de folhas de *Byrsonima intermedia*, *Gochnatia polymorpha*, *Luehea candicans*, *Miconia chamissois* e *Qualea cordata*, coletadas em diferentes períodos do ano (estação seca e chuvosa), sobre a germinação e o crescimento inicial de uma monocotiledônea, *Zea mays* L. (milho), e de uma eudicotiledônea, *Cucumis sativus* L. (pepino). Para tanto, foram realizados experimentos de germinação e crescimento inicial com extratos das cinco espécies de Cerrado, sendo avaliada a porcentagem de germinação, a velocidade de germinação e o sincronismo das sementes-alvo bem como o comprimento da raiz primária, da parte aérea e o número de raízes secundárias das plântulas-alvo. De modo geral, tanto a germinação quanto o crescimento inicial foram alterados pelos extratos analisados. Isto foi observado tanto para milho quanto para pepino. Além disso, a sazonalidade climática influenciou na atividade fitotóxica dos extratos, entretanto, os efeitos variaram de acordo com a espécie avaliada. De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que os extratos aquosos foliares das espécies estudadas são fitotóxicos e que a sazonalidade climática influencia na sua fitotoxicidade.

Palavras-chave: Alelopatia. Germinação. Metabolismo secundário. Fitoquímica. Ecofisiologia vegetal.

PINTO, Graciele Fernanda de Souza. **Phytotoxicity and phytochemical analysis of leaves from five species of Cerrado**. 2015. 67 f. Dissertation (Master's degree in Biosciences). – Faculty of Sciences and Languages of Assis, São Paulo State University, Assis, 2015.

ABSTRACT

Allelopathy is usually defined as any process involving the production of secondary metabolites by plants and/or microorganisms that influence the development of biological systems. There is a great variety of compounds with this type of activity, being their production altered by environmental factors. In this study aimed to evaluate the phytotoxic effect of aqueous extracts of leaves of *Byrsonima intermedia*, *Gochnatia polymorpha*, *Luehea candicans*, *Miconia chamissois* and *Qualea cordata*, collected in different seasons (dry and rainy seasons), on germination and early growth of a monocot, *Zea mays* L. (corn), and a eudicot, *Cucumis sativus* L. (cucumber). Thus, we carried out germination and early growth experiments with extracts of five species of Cerrado, being evaluated the germination percentage, the germination speed and the synchronism of the target seeds and the primary root length, shoot and the number of secondary roots of target seedlings. In general, both the germination and the early growth were altered by analyzed extracts. This was observed for both maize and cucumber. In addition, the seasonality influenced in the phytotoxic activity of extracts, however the effects varied with the species studied. According to the results, it is concluded that the leaf aqueous extracts of species studied are phytotoxic and that the seasonality influences in their phytotoxicity.

Keywords: Allelopathy. Germination. Secondary metabolism. Phytochemistry. Plant ecophysiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

INTRODUÇÃO

Figura 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários segundo modelo proposto por Santos (2010)	12
Figura 2. Mecanismos de liberação dos aleloquímicos.....	13
Figura 3. Biomas brasileiros (escala 1:25 000 000, IBGE, 2014).....	15
Figura 4. Fruto e arbusto de <i>Byrsonima intermedia</i> A. Juss.....	17
Figura 5. Face adaxial e abaxial de folhas de <i>Gochnatia polymorpha</i> (Less) Cabr.....	17
Figura 6. Arbusto com fruto de <i>Luehea candicans</i> Mart.....	18
Figura 7. Arbusto com fruto de <i>Miconia chamissois</i> Naud.....	19
Figura 8. Arbusto de <i>Qualea cordata</i> Spreng.....	20

LISTA DE TABELAS

Efeito da sazonalidade sobre o potencial fitotóxico de cinco espécies nativas do Cerrado

Tabela 1. Rendimento dos extratos aquosos de folhas de espécies do Cerrado coletadas na estação seca e chuvosa.....	46
Tabela 2. Valores de pH e potencial osmótico dos extratos aquosos.....	46
Tabela 3. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de <i>B. intermedia</i> , <i>G. polymorpha</i> , <i>L. candicans</i> , <i>M. chamissois</i> e <i>Q. cordata</i> na germinação de sementes de milho. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.....	47
Tabela 4. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de <i>B. intermedia</i> , <i>G. polymorpha</i> , <i>L. candicans</i> , <i>M. chamissois</i> e <i>Q. cordata</i> na germinação de sementes de pepino. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.....	48
Tabela 5. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de <i>B. intermedia</i> , <i>G. polymorpha</i> , <i>L. candicans</i> , <i>M. chamissois</i> e <i>Q. cordata</i> no crescimento inicial de plântulas de milho. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.....	49
Tabela 6. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de <i>B. intermedia</i> , <i>G. polymorpha</i> , <i>L. candicans</i> , <i>M. chamissois</i> e <i>Q. cordata</i> no crescimento inicial de plântulas de pepino. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.....	50
Tabela 7. Triagem fitoquímica de extratos aquosos de folhas de <i>Byrsonima intermedia</i> (EB); <i>Gochnatia polymorpha</i> (EG); <i>Luehea candicans</i> (EL); <i>Miconia chamissois</i> (EM) e <i>Qualea cordata</i> (EQ); correspondente à estação seca (ES) e estação chuvosa (EC).....	51

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
1 Efeito da sazonalidade sobre o potencial fitotóxico de espécies nativas do Cerrado	21
1.1 Resumo.....	22
1.2 Introdução.....	23
1.3 Material e métodos.....	24
1.4 Resultados.....	27
1.5 Discussão.....	33
1.5 Referências.....	39
CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE	59

INTRODUÇÃO

Evidências e observações sobre interações entre plantas datam mais de dois mil anos, especulações sobre estas interações foram expostas por Theophrastus (300 a.C.), Virgílio (70-19 a.C.) e Plínio “o velho” (23-79 a.C.); “interações malélicas” entre os vegetais foram descritas no primeiro tratado sobre agricultura que se conhece (WILLIS, 2007). O pesquisador Hans Molisch, em 1937, cunhou a palavra alelopatia, derivada de duas palavras gregas “allelon” e “pathos”, que significam “mútuo” e “prejuízo”, respectivamente (EINHELLIG, 1995). A alelopatia como campo de pesquisa apresentou considerável progresso, embora lento, em meados de 1970. Crescimento significativo em termos de publicações foi evidenciado após a fundação da Sociedade Internacional de Alelopatia em 1994 (DAKSHINI et al., 1999). Esta sociedade, em 1996, definiu a alelopatia como sendo qualquer processo que envolve produção de metabólitos secundários por plantas, algas, bactérias ou fungos que influencia o crescimento e o desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos.

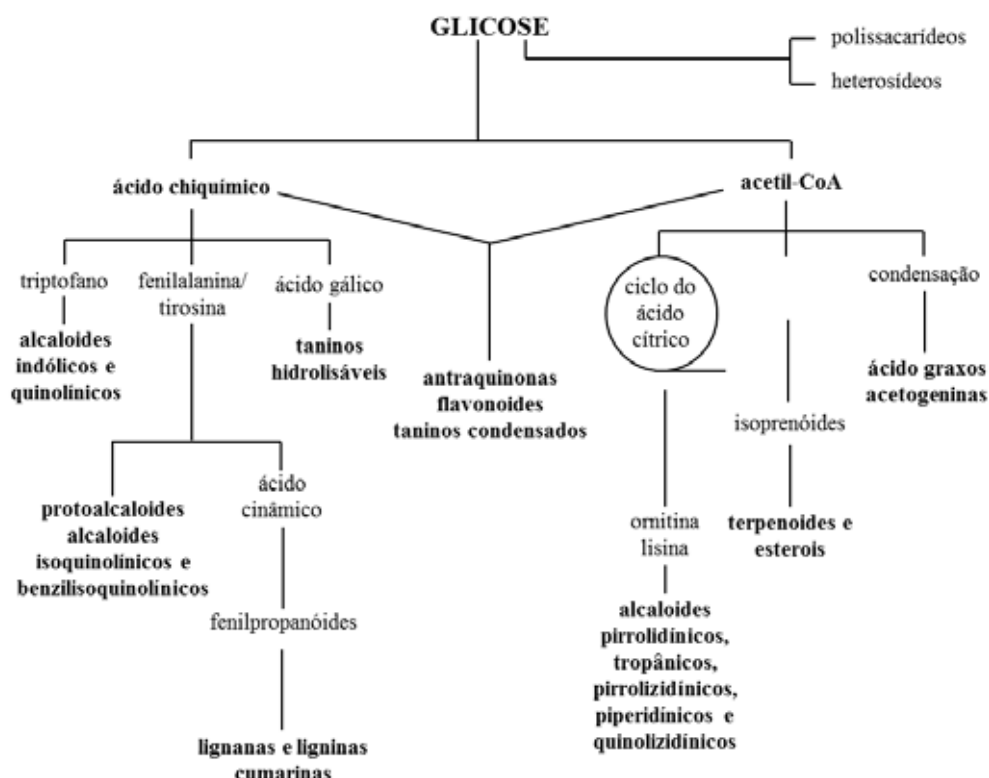
Os metabólitos secundários são compostos químicos que quando possuem propriedade alelopática são denominados aleloquímicos. Os efeitos destes compostos podem ser intra e interespecíficos, e podem proporcionar vantagem ao organismo produtor (doador) como vantagem ou desvantagem ao organismo receptor. Estudos descrevem que os aleloquímicos estão presentes em todas as partes das plantas: nas raízes (VILES; REESE, 1996; TSANUO et al., 2003), caules (SMITH, 1990; GATTI et al., 2004), folhas (OLIVEIRA et al., 2004; OLIVEIRA; CAMPOS, 2006), flores (BALLESTER et al., 1982; TEFERA, 2002), frutos (NOGUSHI; TANAKA, 2004; OLIVEIRA et al., 2004), sementes (NOOR et al., 1995) e pólen (MURPHY, 2000). Sabe-se que todos os órgãos das plantas possuem potencial para armazenar aleloquímicos, entretanto, a quantidade e os mecanismos pelos quais as substâncias são liberadas ao meio diferem de espécie para espécie (FRIEDMAN, 1995).

Os metabólitos secundários, por muito tempo, foram considerados produtos de excreção vegetal, que possuíam algumas vezes estrutura química e propriedades biológicas interessantes. Atualmente, no entanto, são conhecidos muitos dos metabólitos que estão envolvidos nos mecanismos de adequação do seu produtor

ao ambiente. Muitas das substâncias pertencentes ao metabolismo secundário já tiveram suas funções reconhecidas, por exemplo, a defesa contra herbívoros e microrganismos, a proteção contra os raios UV, a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes e a participação em processos alelopáticos. Assim, esses metabólitos, que podem ou não ser liberados no meio externo, frequentemente apresentam atividades biológicas interessantes com importância comercial para a área farmacêutica, alimentar, agrônômica, de perfumaria, entre outras (SANTOS, 2010).

A grande diversidade de metabólitos, originados de plantas, que podem ser utilizados como fonte de novas substâncias, se deve principalmente as diversas rotas de origem no metabolismo das plantas (OLIVEIRA, 2009). A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, através de dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (Figura 1).

Figura 1 – Biossíntese dos metabólitos secundários.



Fonte: Santos (2010).

Os compostos químicos sintetizados pelas plantas podem tornar-se disponíveis no ambiente de maneiras variadas. O modo de liberação desses

compostos para o meio é determinado principalmente pela localização e natureza dos compostos. Assim, os aleloquímicos podem ser liberados por meio de exsudação, volatilização, lixiviação e/ou decomposição dos resíduos (Figura 2) (NUÑEZ et al., 2006). A concentração, taxa de fluxo, idade e estágio fisiológico da planta, clima, estação do ano e condições ambientais são fatores que determinam a toxicidade e/ou concentração desses compostos na planta e/ou no ambiente (GNI AZDOWSKA; BOGATEK, 2005).

Figura 2 – Mecanismos de liberação dos aleloquímicos.



Fonte: SÁNCHEZ (2002).

Existem duas hipóteses sobre a transferência dos aleloquímicos da planta doadora para a planta receptora. Os aleloquímicos podem ser transferidos por contato célula-célula ou através do contato físico da raiz da planta alvo com o composto alelopático, sendo essa última a forma de absorção mais importante (INDERJIT; DUKE, 2003).

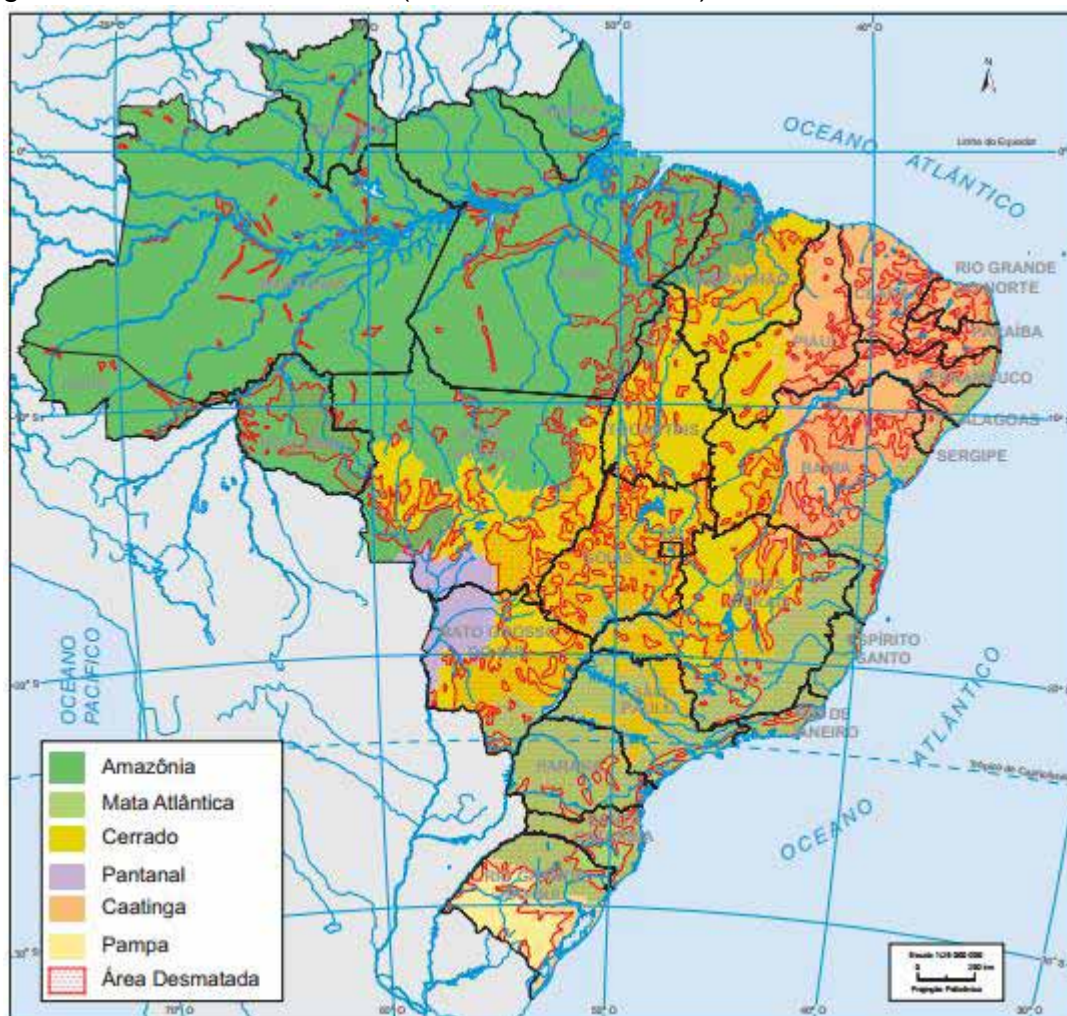
Bioensaios de laboratório que visem novos compostos ativos, como herbicidas, por exemplo, devem ser padronizados e reprodutíveis. As espécies selecionadas como alvo devem apresentar germinação rápida e uniforme e seu crescimento deve ser relativamente rápido. Dentre muitas outras, as espécies *Lactuca sativa* L. (alface) e *Agrostis stolonifera* L. (gramínea) são exemplos de eudicotiledônea e monocotiledônea, respectivamente, utilizadas para determinar a seletividade das substâncias testadas (DAYAN; DUKE, 2006). Outros fatores também devem ser observados em bioensaios, tais como o substrato utilizado, a

concentração total de compostos químicos, o tamanho da semente-alvo (WEIDENHAMER et al., 1989), o potencial osmótico e pH do extrato avaliado (DAYAN et al., 2009).

Todo bioensaio é embasado na habilidade de medir parâmetros que respondam a presença do composto testado. Assim, os parâmetros adotados são: a germinação, o comprimento da parte aérea e da parte radicular (DAYAN et al., 2000). Os aleloquímicos podem afetar muitos processos fisiológicos (SILVA et al., 2014). Modificações do crescimento e desenvolvimento vegetal podem ser explicadas através de alterações moleculares, ultraestruturais e de processos fisiológicos e bioquímicos ocasionados em resposta aos aleloquímicos (GNIAZDOWSKA; BOGATEK, 2005).

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo, sendo importante fonte de exploração na busca por novos compostos com propriedades alelopáticas e/ou fitotóxicas. Dentre seus biomas, o Cerrado é o segundo maior em extensão (Figura 3). O Cerrado possui 204 milhões de hectares, compreendendo cerca de 25% do território brasileiro, onde as plantas são fortemente influenciadas pelas limitações do regime de chuvas, e pelas características do solo, que é pouco fértil (AVIDOS; FERREIRA, 2000). O Cerrado apresenta grande diversidade faunística e florística, em torno de 30% da diversidade do país (PAGOTTO et al., 2006), ameaçada por causa da intensa ocupação de suas áreas, pela agricultura e invasão urbana (AVIDOS; FERREIRA, 2000). Diante da rápida redução das áreas do Cerrado (Figura 3) e sua grande diversidade florística, poucos estudos foram realizados sobre a atividade alelopática/fitotóxica de plantas nativas na germinação e desenvolvimento de plântulas de outras espécies (PERIOTTO et al., 2004). Neste contexto, não foram encontradas informações na literatura sobre o potencial fitotóxico das espécies avaliadas neste estudo; poucas informações foram encontradas sobre as principais classes de compostos químicos que ocorrem nas mesmas.

Figura 3 – Biomas brasileiros (escala 1:25 000 000).



Fonte: IBGE (2014).

Estudos realizados com extratos obtidos a partir de folhas demonstraram que diversas espécies do Cerrado apresentam compostos com propriedades alelopáticas, dentre algumas delas, *Stryphnodendron obovatum* (SALGADO et al., 2013), *Anadenanthera falcata*, *Davilla elliptica*, *Miconia albicans*, *Siparuna guianensis*, *Xylopiya aromatica* (GATTI et al., 2007), *Qualea grandiflora*, *Ouratea spectabilis*, *Pouteria ramiflora*, *Stryphnodendron adstringens* (SILVA; AQUILA, 2006) e *Aristolochia esperanzae* (GATTI et al., 2004).

Apesar da produção desses compostos ser de ordem genética, diversos fatores ambientais podem alterar o metabolismo secundário das plantas. Dentre esses fatores, a sazonalidade climática, trazendo consigo diferenças de temperatura, luminosidade e de disponibilidade hídrica, pode causar variações no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários. Além da

quantidade, a natureza dos compostos produzidos pode não ser igual durante todo o ano, sendo dependente das condições ambientais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Considerando a sazonalidade climática do Cerrado, o déficit hídrico é o fator mais relevante. Processos fisiológicos críticos como fotossíntese, mobilização de reservas e crescimento vegetal podem ser alterados sob estresse hídrico, desencadeando alterações no metabolismo secundário (TAIZ; ZEIGER, 2008). O estresse hídrico pode alterar a produção de vários tipos de metabólitos secundários, dependendo do período em que a seca ocorre e se ela é de curta ou longa duração (GERSHENZON, 1984; HORNER, 1990; JUNG, 2004). Assim, em estudos com plantas de Cerrado, a sazonalidade deve ser levada em conta ao se avaliar seu potencial alelopático e/ou fitotóxico.

Estudos tem comprovado que muitas das plantas utilizadas na medicina popular apresentam potencial alelopático (FUJII et al., 2003; ALVES et al., 2011; SILVESTRE et al., 2013), indicando que estas podem ser boas candidatas a serem estudadas dentre as espécies que ocorrem no Cerrado.

Dentre as espécies de Cerrado, a espécie *Byrsonima intermedia* A. Juss. (Malpighiaceae) (Figura 4) é conhecida popularmente por canjica ou murici. *B. intermedia* é um arbusto grande de até 4 m de altura, os ramos partindo do xilopódio robusto. Suas folhas são simples, opostas, subsésseis, obovais ou oblanceoladas com base aguda a cuneada, decorrente no pecíolo, as folhas possuem ápice arredondado, às vezes obtuso, acuminado ou emarginado. Suas flores são amarelas, dispostas em racemos densos, geralmente terminais, com frutos do tipo drupa, sendo globosa e amarela. Esta espécie ocorre em fisionomias campestres de Cerrado, em cerrado típico e em cerradão, em todo o Estado de São Paulo (DURIGAN et al., 2004). As folhas de *B. intermedia* são utilizadas na medicinal popular no combate de desordens gastrointestinais (SANTOS et al., 2012a). As principais classes de compostos químicos descritas para a espécie *Byrsonima intermedia* são: esteroides, flavonoides e taninos (SANNOMIYA et al., 2007; MOREIRA et al., 2011).

Figura 4 – Fruto e arbusto de *Byrsonima intermedia* A. Juss.



Fonte: FLORA DO CERRADO (2014); ÁRVORES DE SÃO PAULO (2014).

A espécie *Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr. (Figura 5) pertencente à família Asteraceae, de nome popular cambará ou candeia, é uma árvore de médio porte, tronco e ramos tortuosos, casca muito espessa com fendas sinuosas, entrelaçadas, seus ramos são branco-tomentosos quando jovens. Suas folhas são simples, alternadas, ovais, lanceoladas ou oblongo-lanceoladas, com base arredondada e ápice agudo, com pilosidade esbranquiçada na face inferior, discolors. As flores são pálidas reunidas em capítulos, dispostos em panículas amplas e o fruto aquênio viloso e quase cilíndrico. Esta espécie ocorre em cerrado típico, em cerradão e em outras formações florestais (DURIGAN et al., 2004). Suas folhas são utilizadas na medicina popular para a confecção de chás e xaropes administrados contra gripes, resfriados, tosses e outras afecções do sistema respiratório (STEFANELLO et al., 2006). A família Asteraceae é o maior grupo das Eudicotiledôneas (CUNHA; BORTOLOTTI, 2011); para a espécie foram descritos sesquiterpenos, triterpenos, ácidos fenólicos e flavonoides (FARIAS et al., 1984; MOREIRA et al., 2000).

Figura 5 – Face adaxial e abaxial de folhas de *Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr.



Fonte: FLORA DIGITAL (2014).

Popularmente conhecida como açoita-cavalo, a espécie *Luehea candicans* Mart. (Tiliaceae) (Figura 6) é uma árvore de casca áspera, finamente sulcada, com ramos pubescentes. Suas folhas são simples, alternadas, tri-nervadas, ovais a largamente ovais, de base obtusa a arredondada, ápice agudo a acuminado, a margem é irregularmente serrado-dentada, a face inferior recoberta por pilosidade esbranquiçada. Suas flores são brancas, grandes, estames muito longos e numerosos, em inflorescência terminal com uma a três flores. O fruto cápsula oblonga, angulosa, 5-locular, escura, cerca de quatro centímetros de comprimento. Ocorre em cerradão e na floresta estacional semidecidual (DURIGAN et al., 2004). A espécie *L. candicans* também possui registros e indicações de uso na medicina popular. Sua casca é indicada para o tratamento de reumatismo e contra disenteria. Em forma de infusão possui efeito adstringente na limpeza de úlceras internas e feridas. Suas folhas e casca são utilizadas por índios de várias etnias nos estados do Paraná e Santa Catarina para descolorir o cabelo, no tratamento de bronquite, no combate aos vermes, na cura do câncer, gastrite e má digestão (CARVALHO, 2008). Os principais constituintes químicos encontrados em *L. candicans* foram triterpenos, esteroides, flavonoides e lignana glicosilada (SILVA et al., 2012).

Figura 6 – Arbusto com fruto de *Luehea candicans* Mart.



Fonte: KEW ROYAL BOTANIC GARDENS (2014a).

Espécie lenhosa típica do estado de São Paulo, a *Miconia chamissois* Naud. (Melastomataceae) (Figura 7) é conhecida popularmente como folha-de-bolo, é um arbusto lenhoso, de até 3 m de altura, possui ramos obtusos, tetragonos, glabros. Suas folhas são simples, opostas cruzadas, curto-pecioladas, ovado-elípticas, base arredondada, aguda ou atenuada, glabras, nervuras acródomas supra-basais. Suas flores são brancas pequenas, de cálice viscoso, dispostas em panículas terminais

grandes e piramidais. O fruto é baga subglobosa vermelha a preta, cerca de 1 cm de diâmetro. *M. chamissois* ocorre em terrenos permanentemente úmidos, especialmente em mata de brejo e mata-galeria (DURIGAN et al., 2004). A espécie apresenta potencial antimicrobiano; seu extrato metanólico inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e de *Candida albicans* (BARROS et al., 2006). Em outro gênero da família foi descrito o isolamento das seguintes classes de compostos químicos: fitoesteroides, triterpenos, flavonoides, taninos e benzoquinonas (SANTOS et al., 2012b).

Figura 7 – Arbusto com fruto de *Miconia chamissois* Naud.



Fonte: KEW ROYAL BOTANIC GARDENS (2014b).

A espécie *Qualea cordata* Spreng. (carvãozinho ou dedaleira-preta) (Figura 8), pertencente à família Vochysiaceae, é uma árvore de casca espessa, com fendas sinuosas, gerando cristas entrelaçadas. Suas folhas são simples, opostas, sésseis ou subsésseis, ovais, base cordada, ápice agudo a acuminado, glabras em ambas as faces, com a margem levemente ondulada. As flores são brancas, com uma pétala parcialmente vinácea, dispostas em racemos terminais ou axilares. O fruto cápsula lenhosa deiscente, ovóide, cerca de 2 cm de comprimento. A espécie ocorre em Cerrado típico e em Cerradão (DURIGAN et al., 2004). As cascas e folhas são utilizadas na medicina popular e os frutos como fonte de material corante. O pó da casca de seu tronco é indicado para a limpeza de úlceras e feridas externas, suas sementes possuem quantidades significativas de ácido láurico e o extrato de suas

folhas possui ação depressora sobre o sistema nervoso central, efeito analgésico e anticonvulsivo. O extrato etanólico da casca de *Q. cordata* exibe ação antiulcerogênica (NEGRELLE, 2011). Em outro estudo, foram identificadas flavononas na espécie *Q. cordata* (NETO et al., 2013).

Figura 8. Arbusto de *Qualea cordata* Spreng.



Fonte: FLORA DE MISIONES (2014).

OBJETIVOS

1. Avaliar a fitotoxicidade de extrato aquoso de folhas de cinco espécies do Cerrado (*Qualea cordata*, *Luehea candicans*, *Gochnatia polymorpha*, *Miconia chamissois* e *Byrsonima intermedia*);
2. Avaliar a influencia da sazonalidade sobre a fitotoxicidade de extrato aquoso de folhas de cinco espécies do Cerrado (*Qualea cordata*, *Luehea candicans*, *Gochnatia polymorpha*, *Miconia chamissois* e *Byrsonima intermedia*);
3. Identificar as principais classes químicas de metabólitos secundários presentes nas plantas, em ambas às estações do ano.

1 Título do artigo

Efeito da sazonalidade sobre o potencial fitotóxico de cinco espécies nativas do Cerrado

Graciele Fernanda de Souza Pinto, Rosana Marta Kolb

Programa de Pós-Graduação em Biociências, Departamento de Ciências Biológicas,
Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Univ Estadual Paulista – UNESP. Av. Dom
Antônio, 2100, 19806-900, Assis, São Paulo, Brasil

Endereço de e-mail

Graciele Fernanda de Souza Pinto gracinanda@hotmail.com

Rosana Marta Kolb rosanakolb@hotmail.com

Endereço para correspondência

Graciele Fernanda de Souza Pinto

1.1 Resumo

Metabólitos secundários fitotóxicos produzidos por plantas vem sendo estudados como possíveis fontes de bioerbicidas. Contudo, vários fatores ambientais podem alterar o metabolismo secundário das plantas e assim, a produção destes compostos. Dentre estes fatores, a sazonalidade, trazendo diferença de disponibilidade hídrica, pode causar variações no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários. Neste estudo, o efeito fitotóxico dos extratos aquosos de folhas coletadas na estação seca e estação chuvosa, de *Byrsonima intermedia*, *Gochnatia polymorpha*, *Luehea candicans*, *Miconia chamissois* e *Qualea cordata* (espécies típicas de Cerrado), foram avaliados sobre a germinação e o crescimento inicial de milho e pepino. Os parâmetros avaliados foram afetados pelos extratos de folhas coletadas em ambas as estações, tendo havido influência da sazonalidade do Cerrado sobre a fitotoxicidade dos mesmos. A triagem fitoquímica dos extratos de folhas coletadas em ambas as estações do ano permitiu a identificação de antraquinonas, triterpenoides, saponinas e taninos. Os resultados mostraram que as espécies estudadas têm potencial fitotóxico e que a sazonalidade do Cerrado deve ser considerada em estudos que buscam avaliar a fitotoxicidade de espécies deste bioma.

Palavras-chave

Alelopatia; Metabolismo secundário; Triagem fitoquímica; Extratos aquosos.

1.2 Introdução

Os produtos naturais biologicamente ativos são fontes para novas estruturas químicas, pois são utilizados no desenvolvimento de moléculas com importância comercial para a área farmacológica, agrônômica, entre outras. É crescente o interesse em metabólitos secundários derivados da comunicação química entre os organismos (Macías et al. 2008; Imatomi et al. 2013).

Promissor na busca por compostos bioativos, o Cerrado é uma das formações vegetacionais de maior biodiversidade no Brasil, onde as plantas são fortemente influenciadas pelas limitações do regime de chuvas, e pelas características do solo que é pouco fértil. O clima deste bioma é marcadamente sazonal, com episódios de seca de abril a setembro (Imatomi et al. 2013). Considerando a sazonalidade climática do Cerrado, o déficit hídrico é o fator mais relevante. Processos fisiológicos críticos como fotossíntese, mobilização de reservas e crescimento vegetal podem ser alterados sob estresse hídrico, desencadeando alterações no metabolismo secundário (Taiz e Zeiger 2009). Assim, o estresse hídrico pode alterar a produção de vários tipos de metabólitos secundários, dependendo do período em que a seca ocorre e se ela é de curta ou longa duração (Gershenzon 1984; Horner 1990; Jung 2004). Estudos demonstram que plantas submetidas a estresse biótico ou abiótico produzem grandes quantidades de compostos bioativos (Chaves e Escudero 1999).

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial fitotóxico de extratos aquosos de folhas de *Byrsonima intermedia* (A. Juss.), *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera, *Luehea candicans* Mart., *Miconia chamissois* Naudin e *Qualea cordata* Spreng. (espécies típicas de Cerrado), e o efeito da sazonalidade (estação seca e chuvosa) sobre o potencial fitotóxico dos mesmos. O efeito dos extratos foi avaliado sobre a germinação e o crescimento inicial de uma monocotiledônea, *Zea mays* L. (milho), e de uma eudicotiledônea, *Cucumis sativus* L.

(pepino). Além disso, foi realizada triagem fitoquímica nos extratos para identificar os principais metabólitos secundários em cada estação.

1.3 Material e métodos

Material vegetal

As folhas foram coletadas em agosto de 2013 (estação seca) e abril de 2014 (estação chuvosa) em área de Cerrado na Estação Ecológica de Assis, cidade de Assis, estado de São Paulo, Brasil (22°33'20" a 22°37'41"S e 50°24'48" a 50°21'27"W). As folhas foram coletadas de, no mínimo, cinco indivíduos por espécie e por estação, secas à sombra e trituradas em moinho de facas; o pó obtido foi acondicionado em recipientes de polietileno e armazenado a temperatura de 4°C até a sua utilização.

Preparo dos extratos

Os extratos foram obtidos na proporção de 1:10 p/v, (pó das folhas: água destilada) e armazenados a 4°C durante 24 horas no escuro, para completa extração dos compostos ativos (Borghetti et al. 2013). Posteriormente, os extratos foram filtrados em papel de filtro, armazenados em recipientes de polietileno e congelados até a sua utilização.

Rendimento dos extratos

Para cálculo do rendimento (Tabela 1), 50 mL do extrato aquoso de cada espécie, proporção 1:10 (p/v), correspondentes à estação seca e chuvosa, foram colocados em béqueres, previamente pesados, e acondicionados em estufa a $\pm 50^\circ\text{C}$ até evaporação total do solvente. Posteriormente, os béqueres foram pesados novamente e realizado o cálculo de resíduos de acordo com a equação (1):

$$(1) \quad \text{Resíduo} = (P_f - P_i) / V_{\text{ext}}$$

onde: P_f : peso final do béquer de ensaio; P_i : peso inicial do béquer de ensaio e V_{ext} : volume de extrato utilizado.

Características físico-químicas dos extratos

O pH e potencial osmótico dos extratos foram determinados com auxílio do pHmetro (TEC-2, Tecnal, Brasil) e um refratômetro de bancada tipo Abbe, respectivamente.

O potencial osmótico foi determinado por meio da avaliação de soluções osmóticas obtidas com uso de PEG 6000 (Villela et al. 1991), nas quantidades indicadas para obtenção de potenciais osmóticos de -0,001 a -0,01 MPa e calculados de acordo com a equação (2):

$$(2) \quad y = -3,7765x^2 - 10,237x + 0,195$$

onde: y = Índice de Refração em (Brix).

Influência do pH dos extratos sobre as espécies-alvo

A influência do pH dos extratos sobre as espécies-alvo foi avaliada através de bioensaios de germinação e crescimento inicial em solução aquosa acidificada com HCl 0,1 N até pH=3,69.

Espécies-alvo

Foram utilizadas duas espécies alvo, pepino verde comprido (ISLA) (*Cucumis sativus* L.) e milho híbrido duplo cultivar SHS 4080 (*Zea mays* L.), para testar o potencial fitotóxico dos extratos sobre os parâmetros de germinação e crescimento inicial. Estas espécies foram selecionadas por apresentarem germinação rápida e uniforme, crescimento inicial rápido e por terem um grau de sensibilidade que permite expressar os resultados com baixas concentrações de compostos bioativos (Rice 1979; Ferreira e Aquila 2000).

Bioensaio de germinação

Os bioensaios foram realizados em caixas tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), contendo duas folhas de papel filtro umedecidas com 10 mL de extrato para os bioensaios realizados com sementes de pepino e 15 mL de extrato para os bioensaios realizados com milho, ou água destilada (controle). Para cada tratamento foram montadas cinco repetições contendo 20 sementes de pepino ou de milho, totalizando 100 sementes. As caixas tipo gerbox foram mantidas em estufa B.O.D. (Eletrolab, modelo 102 FC) a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) com fotoperíodo de 12 h. A contagem das sementes foi realizada a cada 12 h totalizando 96 h para as sementes de milho e 120 h para as de pepino. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram 1 mm de protrusão radicular. Os parâmetros analisados foram porcentagem e velocidade de germinação e sincronismo (Ranal e Santana 2006).

Bioensaio de crescimento inicial

Os bioensaios foram realizados em caixas tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), contendo duas folhas de papel filtro umedecidas com 10 mL de extrato ou água destilada (controle). Para cada tratamento foram realizadas três repetições contendo 20 sementes previamente germinadas (2 mm de protrusão radicular) de pepino ou de milho (n=60). As caixas tipo gerbox foram incubadas em estufa B.O.D. nas condições já descritas. Os bioensaios totalizaram 96 h para sementes de milho e 120 h para pepino. Os parâmetros analisados foram comprimento da raiz principal e parte aérea e número de raízes secundárias.

Triagem fitoquímica

Os extratos aquosos de folhas coletadas na estação seca e chuvosa, proporção 1:10 (p/v), foram submetidos à triagem fitoquímica. Para identificar alcaloides foram utilizados os reativos de Hager, Mayer e Dragendorff. A identificação de antraquinonas foi feita com

NaOH, a de cumarinas com KOH, a de esteroides e triterpenoides com $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ e H_2SO_4 . Para revelar flavonoides utilizou-se AlCl_3 e para taninos solução de gelatina (Matos 1997; Marins et al. 2011).

Análise estatística

A porcentagem e velocidade média de germinação, sincronismo, comprimento da parte aérea e da raiz primária e o número de raízes secundárias foram calculados como diferença percentual em relação ao controle (Chung et al. 2001). Os valores positivos representam estímulo e valores negativos inibição.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk, $p > 0.05$) e quanto à homogeneidade de variâncias (teste de Levene, $p > 0.05$). Sempre que atendidas as premissas, as médias foram comparadas pelo teste t de Student e quando não, pelo teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade de erro.

1.4 Resultados

Características físico-químicas dos extratos

O pH da água destilada (controle) utilizada neste estudo foi de 6,01 enquanto que o pH dos extratos variou de 3,69 a 6,22 (Tabela 2). A germinação e o crescimento inicial das espécies-alvo não foram significativamente influenciados por solução aquosa acidificada $\text{pH} = 3,69$ (dados não mostrados).

O potencial osmótico dos extratos variou de -0,031 a -0,008 MPa (Tabela 2).

Bioensaio de germinação

Os extratos de folhas de *B. intermedia* não causaram alterações significativas no comportamento germinativo de milho em relação ao controle, em ambas às estações. Observou-se apenas que houve tendência do sincronismo de milho ser estimulado na estação seca e reduzido na estação chuvosa (Tabela 3). Os extratos de folhas de *B. intermedia* não afetaram a germinabilidade de pepino em ambas estações, porém, o extrato de folhas da estação chuvosa reduziu significativamente a velocidade média de germinação de pepino em relação ao controle (Tabela 4). Já o sincronismo de pepino aumentou significativamente na presença de extratos de ambas às estações, em relação ao controle; sendo este efeito mais acentuado no extrato de folhas coletadas na estação chuvosa (Tabela 4). De acordo com os resultados obtidos, o extrato de *B. intermedia* apresentou maior fitotoxicidade quando as folhas foram coletadas na estação chuvosa (Tabela 3 e 4).

Os extratos de folhas de *G. polymorpha*, coletadas em ambas às estações, reduziram significativamente a porcentagem e a velocidade média de germinação de milho, em relação ao controle, sem diferenças significativas entre as estações (Tabela 3). A porcentagem de germinação em pepino não foi alterada pelos extratos enquanto que sua velocidade média de germinação foi reduzida significativamente em relação ao controle, quando considerado o extrato obtido de folhas coletadas na estação chuvosa (Tabela 4). Não houve diferenças significativas em relação ao sincronismo das sementes de milho e pepino (Tabela 3 e 4). Assim, considerando-se as duas espécies analisadas, observou-se que o extrato de folhas de *G. polymorpha* coletadas na estação chuvosa apresentou maior fitotoxicidade (Tabela 3 e 4).

O extrato de folhas de *L. candidans* coletadas na estação chuvosa reduziu significativamente a porcentagem de germinação de milho em relação ao controle (Tabela 3), contudo, os extratos de ambas as estações não afetaram sua velocidade média de germinação. O sincronismo de milho aumentou significativamente em relação ao controle, apenas no extrato de folhas coletadas na estação seca (Tabela 3). A porcentagem e a velocidade média

de germinação de pepino foram reduzidas significativamente em relação ao controle, no extrato de folhas de *L. candicans* coletadas na estação chuvosa, enquanto que o sincronismo de pepino foi aumentado significativamente em relação ao controle no mesmo extrato (Tabela 4). Assim, observou-se que o extrato de folhas de *L. candicans* coletadas na estação chuvosa apresentou maior fitotoxicidade (Tabela 3 e 4).

O extrato de folhas de *M. chamissois* coletadas na estação seca reduziu significativamente a velocidade média de germinação de milho em relação ao controle, e estimulou significativamente o sincronismo destas sementes (Tabela 3). Os extratos reduziram significativamente a velocidade média de germinação de pepino em relação ao controle, em ambas às estações (Tabela 4). O sincronismo de pepino foi estimulado significativamente em relação ao controle apenas no extrato de folhas coletadas na estação seca (Tabela 4). A porcentagem de germinação de ambas as sementes não foi alterada significativamente pelos extratos (Tabela 3 e 4). Deste modo, observou-se que o extrato de *M. chamissois* apresentou maior fitotoxicidade quando as folhas foram coletadas na estação seca (Tabela 3 e 4).

O extrato de folhas de *Q. cordata* coletadas na estação seca reduziu significativamente à velocidade média de germinação de milho e aumentou o sincronismo destas sementes em relação ao controle; a porcentagem de germinação não foi alterada (Tabela 3). O extrato de folhas de *Q. cordata* coletadas na estação seca reduziu significativamente a porcentagem de germinação de pepino e aumentou significativamente o sincronismo destas sementes em relação ao controle (Tabela 4). Ademais, os extratos de *Q. cordata* reduziram significativamente a velocidade média de germinação de pepino em relação ao controle em ambas às estações (Tabela 4). Observou-se que o extrato de folhas de *Q. cordata* coletadas na estação seca apresentou maior fitotoxicidade (Tabela 3 e 4).

Bioensaio de crescimento inicial

Os extratos de folhas de *B. intermedia* coletadas em ambas às estações reduziram, em proporção semelhante, o comprimento da raiz primária de milho em relação ao controle (Tabela 5). O comprimento da parte aérea de milho foi significativamente reduzido no extrato de folhas coletadas na estação seca e estimulado no extrato de folhas coletadas na estação chuvosa, em relação ao controle (Tabela 5). Houve redução significativa do número de raízes secundárias de milho em relação ao controle no extrato de folhas coletadas na estação seca (Tabela 5). O comprimento da raiz primária, da parte aérea e o número de raízes secundárias de pepino reduziram significativamente em relação ao controle, em ambas às estações, entretanto, observou-se que o extrato de folhas de *B. intermedia* coletadas na estação chuvosa foi mais fitotóxico para o crescimento do pepino que o da estação seca (Tabela 6). De acordo com os resultados obtidos, o extrato de *B. intermedia* apresentou fitotoxicidade em ambas às estações, sendo maior na estação seca para o milho e maior na estação chuvosa quando considerado o pepino (Tabela 5 e 6).

O comprimento da raiz primária de milho foi significativamente reduzido nos extratos de folhas de *G. polymorpha* coletadas em ambas às estações, mas o extrato de folhas coletas na estação seca foi o mais fitotóxico (Tabela 5). A parte aérea de milho foi significativamente estimulada em relação ao controle no extrato de folhas coletadas na estação chuvosa. O número de raízes secundárias de milho não foi alterado pelos extratos (Tabela 5). Os extratos de folhas de *G. polymorpha* coletadas em ambas às estações reduziram significativamente o comprimento da raiz primária de pepino em relação ao controle, porém o efeito do extrato de folhas coletadas na estação seca foi mais pronunciado (Tabela 6). A parte aérea de pepino foi significativamente reduzida na estação seca e estimulada na estação chuvosa em relação ao controle. O número de raízes secundárias de pepino reduziu significativamente em relação ao controle em ambas as estações (Tabela 6). Assim, observou-se que o extrato de *G.*

polymorpha apresentou fitotoxicidade em ambas às estações, quando o órgão analisado foi a raiz; a parte aérea foi estimulada pelo extrato da estação chuvosa (Tabela 5 e 6).

Os extratos de folhas de *L. candicans* coletadas em ambas às estações estimularam significativamente o comprimento da raiz primária, da parte aérea e o número de raízes secundárias de milho, em relação ao controle (Tabela 5). No entanto, o extrato de folhas coletadas na estação seca foi o que causou mais resposta na raiz primária destas plântulas (Tabela 5). Os extratos de folhas de *L. candicans* coletadas em ambas às estações reduziram significativamente o comprimento da raiz primária de pepino em relação ao controle; a parte aérea não foi afetada (Tabela 6). O número de raízes secundárias de pepino reduziu significativamente em relação ao controle, nos extratos de ambas às estações (Tabela 6). O extrato de *L. candicans* apresentou maior fitotoxicidade quando as folhas foram coletadas na estação seca em milho e na chuvosa considerando o pepino (Tabela 5 e 6).

O comprimento da raiz primária de milho foi significativamente reduzido nos extratos de folhas de *M. chamissois* coletadas em ambas às estações em relação ao controle; verificou-se que o extrato de folhas coletadas na estação seca causou maior redução (Tabela 5). A parte aérea e o número de raízes secundárias de milho foram significativamente reduzidos no extrato de folhas coletadas na estação seca e estimulados no extrato de folhas coletadas na estação chuvosa, em relação ao controle (Tabela 5). Os extratos de folhas de *M. chamissois* coletadas em ambas às estações reduziram significativamente o comprimento da raiz primária de pepino, entretanto o extrato de folhas coletadas na estação seca causou maior redução (Tabela 6). A parte aérea de pepino foi significativamente reduzida no extrato de folhas coletadas na estação seca em relação ao controle e, o número de raízes secundárias foi significativamente reduzido em ambas às estações, sendo a maior redução causada pelo extrato de folhas coletadas na estação seca (Tabela 6). Assim, verificou-se que o extrato de

folhas de *M. chamissois* coletadas na estação seca apresentou maior fitotoxicidade (Tabela 5 e 6).

Os extratos de folhas de *Q. cordata*, coletadas em ambas às estações, reduziram significativamente o comprimento da raiz primária de milho em relação ao controle, porém o extrato de folhas coletadas na estação seca causou maior redução (Tabela 5). A parte aérea de milho foi significativamente reduzida no extrato de folhas coletadas na estação seca e estimulada no extrato de folhas coletadas na estação chuvosa, em relação ao controle. O número de raízes secundárias de milho reduziu significativamente em relação ao controle, apenas no extrato de folhas coletadas na estação seca (Tabela 5). Os extratos de folhas de *Q. cordata* coletadas em ambas às estações reduziram significativamente o comprimento da raiz primária, da parte aérea e o número de raízes secundárias de pepino, em relação ao controle (Tabela 6). Observou-se que o extrato de folhas coletadas na estação seca foi o mais fitotóxico para a parte aérea de pepino (Tabela 6). De acordo com os resultados obtidos, o extrato de *Q. cordata* apresentou maior fitotoxicidade quando as folhas foram coletadas na estação seca (Tabela 5 e 6).

Triagem fitoquímica

Os testes realizados identificaram algumas das principais classes de metabólitos secundários nos extratos de folhas das cinco espécies de Cerrado coletadas em ambas às estações (Tabela 7):

a) extratos de *B. intermedia* foram positivos para: antraquinonas na estação seca, triterpenoides (maior intensidade na estação seca em relação à chuvosa), saponinas na estação chuvosa e taninos (em maior intensidade na estação seca em relação à chuvosa);

b) extratos de *G. polymorpha* foram positivos para: antraquinonas e triterpenoides (ambos com maior intensidade na estação seca em relação à chuvosa) e saponinas em ambas às estações;

c) extratos de *L. candicans* foram positivos para: triterpenoides (maior intensidade na estação chuvosa em relação à seca), saponinas e taninos em ambas às estações;

d) extratos de *M. chamissois* foram positivos para: antraquinonas (maior intensidade na estação chuvosa em relação à seca), triterpenoides e taninos (ambos com maior intensidade na estação seca em relação à chuvosa) e saponinas na estação seca;

e) extratos de *Q. cordata* foram positivos para: antraquinonas na estação chuvosa, triterpenoides (maior intensidade na estação chuvosa em relação à seca), saponinas e taninos (ambos com maior intensidade na estação seca em relação à chuvosa).

1.5 Discussão

Os extratos brutos de plantas podem conter substâncias como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que exercem influência sobre o pH e são osmoticamente ativas mascarando um fenômeno alelopático e/ou um efeito fitotóxico. Assim, torna-se necessário avaliar o pH e o potencial osmótico dos extratos (Ferreira e Aquila 2000).

O extrato de *Q. cordata* (estação seca) foi o que obteve menor valor de pH = 3,69 (Tabela 2). Dados da literatura apontam que tanto a germinação quanto o desenvolvimento radicular são afetados negativamente, em condições de extrema acidez ou extrema alcalinidade (Souza Filho et al. 1996). Entretanto, em bioensaios de germinação e crescimento inicial com as espécies-alvo, verificou-se que nem a germinação e nem o crescimento inicial foram significativamente influenciados pelo pH avaliado (3,69) (dados não mostrados), sendo as respostas observadas de origem fitotóxica.

Os efeitos do potencial osmótico também podem ser observados sobre o comportamento germinativo e crescimento das plântulas (Ferreira e Aquila 2000), sendo que em potencial osmótico acima de $-0,9$ MPa a germinação é severamente reduzida e acima de $-1,5$ MPa totalmente inibida (Eberlein 1987). Levando em conta os valores de potencial osmótico obtidos (Tabela 2), pode-se considerar que estes não influenciaram a atividade fitotóxica dos extratos, sendo as alterações causadas por compostos do metabolismo secundário das plantas avaliadas.

Os resultados dos bioensaios confirmam que as espécies de Cerrado *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *L. candicans*, *M. chamissois* e *Q. cordata* apresentam atividade fitotóxica, sobre a germinação e o crescimento inicial de milho e pepino.

Estudos têm demonstrado que espécies de Cerrado apresentam atividade fitotóxica sobre a germinação e crescimento inicial de alface, tomate, cebola, rabanete, pepino e trigo, sendo a porcentagem e/ou a velocidade de germinação, e o crescimento da raiz primária, os parâmetros mais afetados das espécies-alvo (Novaes et al. 2013). Os dados aqui obtidos corroboram com os resultados encontrados nestes estudos.

A ação dos metabólitos secundários sobre a germinação e o crescimento inicial de espécies ainda permanece obscura, no entanto, a ação destes sobre a germinação parece ser mediada principalmente através da interrupção do metabolismo celular normal. Um dos efeitos pode ser sobre a mobilização de reservas, que normalmente ocorre rapidamente durante os primeiros estágios de germinação de sementes, que pode atrasar ou diminuir por causa da fitotoxicidade (Gniazdowska e Bogatek 2005). A extensão dos efeitos de compostos secundários sobre o crescimento inicial de plântulas é diversificada e pode afetar diferentes funções fisiológicas, tais como, a divisão celular (Silva et al. 2014) e processos metabólicos, como a fotossíntese (Qian et al. 2009) e a respiração (Hejl e Koster 2004; Mushtaq et al. 2013).

As diferenças encontradas para extratos de folhas de *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *L. candicans*, *M. chamissois* e *Q. cordata* coletadas na estação seca e chuvosa, indicam que a sazonalidade influencia a fitotoxicidade, afetando a composição e a concentração dos metabólitos secundários. As plantas normalmente apresentam maior fitotoxicidade na estação seca, como consequência do estresse hídrico, contudo, a produção de metabólitos secundários pode depender do grau de estresse e do período em que ele ocorre (Gobbo-Neto e Lopes 2007). No presente estudo, observou-se este comportamento de maior fitotoxicidade na estação seca para *M. chamissois* e *Q. cordata*, independente se avaliada a germinação ou o crescimento inicial das espécies alvo analisadas. Já as outras três espécies apresentaram maior fitotoxicidade na estação chuvosa, quando considerados os parâmetros de germinação, ou em diferentes estações, quando consideradas as diferentes espécies alvo. Essas respostas sugerem que certas espécies de Cerrado podem apresentar maior fitotoxicidade em situação de estresse hídrico enquanto que outras podem ter a produção de metabólitos secundários favorecida ou sua composição alterada pela maior disponibilidade de água no ambiente. Assim, o efeito da sazonalidade sobre o potencial fitotóxico de espécies de Cerrado deve ser considerado, devendo-se realizar estudos em diferentes épocas do ano a fim de constatar o real potencial fitotóxico de suas espécies.

A triagem fitoquímica realizada nos extratos aquosos de folhas de *B. intermedia* levou a identificação de triterpenoides e taninos, além de antraquinonas na estação seca e saponinas na estação chuvosa (Tabela 7). Em outros estudos, foram relatados esteroides, flavonoides e taninos em extrato metanólico (Sannomiya et al. 2007), e catequina e flavonoides em extrato aquoso bruto, frações de acetato de etila e frações aquosas de folhas de *B. intermedia* (Moreira et al. 2011). Assim, a presença de taninos foi o único achado em comum com a literatura para a espécie. Respostas oriundas de bioensaios com extratos de plantas são complexas e, alterações de comportamento (estímulo x inibição) em função de diferentes

estações podem ser resultado de compostos distintos ou então de mesmos compostos, mas presentes em diferentes concentrações nas estações. No extrato de *B. intermedia*, a germinação foi mais inibida na estação chuvosa (Tabelas 3 e 4), na qual houve a detecção de saponinas (Tabela 7); é possível então que as saponinas estejam relacionadas com esta maior resposta de inibição. Foi sugerido em outro estudo com sementes de algodão, que saponinas atuam reduzindo a taxa respiratória das sementes, devido a menor difusão do oxigênio através do tegumento, inibindo sua germinação (Marchaim et al. 1974). O crescimento das plantas alvo foi afetado pelo extrato de *B. intermedia* de ambas às estações (Tabelas 5 e 6); os compostos químicos detectados em ambas às estações foram os triterpenoides e os taninos (Tabela 7). Um estudo recente mostrou que triterpenoides foram responsáveis pela inibição do crescimento da raiz de *Echinochloa crus-galli*, *Amaranthus hypochondriacus* e *Lactuca sativa* (González-Coloma et al. 2011). Similarmente, taninos foram relatados como sendo os prováveis responsáveis pela redução da germinação e por suprimir a parte aérea e raízes de *Parthenium hysterophorus* (Javaid e Shah 2007). Sendo assim, é possível que tanto triterpenoides quanto taninos estejam relacionados com os efeitos observados.

A análise fitoquímica dos extratos aquosos de folhas de *G. polymorpha* levou a identificação de antraquinonas, triterpenoides e saponinas (Tabela 7). Em outros estudos, foram caracterizados terpenos no extrato hexânico do tronco e casca (Farias et al. 1984) e ácidos fenólicos e flavonoides, em fração acetato de etila de folhas (Moreira et al. 2000) de *G. polymorpha*. Portanto, a presença de triterpenoides foi o único achado em comum com a literatura para *G. polymorpha*. Os extratos de *G. polymorpha* causaram respostas diversas, dependendo da estação, é possível que a maior inibição da raiz primária causada pelo extrato obtido na estação seca (Tabelas 5 e 6) tenha ocorrido devido a maior quantidade de antraquinonas e/ou triterpenoides encontrados neste extrato (Tabela 7), enquanto que o estímulo da parte aérea pode ter decorrido da menor quantidade dos mesmos compostos

presentes no extrato da estação chuvosa (Tabelas 5 e 6). Triterpenoides e antraquinonas são reconhecidos como compostos biologicamente ativos (Bessa et al. 2013); compostos de antraquinona exibiram atividade inibitória sobre o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa*, *Amaranthus viridis* e *Phleum pratense* (Inoue e Nishimura 1992).

A análise química dos extratos aquosos de folhas de *L. candidans* levou a identificação de triterpenoides, saponinas e taninos (Tabela 7). Em outro estudo, os principais constituintes químicos encontrados foram triterpeno em fração hexânica e clorofórmica, uma mistura de esteroides na fração clorofórmica, flavonoide e lignana glicosilada na fração metanólica e flavonoide na fração acetato de etila de folhas de *L. candidans* (Silva et al. 2012). Assim, os estudos apresentaram em comum apenas triterpenoides. O extrato de folhas de *L. candidans* coletadas na estação chuvosa apresentou maior fitotoxicidade sobre os parâmetros de germinação das espécies-alvo (Tabelas 3 e 4). Acredita-se que os triterpenoides sejam os principais responsáveis pelo efeito fitotóxico observado, já que sua quantidade aumentou na estação chuvosa (Tabela 7). Resultado semelhante foi encontrado por Martins et al. (2010), onde triterpenoides e esteroides foram relatados como sendo inibidores da germinação de sementes de *Lactuca sativa*.

A análise fitoquímica dos extratos aquosos de folhas de *M. chamissois* levou a identificação de antraquinonas, triterpenoides e taninos em ambas às estações e saponinas na estação seca (Tabela 7). Há na literatura relato da presença de triterpenos, identificados a partir do extrato diclorometânico e flavonoides identificados a partir do extrato etanólico das partes aéreas de outro gênero da família Melastomataceae (Santos et al. 2012). Assim, os gêneros estudados apresentaram em comum os triterpenoides. O extrato de folhas de *M. chamissois* coletadas na estação seca exibiu maior fitotoxicidade sobre as espécies-alvo, tanto para a germinação (Tabelas 3 e 4) quanto para o crescimento inicial (Tabelas 5 e 6). É possível que estes efeitos sejam o resultado da maior quantidade de triterpenoides e/ou taninos

identificados neste extrato; estes efeitos podem ter sido intensificados pela presença de saponinas, as quais foram detectadas apenas neste extrato.

A análise fitoquímica dos extratos aquosos de folhas de *Q. cordata* levou a identificação de triterpenoides, saponinas e taninos em ambas às estações e antraquinonas apenas na estação chuvosa (Tabela 7). Noutro estudo, foram identificadas flavanonas na fração acetato de etila de folhas de *Q. cordata* (Neto et al. 2013). Assim, não foram encontrados compostos em comum considerando os diferentes extratos da mesma espécie. O extrato de folhas de *Q. cordata* coletadas na estação seca apresentou maior fitotoxicidade sobre as espécies-alvo (Tabelas 3, 4, 5 e 6). Provavelmente saponinas e/ou taninos sejam os compostos químicos responsáveis pelo efeito fitotóxico observado, já que a presença destes compostos aumentou na estação seca (Tabela 7). Por outro lado, observou-se estímulo da parte aérea de milho na estação chuvosa (Tabela 5); este efeito pode ser decorrente da menor quantidade de saponinas e/ou taninos neste extrato, ou pela maior quantidade de triterpenoides ou ainda pela presença de antraquinonas, detectadas apenas no extrato desta estação (Tabela 7). Um estudo anterior mostrou que triterpenos e esteroides podem estimular o crescimento de plantas de *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum*, *Allium cepa* e *Hordeum vulgare* (Macías et al. 1997), entretanto, o mecanismo de ação destes compostos permanece desconhecido.

Concluindo, nossos resultados mostram que os extratos aquosos de folhas de *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *Q. cordata*, *L. candicans* e *M. chamissois* possuem potencial fitotóxico. O efeito fitotóxico das espécies estudadas, bem como a quantidade e composição de metabólitos secundários, difere em função da sazonalidade (estações seca e chuvosa), demonstrando a importância de se considerar este fator em estudos de alelopatia e fitotoxicidade. No entanto, estudos adicionais são necessários para esclarecer quais são os metabólitos secundários específicos responsáveis pelos efeitos fitotóxicos observados, a fim de que estes possam ser mais bem avaliados como possíveis novas fontes de bioerbicidas.

Agradecimentos

Agradecemos ao Instituto Florestal do Estado de São Paulo por permitir a realização das coletas na Estação Ecológica de Assis e a empresa Santa Helena Sementes, pela doação das sementes de milho. Este estudo foi apoiado pela concessão 2013/14413-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

1.6 Referências

- Bessa, N.G.F.de, Borges, J.C.M., Beserra, F.P., Carvalho, R.H.A, Pereira, M.A.B., Fagundes, R., Campos, S.L., Ribeiro, L.U., Quirino, M.S., Chagas Junior, A.F., Alves, A. 2013. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 15(4): 692–707. doi: 10.1590/S1516-05722013000500010.
- Borghetti, F., Lima, E.C., e Silva, L.C.R. 2013. A simple procedure for the purification of active fractions in aqueous extracts of plants with allelopathic properties. *Acta Botanica Brasílica* 27(1): 50–53. doi: 10.1590/S0102-33062013000100007.
- Chaves, N., e Escudero, C. 1999. Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. *In* Inderjit, K.M.M. Dakshini, and C.L. *Edited by* Foy. CRC Press LLC: Principles and Practices in Plant Ecology: allelochemical Interactions, Boca Raton, Florida. pp. 267–285.
- Chung, I.M., Ahn, J.K., e Yun, S.J. 2001. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. *Crop Protection* 20(10): 921–928. doi: 10.1016/S0261-2194(01)00046-1.

- Eberlein, C.V. 1987. Germination of *Sorghum almum* seeds and longevity in soil. *Weed Science* **35**(6): 796–801. Available from <http://www.jstor.org/stable/4044573> [accessed 28 december 2014].
- Farias, A.C., Silva, A.J.R., e Tomassini, T.C.B. 1984. Constituents of *Mochinea polymorpha*. *Journal of Natural Products* **47**(2): 363–364. doi: 10.1021/np50032a021.
- Ferreira, A.G., e Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **12**: 175–204. Available from <http://www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/v12ne.html> [accessed 28 december 2014].
- Gershenzon, J. 1984. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. *Recent Advances in Phytochemistry* **18**: 273–320. doi: 10.1007/978-1-4684-1206-2_10.
- Gniazdowska, A., e Bogatek, R. 2005. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. *Acta Physiologiae Plantarum* **27**(3): 395–407. doi: 10.1007/s11738-005-0017-3.
- Gobbo-Neto, L., e Lopes, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova* **30**(2): 374–381. Available from http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_374_25-RV05289.pdf [accessed 28 december 2014].
- González-Coloma, A., López-Balbosa, C., Santana, O., Reina, M., e Fraga, B.M. 2011. Triterpene-Based plant defenses. *Phytochemistry Reviews* **10**(2): 245–260. doi: 10.1007/s11101-010-9187-8.
- Hejl, A.M., e Koster, K.L. 2004. Juglone disrupts root plasma membrane H⁺-ATPase activity and impairs water uptake, root respiration, and growth in soybean (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*). *Journal of Chemical Ecology* **30**(2): 453–471. doi: 10.1023/B:JOEC.0000017988.20530.d5. PMID: 15112735.

- Horner, J.D. 1990. Nonlinear effects of water deficits on foliar tannin concentration. *Biochemical Systematics and Ecology* **18**(4): 211–213. doi: 10.1016/0305-1978(90)90062-K.
- Imatomi, M., Novaes, P., Matos, A.P., Gualtieri, S.C.J., Molinillo, J.M.G., Lacret, R., Varela, R.M., e Macías, F.A. 2013. Phytotoxic effect bioactive compounds isolated from *Myrcia tomentosa* (Myrtaceae) leaves. *Biochemical Systematics and Ecology* **46**: 29–35. doi: 10.1016/j.bse.2012.09.005.
- Inoue, M., Nishimura, H., Li, H.–H., e Mizutani, J. 1992. Allelochemicals from *Polygonum sachalinense* FR. SCHM. (Polygonaceae). *Journal of Chemical Ecology* **18**(10): 1833–1840. doi: 10.1007/BF02751107.
- Javaid, A., e Shah, M.B.M. 2007. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of two *Eucalyptus* ssp. against *Parthenium hysterophorus* L. *Science International (Lahore)* **19**(4): 303–306.
- Jung, S. 2004. Variation in antioxidant of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science* **166**(2): 459–466. doi: 10.1016/j.plantsci.2003.10.012.
- Macías, F. A., Simonet, A. M., e Galindo, J.C.G. 1997. Bioactive steroids and triterpenes from *Melilotus messanensis* and their allelopathic potential. *Journal of Chemical Ecology* **23**(7): 1781–1803. doi: 10.1023/B:JOEC.0000006451.19649.a0.
- Macías, F.A., Bastidas, A.O., Marín, D., Carrera, C., Chinchilla, N., e Molinillo, J.M.G. 2008. Plant biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. *Phytochemistry Reviews* **7**(1): 179–194. doi: 10.1007/s11101-007-9062-4.

- Marchaim, U., Werker, E., e Thomas, W.D.E. 1974. Changes in the anatomy of cotton seed coats caused by Lucerne saponins. *Botanical Gazette* **135**(2): 139–146. doi: 10.1086/336742.
- Marins, A.K., Vieira, D.F., Quadros, I.P.S., Pinheiro, P.F., Queiroz, V.T., e Costa, A.V. 2011. Prospecção fitoquímica das partes aéreas da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.). XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, Universidade do Vale do Paraíba, Alegre, ES, Brasil. Available from http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/RE_0450_0720_01.pdf [accessed 28 december 2014].
- Martins, C.M., Vasconcellos, M.A.S., Rosseto, C.A.V., e Carvalho, M.G. 2010. Prospecção fitoquímica do arilo de sementes de maracujá amarelo e influência em germinação de sementes. *Ciência Rural* **40**(9): 1934–1940. doi: 10.1590/S0103-84782010000900013.
- Matos, F.J.A. 1997. Introdução a fitoquímica experimental. 2nd edition. Edições UFC, Fortaleza.
- Moreira, A.S., Spitzer, V., Schapoval, E.E.S., e Schenkel, E.P. 2000. Antiinflammatory activity of extracts and fractions from the leaves of *Gochnatia polymorpha*. *Phytotherapy Research* **14**(8): 638–640. doi: 10.1002/1099-1573(200012)14:8<638::AID-PTR681>3.0.CO;2-Q. PMID: 11114003.
- Moreira, L.Q., Vilela, F.C., Orlandi, L., Dias, D.F., Santos, A.L.A., Silva, M.A., Paiva, R., Alves-da-Silva, G., e Giusti-Paiva, A. 2011. Anti-inflammatory effect of extract and fractions from the leaves of *Byrsonima intermedia* A. Juss. in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **138**(2): 610–615. doi: 10.1016/j.jep.2011.10.006. PMID: 22008877.
- Mushtaq, N.M., Sunohara, Y., e Matsumoto, H. 2013. Allelochemical L-DOPA induces quinoprotein adducts and inhibits NADH dehydrogenase activity and root growth of

- cucumber. *Plant Physiology and Biochemistry* **70**: 374–378. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.06.003.
- Neto, F.C., Siquitelli, C.D., Pilon, A.C., Silva, D.H.S., Bolzani, V.S., e Castro-Gamboa, I. 2013. Dereplication of phenolic derivatives of *Qualea grandiflora* and *Qualea cordata* (Vochysiaceae) using liquid chromatography coupled with ESI-QToF-MS/MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **24**(5): 758–764. doi: 10.5935/0103-5053.20130098.
- Novaes, P., Molinillo, J.M.G., Varela, R.M., e Macías, F.A. 2013. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savana) plants. *Phytochemistry Reviews* **12**(4): 839–855. doi: 10.1007/s11101-013-9315-3.
- Oliveira, A.K.M., Matias, R., Lopes, S.S., e Fontoura, F.M. 2014. Allelopathy and influence of leaves of *Palicourea rigida* (Rubiaceae) on seed germination and seedling formation in lettuce. *Bioscience Journal* **30**(5): 938–947. Available from <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/19842> [accessed 28 december 2014].
- Qian, H., Xu, X., Chen, W., Jiang, H., Jin, Y., Liu, W., e Fu, Z. 2009. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. *Chemosphere* **75**(3): 368–375. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.12.040. PMID: 19171365.
- Ranal, M.A., e Santana, D.G. 2006. How and why to measure the germination process?. *Revista Brasileira de Botânica* **29**(1): 1–11. Available from <http://www.scielo.br/pdf/rbb/v29n1/a02v29n1.pdf> [accessed 28 december 2014].
- Rice, E.L. 1979. Allelopathy—an update. *The Botanical Review* **45**(1): 15–109. doi: 10.1007/BF02869951.
- Sannomiya, M., Cardoso, C.R.P., Figueiredo, M. E., Rodrigues, C.M., Santos, L.C., Santos, F.V., Serpeloni, J.M., Cólus, I.M., Vilegas, W., e Varanda, E.A. 2007. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermedia* A. Juss. Leaf extracts.

- Journal of Ethnopharmacology **112**(2): 319–326. doi: 10.1016/j.jep.2007.03.014. PMID: 17459621.
- Santos, F.M., Souza, M.G., Crotti, A.E.M., Martins, C.H.G., Ambrósio, S.R., Veneziani, R.C.S., Silva, M.L.A., e Cunha, W.R. 2012. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae), isolated compounds and semi-synthetic derivatives against endodontic bacteria. Brazilian Journal of Microbiology **43**(2): 793–799. doi: 10.1590/S1517-83822012000200045.
- Silva, D.A., Alves, V.G., Franco, D.M., Ribeiro, L.C., de Souza, M.C., Kato, L., de Carvalho, J.E., Kohn, L.K., de Oliveira, C.M., e da Silva, C.C. 2012. Antiproliferative activity of *Luehea candicans* Mart. et Zucc. (Tiliaceae). Natural Product Research **26**(4): 364–369. doi: 10.1080/14786411003752102. PMID: 21432719.
- Silva, E.R., Overbeck, G.E., e Soares, G.L.G. 2014. Phytotoxicity of volatiles from fresh and dry leaves of two Asteraceae shrubs: Evaluation of seasonal effects. South African Journal of Botany **93**: 14–18. doi: 10.1016/j.sajb.2014.03.006.
- Souza Filho, A.P.S., Rodrigues, L.R.A., e Rodrigues, T.J.D. 1996. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. Planta Daninha **14**(2): 93–101. Available from <http://www.scielo.br/pdf/pd/v14n2/a02v14n2> [accessed 28 december 2014].
- Taiz, L., e Zeiger, E. 2009. Plant Physiology. 4nd edition. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- Villela, F.A.; Doni Filho, L. & Sequeira, E.L. 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. Pesquisa Agropecuária Brasileira **26**(11/12): 1957 – 1968. Available from <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/download/3549/882> [accessed 28 december 2014].

Voll, E., Brighenti, A.M., Gazziero, D.L.P., e Adegas, F.S. 2003. Relationships between weed seed species germination and electrical conductivity use. *Planta Daninha* **21**(2): 181–189. doi: 10.1590/S0100-83582003000200003.

Tabelas

Tabela 1. Rendimento dos extratos aquosos de folhas de espécies do Cerrado coletadas na estação seca e chuvosa.

Espécies	Resíduos (g/mL)	
	Estação seca	Estação chuvosa
<i>Byrsonima intermedia</i>	0,016	0,011
<i>Gochnatia polymorpha</i>	0,012	0,007
<i>Luehea candicans</i>	0,005	0,008
<i>Miconia chamissois</i>	0,019	0,012
<i>Qualea cordata</i>	0,012	0,006

Tabela 2. Valores de pH e potencial osmótico dos extratos aquosos.

Parâmetros	Extratos	Estação	
		Seca	Chuvosa
pH	<i>Byrsonima intermedia</i>	4,72	4,98
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	5,59	6,22
	<i>Luehea candicans</i>	5,47	5,75
	<i>Miconia chamissois</i>	3,93	4,48
	<i>Qualea cordata</i>	3,69	4,09
Potencial osmótico (MPa)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-0,025	-0,022
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-0,008	-0,008
	<i>Luehea candicans</i>	-0,011	-0,011
	<i>Miconia chamissois</i>	-0,031	-0,008
	<i>Qualea cordata</i>	-0,025	-0,011

Tabela 3. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *L. candicans*, *M. chamissois* e *Q. cordata* na germinação de sementes de milho. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.

Parâmetros †	Extratos	Estação	
		Seca	Chuvosa
G (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-6,00 \pm 5,70 (a)	-11,00 \pm 11,94 (a)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-26,00 \pm 22,80 (a*)	-36,00 \pm 11,51 (a*)
	<i>Luehea candicans</i>	0,00 \pm 2,24 (a)	-42,00 \pm 31,94 (b*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-2,00 \pm 6,12 (a)	-8,00 \pm 8,94 (a)
	<i>Qualea cordata</i>	-14,00 \pm 12,94 (a)	-8,00 \pm 8,22 (a)
V (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-12,75 \pm 8,08 (a)	-4,91 \pm 4,58 (a)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-18,35 \pm 10,32 (a*)	-19,76 \pm 6,28 (a*)
	<i>Luehea candicans</i>	1,41 \pm 8,44 (a)	-8,34 \pm 9,05 (a)
	<i>Miconia chamissois</i>	-18,78 \pm 3,72 (a*)	-3,71 \pm 4,26 (b)
	<i>Qualea cordata</i>	-32,26 \pm 9,46 (a*)	-9,02 \pm 7,47 (b)
U (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	29,76 \pm 12,84 (a)	-6,88 \pm 7,67 (b)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	14,79 \pm 17,24 (a)	16,92 \pm 18,96 (a)
	<i>Luehea candicans</i>	28,91 \pm 23,89 (a*)	-23,06 \pm 46,48 (a)
	<i>Miconia chamissois</i>	55,25 \pm 27,46 (a*)	32,41 \pm 12,37 (a)
	<i>Qualea cordata</i>	52,01 \pm 33,36 (a*)	4,53 \pm 26,18 (b)

G – germinabilidade; V – velocidade de germinação; U – sincronismo.* Diferença significativa entre o controle (água destilada) e o tratado; † Para a mesma espécie, médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente de acordo com o teste t ($\alpha = 0,05$).

Tabela 4. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *L. candicans*, *M. chamissois* e *Q. cordata* na germinação de sementes de pepino. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.

Parâmetros †	Extratos	Estação	
		Seca	Chuvosa
G (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-1,00 \pm 4,47 (a)	-3,00 \pm 4,47 (a)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-1,00 \pm 4,47 (a)	-4,00 \pm 4,18 (a)
	<i>Luehea candicans</i>	1,00 \pm 0,00 (a)	-7,00 \pm 8,94 (b*)
	<i>Miconia chamissois</i>	3,00 \pm 2,24 (a)	-2,00 \pm 2,74 (a)
	<i>Qualea cordata</i>	-5,00 \pm 5,00 (a*)	0,00 \pm 0,00 (b)
V (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-17,07 \pm 5,64 (a)	-30,12 \pm 5,19 (b*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-6,19 \pm 8,24 (a)	-23,17 \pm 8,70 (b*)
	<i>Luehea candicans</i>	-8,91 \pm 12,46 (a)	-26,06 \pm 9,32 (b*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-13,38 \pm 6,27 (a*)	-19,17 \pm 6,53 (a*)
	<i>Qualea cordata</i>	-18,23 \pm 6,54 (a*)	-10,75 \pm 5,57 (a*)
U (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	23,67 \pm 14,11 (a*)	68,01 \pm 32,37 (b*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	57,35 \pm 57,49 (a)	51,82 \pm 27,05 (a)
	<i>Luehea candicans</i>	63,67 \pm 49,27 (a)	60,44 \pm 21,70 (a*)
	<i>Miconia chamissois</i>	32,43 \pm 7,89 (a*)	24,51 \pm 3,86 (a)
	<i>Qualea cordata</i>	57,97 \pm 22,30 (a*)	17,58 \pm 17,30 (b)

G – germinabilidade; V – velocidade de germinação; U – sincronismo.* Diferença significativa entre o controle (água destilada) e o tratado; † Para a mesma espécie, médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente de acordo com o teste t ou teste de Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$).

Tabela 5. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *L. candicans*, *M. chamissois* and *Q. cordata* no crescimento inicial de plântulas de milho. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.

Parâmetros †	Extratos	Estação	
		Seca	Chuvosa
Comprimento da raiz primária (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-71,05 \pm 15,81 (a*)	-66,38 \pm 19,26 (a*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-51,73 \pm 12,76 (a*)	-11,97 \pm 17,22 (b*)
	<i>Luehea candicans</i>	78,33 \pm 39,36 (a*)	27,43 \pm 34,22 (b*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-62,49 \pm 19,87 (a*)	-14,02 \pm 37,36 (b*)
	<i>Qualea cordata</i>	-69,03 \pm 12,66 (a*)	-39,04 \pm 27,17 (b*)
Comprimento da parte aérea (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-19,38 \pm 19,41 (a*)	20,08 \pm 22,26 (b*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-2,02 \pm 24,39 (a)	11,67 \pm 17,57 (b*)
	<i>Luehea candicans</i>	52,16 \pm 47,20 (a*)	40,90 \pm 39,09 (a*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-22,04 \pm 20,03 (a*)	57,04 \pm 26,52 (b*)
	<i>Qualea cordata</i>	-29,13 \pm 18,21 (a*)	27,58 \pm 29,66 (b*)
Número de raízes secundárias (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-34,87 \pm 45,80 (a*)	-6,02 \pm 41,77 (b)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-11,18 \pm 25,95 (a)	7,55 \pm 23,85 (a)
	<i>Luehea candicans</i>	24,06 \pm 23,10 (a*)	18,80 \pm 19,15 (a*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-57,32 \pm 42,97 (a*)	19,55 \pm 19,64 (b*)
	<i>Qualea cordata</i>	-44,74 \pm 40,12 (a*)	9,77 \pm 32,08 (b)

* Diferença significativa entre o controle (água destilada) e o tratado; † Para a mesma espécie, médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente de acordo com o teste t ou teste de Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$).

Tabela 6. Efeito da sazonalidade na fitotoxicidade de extratos aquosos de folhas de *B. intermedia*, *G. polymorpha*, *L. candicans*, *M. chamissois* e *Q. cordata* no crescimento inicial de plântulas de pepino. Dados apresentados como porcentagem média de redução ou estímulo \pm desvio padrão.

Parâmetros †	Extratos	Estação	
		Seca	Chuvosa
Comprimento da raiz primária (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-93,06 \pm 2,46 (a*)	-94,35 \pm 3,45 (b*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-71,53 \pm 11,10 (a*)	-42,25 \pm 11,95 (b*)
	<i>Luehea candicans</i>	-57,51 \pm 12,45 (a*)	-63,15 \pm 8,00 (b*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-90,86 \pm 5,32 (a*)	-58,73 \pm 10,72 (b*)
	<i>Qualea cordata</i>	-93,20 \pm 3,11 (a*)	-93,44 \pm 2,95 (a*)
Comprimento da parte aérea (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-21,37 \pm 23,02 (a*)	-48,29 \pm 22,17 (b*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-21,13 \pm 25,39 (a*)	41,59 \pm 39,10 (b*)
	<i>Luehea candicans</i>	6,55 \pm 43,27 (a)	-5,06 \pm 34,47 (a)
	<i>Miconia chamissois</i>	-61,36 \pm 8,46 (a*)	-1,95 \pm 18,94 (b)
	<i>Qualea cordata</i>	-56,72 \pm 15,65 (a*)	-36,89 \pm 16,24 (b*)
Número de raízes secundárias (%)	<i>Byrsonima intermedia</i>	-71,31 \pm 14,40 (a*)	-65,94 \pm 17,93 (a*)
	<i>Gochnatia polymorpha</i>	-40,36 \pm 20,11 (a*)	-39,38 \pm 16,23 (a*)
	<i>Luehea candicans</i>	-33,83 \pm 16,28 (a*)	-41,09 \pm 13,55 (b*)
	<i>Miconia chamissois</i>	-84,27 \pm 15,43 (a*)	0,00 \pm 22,72 (b*)
	<i>Qualea cordata</i>	-77,05 \pm 13,11 (a*)	-79,27 \pm 17,85 (a*)

* Diferença significativa entre o controle (água destilada) e o tratado; † Para a mesma espécie, médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente de acordo com o teste t ($\alpha = 0,05$).

Tabela 7. Triagem fitoquímica de extratos aquosos de folhas de *Byrsonima intermedia* (EB); *Gochnatia polymorpha* (EG); *Luehea candicans* (EL); *Miconia chamissois* (EM) e *Qualea cordata* (EQ); correspondente à estação seca (ES) e estação chuvosa (EC).

Teste químico	EB		EG		EL		EM		EQ	
	ES	EC	ES	EC	ES	EC	ES	EC	ES	EC
Alcaloides*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas	+	-	++	+	-	-	+	++	-	+
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esteroides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Triterpenoides	++	+	++	+	+	++	++	+	+	++
Flavonoides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	-	++	+	+	++	++	+	-	++	+
Taninos	++	+	-	-	+	+	++	+	++	+

Chave: (-): Teste negativo; (+): Teste positivo fraco e (++): Teste positivo.*Testado por reagentes de Dragendorff, Hager e Mayer.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que:

1. As folhas das espécies de Cerrado estudadas (*Byrsonima intermedia*, *Gochnatia polymorpha*, *Luehea candicans*, *Miconia chamissois* e *Qualea cordata*) apresentam potencial fitotóxico;
2. O potencial fitotóxico das espécies de Cerrado foi influenciado pelo período de coleta das folhas (estação seca e estação chuvosa);
3. O potencial fitotóxico de *Byrsonima intermedia* sobre a germinação foi maior quando as folhas foram coletadas na estação chuvosa. O efeito observado pode estar relacionado com a presença de saponinas identificadas apenas na estação chuvosa. O potencial fitotóxico de *B. intermedia* sobre o crescimento inicial das espécies-alvo foi semelhante em ambas às estações. O efeito observado pode estar relacionado com a presença de triterpenoides e/ou taninos detectados em ambas às estações;
4. O extrato de folhas de *Gochnatia polymorpha* coletadas na estação seca causou maior inibição da raiz primária. O efeito observado pode estar relacionado com a maior quantidade de antraquinonas e/ou triterpenoides na estação seca. Estímulo da parte aérea foi observado no extrato de folhas coletadas na estação chuvosa. O efeito observado pode estar relacionado com a menor quantidade de antraquinonas e/ou triterpenoides na estação chuvosa;
5. O potencial fitotóxico de *Luehea candicans* foi maior quando as folhas foram coletadas na estação chuvosa. O efeito observado pode estar relacionado com o aumento de triterpenoides na estação chuvosa;
6. O potencial fitotóxico de *Miconia chamissois* foi maior quando as folhas foram coletadas na estação seca. O efeito observado pode estar relacionado com o aumento de triterpenoides e/ou taninos na estação seca, intensificado pela presença de saponinas (que podem ser de origem triterpênicas) identificadas apenas nesta estação;
7. O potencial fitotóxico de *Qualea cordata* foi maior quando as folhas foram coletadas na estação seca. O efeito observado pode estar relacionado com o

aumento de saponinas (que podem ser de origem triterpênicas) e/ou taninos na estação seca. O estímulo da parte aérea de milho foi observado na estação chuvosa, este efeito pode estar relacionado com a menor quantidade de saponinas (que podem ser de origem triterpênicas) e/ou taninos ou com a maior quantidade de triterpenoides nesta estação ou ainda com a presença de antraquinonas detectadas apenas na estação chuvosa.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. L.; OLIVEIRA, P. V. A.; FRANÇA, S. C.; ALVES, P. L. C.; PEREIRA, P. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 328-336, 2011.

ÁRVORES DE SÃO PAULO. Disponível em: <<http://arvoresdesaopaulo.files.wordpress.com/2011/07/pico-do-jaraguc3a1-e-seus-campos-cerrados-murici-do-campo-byrsonima-intermedia-foto-de-ricardo-cardim-direitos-reservados.jpg>>. Acesso em 23 de outubro 2014.

AVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. Frutos do Cerrado: preservação gera muitos frutos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 15, p. 36-41, 2000.

BALLESTER, A.; VIEITEZ, A.; VIEITEZ, E. Allelopathic potential of *Erica vagans*, *Calluna vulgaris*, and *Daboecia cantabrica*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 8, n. 5, p. 851-857, 1982.

BARROS, M. T. P.; NASSER, E. F.; CANDIDO, T. F.; FERREIRA, W. A.; PAULA, A. C. C. F. F. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas de *Miconia ligustroides* e *Miconia chamissois* (Melastomataceae). In: I SIMPÓSIO DE PESQUISA E V SEMIC – SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIFENAS, 2006.

CARVALHO, P. E. R. Açoita-Cavalo (*Luehea divaricata*). In: COLOMBO: EMBRAPA-CNPQ, CIRCULAR TÉCNICA, 28, 2008. p. 01-09.

CUNHA, A. S.; BORTOLOTTI, I. M. Etnobotânica de plantas medicinais no assentamento Monjolinho, município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 3, p. 685-698, 2011.

DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L.; INDERJIT. Allelopathy: one component in a multifaceted approach to ecology. In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; CHESTER, L.; FARIAS, A. C.; SILVA, A. J. R.; TOMASSINI, T. C. B. Constituents of *Mochinea polymorpha*. **Journal of Natural Products**, v. 47, p. 363–364, 1984.

FOY, C. L. **Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. 1. ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 1999. p. 03-14.

DAYAN, F.; CANTRELL, C.; DUKE, S. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4022-4034, 2009.

DAYAN, F.; DUKE, S. O. Clues in the search for new herbicides. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Springer, 2006. p. 63-83.

DAYAN, F.; ROMAGNI, J.; DUKE, S. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2079-2094, 2000.

DURIGAN, G.; BAITELLO, J. B.; FRANCO, G. A. D. C.; SIQUEIRA, M. F. **Plantas do Cerrado Paulista**: Imagens de uma paisagem ameaçada. São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica, 2004. 475p.

EINHELLIG, F. A. Allelopathy: current status and future goals. In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; EINHELLIG, F. A. (Eds.) **Allelopathy**: organisms, processes and applications. Washington: American Chemical Society, 1995. p. 01-25.

FLORA digital. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php>. Acesso em 23 de outubro 2014.

FLORA DO CERRADO: Coleção *Byrsonima intermedia*. Disponível em: <<https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/sets/72157632287684793/>>. Acesso em: 23 de outubro 2014.

FLORA DE MISIONES. Disponível em: <<http://florademisiones.blogspot.com.br/2012/08/qualea-cordata-mart-spreng.html>>. Acesso em 23 de outubro 2014.

FRIEDMAN, J. Allelopathy, autotoxicity, and germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 629-644.

FUJII, Y.; PARVEZ, S. S.; PARVEZ, M. M.; OHMAE, Y.; IIDA, O. Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. **Weed Biology and Management**, v. 3, p. 233-241, 2003.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A.; FERREIRA, A. G. Avaliação da atividade alelopática de extratos aquosos de folhas de espécies de cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 174-176, 2007.

GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. **Recent Advances in Phytochemistry**, v. 18, p. 273-320, 1984.

GNIASZDOWSKA, A.; BOGATEK, R. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. **Acta Physiologia Plantarum**, v. 27, n. 3B, p. 395-407, 2005.

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

HORNER, J.D. Nonlinear effects of water deficits on foliar tannin concentration. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 18, p. 211-213, 1990.

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

JUNG, S. Variation in antioxidant of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. **Plant Science**, v. 166, p. 459-466, 2004.

KEW ROYAL BOTANIC GARDENS: Neotropical Plants image database. Disponível em: http://www.kew.org/science/tropamerica/imagedatabase/large680/cat_single680-68.htm>. Acesso em 23 de outubro 2014a.

KEW ROYAL BOTANIC GARDENS: Neotropical Plants image database. Disponível em: http://www.kew.org/science/tropamerica/imagedatabase/large738/cat_single738-5.htm>. Acesso em 23 de outubro 2014b.

MOREIRA, A. S.; SPITZER, V.; SCHAPOVAL, E. E. S.; SCHENKEL, E. P. Antiinflammatory activity of extracts and fractions from the leaves of *Gochnatia polymorpha*. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 638–640, 2000.

MOREIRA, L. Q.; VILELA, F. C.; ORLANDI, L.; DIAS, D. F.; SANTOS, A. L. A.; SILVA, M. A.; PAIVA, R.; ALVES-DA-SILVA, G.; GIUSTI-PAIVA, A. Anti-inflammatory effect of extract and fractions from the leaves of *Byrsonima intermedia* A. Juss. in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 610–615, 2011.

MURPHY, S. Field testing for pollen allelopathy: a review. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2155-2172, 2000.

NEGRELLE, R. R. B. *Qualea* Aubl. from Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum**, v. 33, n. 3, p. 347-355, 2011.

NETO, F. C.; SIQUITELLI, C. D.; PILON, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; CASTRO-GAMBOA, I. Dereplication of phenolic derivatives of *Qualea grandiflora* and *Qualea cordata* (Vochysiaceae) using liquid chromatography coupled with ESI-QToF-MS/MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 758-764, 2013.

NOGUSHI, H.; TANAKA, Y. Allelopathic potential of *Citrus junos* fruit waste from food processing industry. **Bioresource Technology**, v. 94, p. 211-214, 2004.

NOOR, M.; SALAM, U.; KHAM, M. Allelopathic effects of *Prosopis juliflora* Swartz. **Journal of Arid Environments**, v. 94, p. 83-90, 1995.

LARA-NUÑEZ, A. L.; ROMERO-ROMERO, T.; VENTURA, J. L.; BLANCAS, V.; ANAYA, A. L.; CRUZ-ORTEGA, R. Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, n. 11, p. 2009-2016, 2006.

OLIVEIRA, S.; CAMPOS, M. Allelopathy of *Solanum palinacanthum* leaves on germination and seedling growth of *Sesamum indicum*. **Allelopathy Journal**, v. 18, n. 2, p. 331-338, 2006.

OLIVEIRA, S. C.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Effect of *Solanum lycocarpum* fruit extract on sesame seed germination and seedling growth. **Allelopathy Journal**, v. 13, n. 2, p. 201-210, 2004.

OLIVEIRA, S. C. C. 2009. **Estudo allopático de espécies do gênero *Solanum* do Distrito Federal**. 2009. 180 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

PAGOTTO, T. C. S.; CAMILOTTI, D. C.; LONGO, J. M.; SOUZA, P. R. Bioma Cerrado e área estudada. In: PAGOTTO, T.C.P.; SOUZA, P.R. **Biodiversidade do Complexo Aporé-Sucuriú – Subsídios à conservação e manejo do bioma Cerrado**. Ed. UFMS, Campo Grande, 2006. p. 18-30.

PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425-430, 2004.

SÁNCHEZ, D. C. 2002. **Optimización de bioensayos alelopáticos**: aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. 2002. 525 p. Tese (Doutorado em Ciências Químicas) - Universidad de Cádiz, Porto Real, 2002.

SALGADO, P. C.; COSTA, M. F.; MASSOCATTO, A. M.; LAVERDE JR, A.; FREI, F.; KOLB, R. M.; SANTOS, C. Avaliação do potencial citotóxico, moluscicida e alelopático dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, p. 197-202, 2013.

SANNOMIYA, M.; CARDOSO, C. R. P.; FIGUEIREDO, M. E.; RODRIGUES, C. M.; SANTOS, L. C.; SANTOS, F. V.; SERPELONI, J. M.; CÓLUS, I. M., VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermedia* A. Juss. Leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 319–326, 2007.

SANTOS, R. C.; KUSHIMA, H.; RODRIGUES, C. M.; SANNOMIYA, M.; ROCHA, L. R. M.; BAUAB, T. M.; TAMASHIRO, J.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Byrsonima intermedia* A. Juss.: Gastric and duodenal anti-ulcer, antimicrobial and antidiarrheal effects in experimental rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, p. 203-212, 2012a.

SANTOS, F. M.; SOUZA, M. G.; CROTTI, A. E. M.; MARTINS, C. H. G.; AMBRÓSIO, S. R.; VENEZIANI, R. C. S.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae), isolated compounds and semi-synthetic derivatives against endodontic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 793-799, 2012b.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. cap. 16, p. 410-411.

SILVA, D. A.; ALVES, V. G.; FRANCO, D. M. M.; RIBEIRO, L. C.; SOUZA, M. C.; KATO, L.; CARVALHO, J. E.; KOHN, L. K.; DE OLIVEIRA, C. M.; DA SILVA, C. C. Antiproliferative activity of *Luehea candicans* Mart. et Zucc. (Tiliaceae). **Natural Product Research**, v. 26, p. 364-369, 2012.

SILVA, E. M.; AQUILA, M. E. A. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. **Revista Árvore**, v. 30, n. 4, p. 547-555, 2006.

SILVA, E. R.; OVERBECK, G. E.; SOARES, G. L. G. Phytotoxicity of volatiles from fresh and dry leaves of two Asteraceae shrubs: Evaluation of seasonal effects. **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 14-18, 2014.

SILVESTRE, D. M.; KOLB, R. M.; FREI, F.; SANTOS, C. Phytotoxicity of organic extracts of *Turnera ulmifolia* L. and *Turnera diffusa* Willd.ex Schult. in cucumber seeds. **Acta Botanica Brasílica**, v. 27, n. 3, p. 476-482, 2013.

SMITH, B.; PAWLAK, J.; MURRAY, D.; VERHALEN, L.; GREEN, J. Interference from established stands of silverleaf nightshade (*Solanum elaeagnifolium*) on cotton (*Gossypium hirsutum*) Lint Yield. **Weed Science**, v. 38, p. 129-133, 1990.

STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI, A.; SIMIONATTO, E. L. Óleo essencial de *Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr. ssp *floccosa* Cabr. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 999-1002, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sinauer Associates, Sunderland, 2008.
TEFERA, T. Allelopathic effects of *Parthenium hysterophorus* extracts on seed germination and seedling growth of *Eragrostis tef*. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 188, n. 5, p. 306-310, 2002.

TSANUO, K.; HASSANALI, A.; HOOPER, A.; KHAN, Z.; KABERIA, F.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. Isoflavanones from the allelopathic aqueous root exudate of *Desmodium uncinatum*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 265-273, 2003.

VILES, A.; REESE, R. Allelopathic potential of *Echinaceae angustifolia* D. C. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 1, p. 39-43, 1996.

WEIDENHAMER, J.; HARTNETT, D.; ROMERO, J. Density-dependent phytotoxicity: distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants. **Journal of Applied Ecology**, v. 26, p. 613-624, 1989.

WILLIS, R. **The history of allelopathy**. Springer, The Netherlands, 2007. 316p.

APÊNDICE

Normas para preparação do manuscrito (Botany, ISSN electronic): 1916-2804

Format and organization of text

The manuscript should be double spaced on 21.5 × 28 cm (8.5 × 11 in.) or ISO A4 paper. Each page and line should be numbered, beginning with the title page. For material that is to be set in italics, use an italic font; do not underline. Use capital letters only when the letters or words should appear in capitals.

All manuscripts should contain a title page (p. 1), an abstract (p. 2), followed by the body of the paper, an Acknowledgements section, plus references, tables, figure captions, and appendices, in that order. (See descriptions of particular manuscript parts, below.) Tables and figure captions should be on separate pages.

Primary headings (set in bold font) indicate the major sections of the paper (Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References). Secondary headings (set in italic font) indicate major divisions within a primary section. Tertiary headings (underlined) indicate divisions within a secondary heading.

Presenting a manuscript to maximize its online discoverability

Authors can structure their manuscript to maximize its online discoverability by following a few simple guidelines. Because the Title and Abstract are freely available to all readers and because most search engines give extra weight to keyword phrases in headings and to repeated phrases, wording of the Title and Abstract is especially important to increase the chance your paper will be highlighted. Consider the instructions below when writing your Title and Abstract; include key phrases you feel a reader would use when conducting a literature search in the subject area of your paper.

Title

Titles not only provide information for alerting and information retrieval services, they are also the most heavily weighted element of a paper for online search engines. Therefore titles should contain important descriptive phrases that

relate to the topic, stating information such as the experimental organism used, specific behaviour, modifying agent, and key result or concept. Titles should be brief and clear. Common names and correct taxonomic names should be included if the organism is not well known, as in the example “The cuticle of tephritid fruit flies (*Urophora* spp.)”. In the title, the names of organisms should be either in the vernacular or in Latin without their authority names.

Title page

The title page should contain the following. (i) The full title of the paper. (ii) Authors listed in the order in which they are to appear at the head of the printed article. (iii) Affiliation and address (including e-mail address) for each author. This should reflect the affiliation and address at the time of the study. Indicate in a footnote current affiliations and addresses (including e-mail addresses) that differ from those in the by-line. (iv) Name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author responsible for correspondence.

Abstract

An abstract is required for every contribution. Its content is particularly important for alerting retrieval services, search engines, and for readers, who scan the abstract to decide whether to download and read the rest of the paper. The abstract should be well written and contain three to four descriptive keyword phrases that will draw the reader to the content. Because search engines look for duplication of terms, repeating keyword phrases in the title and abstract increases the chance that a paper will be highlighted during an online search; care should be taken, however, because excessive repetition of a term can cause a search engine to reject a Web page.

It should not be more than 200 words and should appear on a separate page. Authors able to submit abstracts in both fluent English and French are encouraged to do so. Abstracts submitted in one language will be translated into the other official language by the journal translator. References should not be cited in the abstract unless they are absolutely essential, in which case full bibliographic information must be provided. Between three and six key words should be provided and placed directly below the abstract.

Text

The text should be written and arranged to ensure that the observations reported may be reproduced and (or) evaluated by readers. Sources of biological materials, experimental methods, geographical locations, and statistical methods (see the section Statistical analyses) should be described. Precise locations of rare and endangered organisms should not be divulged. Sources of commercially available laboratory or field equipment and fine chemicals should be indicated in parentheses; list the company name, city, and country. Material taken from research theses must be thoroughly edited for brevity and must conform to these Instructions to Authors.

In the text, authors are encouraged to include uniform resource locators (URLs) and digital object identifiers (DOIs) to enable readers to find material on the World Wide Web. URLs and DOIs for references cited should be placed after the reference in the reference list; other URLs and DOIs should be placed in context in the text.

Footnotes

Footnotes to material in the text should not be used unless they are unavoidable, but their use is encouraged in tables. Where used in the text, footnotes should be cited in the manuscript by superscript Arabic numbers (except in the tables, see below) and should be numbered serially beginning with any that appear on the title page. Each footnote should be typed on the manuscript page upon which the reference is made; footnotes should not be included in the list of references.

Equations

Equations should be clearly typed; triple-spacing should be used if superscripts and (or) subscripts are involved. Superscripts and subscripts should be legible and carefully placed. Distinguish between lowercase *l* and the numeral one, and between capital *O* and the numeral zero. A letter or symbol should represent only one entity and be used consistently throughout the paper. Each variable must be defined in the text or in a List of symbols to appear after the reference list. Variables representing vectors, matrices, vector matrices, and tensors must be clearly identified. Numbers identifying equations must be in parentheses and placed flush

with the left margin. In numbering, no distinction is made between mathematical and chemical equations.

References

The author is responsible for verifying each reference against the original article. Each reference must be cited in the text using the surnames of the authors and the year, for example, (Walpole 1985) or Green and Brown (1990). Depending on the sentence construction, the names may or may not be in parentheses, but the year always is. If there are three or more authors, the citation should give the name of the first author followed by et al. (e.g., Green et al. 1991). If references occur that are not uniquely identified by the authors' names and year, use a, b, c, etc., after the year, for example, Green 1983a, 1983b; Green and Brown 1988a, 1988b, for the text citation and in the reference list. In the text, groups of references should be ordered chronologically and then alphabetically for those published in the same year.

Private communications and papers submitted but not yet accepted are not included in the reference list but instead should be included as footnotes or in parentheses in the text, giving all authors' names with initials; for a private communication, year of communication should also be given (e.g., J.S. Jones (personal communication, 1999)). If an unpublished book or article has been accepted for publication, include it in the reference list followed by the notation *In press*. References to nonrefereed documents (e.g., environmental impact statements, contract reports) must include the address where they can be obtained.

The reference list must be double-spaced and placed at the end of the text. References must be listed in alphabetical order according to the name of the first author and not numbered. References with the same first author are listed in the following order. (i) Papers with one author only are listed first in chronological order, beginning with the earliest paper. (ii) Papers with dual authorship follow and are listed in alphabetical order by the last name of the second author. (iii) Papers with three or more authors appear after the dual-authored papers and are arranged chronologically.

References should follow the form used in current issues of the Journal. The names of serials are abbreviated in the form given in Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI) (Chemical Abstracts Service, 2540 Olentangy River Road,

P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012, USA) . In doubtful cases, authors should write the name of the serial in full.

The Journal encourages the inclusion of issue numbers, which should be placed in parentheses after the volume number. Uniform resource locators (URLs) or digital object identifiers (DOIs) are useful in locating references on the World Wide Web, and authors are encouraged to include these; they should be added to the reference in the reference list. Online-only citations are indicated as such by including "[online]" after the title. The following bibliographic citations illustrate the punctuation, style, and abbreviations for references.

Examples of references types, including electronic references

Journal article with DOI:

Ritland, K., Meagher, L.D., Edwards, D.G.W., and El-Kassaby, Y.A. 2005. Isozyme variation and the conservation genetics of Garry oak. *Can. J. Bot.* 83(11): 1478–1487. doi:10.1139/b05-114.

Journal article with URL:

Newbury, M.G., and Ashworth, A.C. 2004. A fossil record of colonization and response of lacustrine fish populations to climate change. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61(10): 1807–1816. Available from http://pubs.nrc-cnrc.gc.ca/cgi-bin/rp/rp2_abst_e?cjfas_f04-113_61_ns_nf [accessed 28 October 2005].

Journal article available online only (with DOI):

van der Sanden, J.J., and Hoekman, D.H. 2005. Review of relationships between grey-tone co-occurrence, semivariance, and autocorrelation based image texture analysis approaches [online]. *Can. J. Remote Sens.* 31(3): 207–213. doi:10.1139/rs03-011.

Entire issue of journal:

Gordon, D.C., Jr., and Hourston, A.S. (Editors). 1983. Proceedings of the Symposium on the Dynamics of Turbid Coastal Environments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40(Suppl. 1).

Report:

Sanders, W.W., Jr., and Elleby, H.A. 1970. Distribution of wheel loads in highway bridges. National Cooperative Highway Research Program Report 83, Transportation Research Board, National Research Council, Washington, D.C.

Book:

Parsons, T.R., Maita, Y., and Lalli, C.M. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Toronto.

Book in a series:

Scott, W.B., and Crossman, E.J. 1973. Freshwater fishes of Canada. Bull. Fish. Res. Board Can. No. 184.

Part of book:

Simonet, P., Normand, P., Hirsch, A.M., and Akkermans, A.D.L. 1990. The genetics of Frankia–actinorhizal symbiosis. In Molecular biology of symbiotic nitrogen fixation. Edited by P.M. Gresshoff. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla. pp. 77–109.

Paper in conference proceedings:

Taylor, I.E.P., and Wallace, J.C. 1989. The structural association between cellulose and xyloglucan in the primary cell wall of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). In Cellulose and wood: chemistry and technology. Proceedings of the 10th Cellulose Conference, Syracuse, N.Y., 29 May – 2 June 1988. Edited by C. Schuerch. John Wiley & Sons, New York. pp. 273–282.

Institutional publications and pamphlets:

Dzikowski, P.A., Kirby, G., Read, G., and Richards, W.G. 1984. The climate for agriculture in Atlantic Canada. Available from the Atlantic Advisory Committee on Agrometeorology, Halifax, N.S. Publ. ACA 84-2-500. Agdex No. 070.

Corporate author:

American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation. 1975. Standard methods for the examination of water and wastewater. 14th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation, Washington, D.C.

Thesis:

Keller, C.P. 1987. The role of polysaccharidases in acid wall loosening of epidermal tissue from young *Phaseolus vulgaris* L. hypocotyls. M.Sc. thesis, Department of Botany, The University of British Columbia, Vancouver, B.C.

Web site citation:

Quinion, M.B. 1998. Citing online sources: advice on online citation formats [online]. Available from <http://www.worldwidewords.org/articles/citation.htm> [accessed 20 October 2005].

Translation:

Koike, A., and Ogura, B. 1977. Selectivity of meshes and entrances of shrimp traps and crab traps. *J. Tokyo Univ. Fish.* 64: 1–11. [Translated from Japanese by *Can. Transl. Fish. Aquat. Sci.* 4950, 1983.]

Tables

Tables must on separate pages, placed after the list of references, and numbered with Arabic numerals in the order cited in the text. The title of the table should be a concise description of the content, no longer than one sentence, that allows the table to be understood without detailed reference to the text. Column headings should be brief, but may be amplified by footnotes. Vertical rules should not be used. Use the table function from the drop-down menu in your word processing program to create your table. A copy of the Journal should be consulted to see how tables are set up and where the lines in them are placed. Footnotes in tables should be designated by symbols (in the order *, †, ‡, §, ||, ¶, #) or superscript lowercase italic letters. Descriptive material not designated by a footnote may be placed under a table as a Note. Numerous small tables should be avoided, and the number of tables should be kept to a minimum.

Appendices

An appendix should be able to stand alone, as a separate, self-contained document. Figures and tables used in an appendix should be numbered sequentially but separately from those used in the main body of the paper, for example, Fig. A1,

Table A1, etc. If references are cited in an appendix, they must be listed in an appendix reference list, separate from the reference list for the article.

Supplementary material

Supplementary material (or data) consists of extra tables, figures (maps), detailed calculations, and data sets produced by the authors as part of their research, but not essential for understanding or evaluating the paper, and not published with the article in the print edition of the journal. This material is never edited, converted, or scanned, and therefore will appear exactly as submitted. This is to prevent any errors from being inadvertently introduced during file manipulation or printing. Tables and figures should be numbered in sequence separate from those published with the paper (e.g., Fig. S1, Table S1), and all supplementary material should be referred to in the manuscript by footnotes.

Supplementary material must be submitted with the article, in electronic format. During Web submission (ScholarOne), relevant files should be attached under "Supplementary data". The electronic copy will be made available in its native file format on the Journal Web site at no cost to readers.