

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**



**VERIFICAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS
BIOENSAIOS COM EXTRATOS AQUOSOS NO
DIAGNÓSTICO DE POTENCIAL ALELOPÁTICO:
CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE ESPÉCIES
NATIVAS BRASILEIRAS.**

FABIANA MARASCHIN DA SILVA

Porto Alegre

2004

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**VERIFICAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS
BIOENSAIOS COM EXTRATOS AQUOSOS NO
DIAGNÓSTICO DE POTENCIAL ALELOPÁTICO:
CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE ESPÉCIES
NATIVAS BRASILEIRAS.**

FABIANA MARASCHIN DA SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Botânica.

Orientadora: Dra. Maria Estefânia Alves Aqüila

Porto Alegre

2004



AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a Maria Estefânia Alves Aquila, por ter me recebido tão bem como aluna, pela dedicação e amizade, no decorrer do curso, e pelas sábias palavras nos momentos de incertezas.

À colega Kelly, pela amizade, pelos ensinamentos práticos e por me mostrar os caminhos dentro do Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Aos professores e demais colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pelo convívio, esclarecimentos e pelas conversas descontraídas.

Às amigas Raquel e Márcia, pela amizade, apoio e companheirismo nas aulas e saídas a campo, e, sobretudo, pelas longas conversas e risadas durante esses dois anos de convívio.

Aos demais amigos que conheci durante curso de mestrado.

Ao Departamento de Botânica da UFRGS, pelo espaço e equipamentos cedidos para o desenvolvimento deste projeto.

A CAPES, pelo financiamento.

Ao Adriano, pelo amor, carinho, amizade e incentivo desde o início da minha vida dentro da botânica, além do companheirismo e paciência dispensados nos momentos mais árduos e angustiantes e, também, por me mostrar que as coisas são mais simples do que parecem.

À minha querida irmã Gabi, por ser sempre minha melhor amiga e companheira, por sua presença e seu carinho.

Ao meu maninho Gabi, por mostrar como a vida pode ser mais alegre nas pequenas coisas e descobertas do dia-a-dia.

Aos meus amados pais, Newton e Florinda, por estarem sempre comigo, pelo amor, dedicação, força, suporte e amparo em todos os momentos da minha vida, além de serem os melhores exemplos que eu poderia ter.



RESUMO

A alelopatia é um mecanismo de interação bioquímica entre vegetais, considerada uma forma de adaptação química defensiva das plantas, além de ser um fator de estresse ambiental para muitos vegetais. Neste fenômeno, biomoléculas produzidas por uma planta são liberadas para o meio ambiente e influenciam no crescimento e desenvolvimento de plantas vizinhas, sendo um mecanismo ecológico importante em ecossistemas naturais e manejados. Estudos laboratoriais recebem diversas críticas, pois muitas vezes não refletem as condições naturais na qual a alelopatia ocorre. Assim, o objetivo deste estudo é analisar os extratos aquosos e os bioensaios de laboratório quanto ao seu poder em demonstrar o potencial alelopático das plantas. Bioensaios de germinação e crescimento inicial foram realizados em placas de Petri, utilizando-se *Lactuca sativa* como planta alvo. Os aquênios e plântulas foram tratados com extratos aquosos de folhas de 15 espécies nativas, nas concentrações 2 e 4% (p/v), obtidos pelo método de maceração estática com água quente e fria. Como controle, utilizou-se água destilada. A determinação do pH, do potencial osmótico e do rendimento dos extratos foi realizada, a fim de excluir efeitos não alelopáticos. Para as espécies teste, foram feitas reações de detecção para taninos, saponinas e flavonóides, apontando a presença destes possíveis aleloquímicos. Os bioensaios realizados com as 15 espécies teste mostraram efeitos variados que podem ter sido causados por aleloquímicos, sendo os efeitos dos extratos quentes geralmente mais acentuados. Foram observadas alterações na curva de germinação da alface, aumentos no tempo médio e na entropia de germinação, além de reduções na velocidade média de germinação dos aquênios. No crescimento da alface, alguns extratos causaram reduções e/ou promoções no tamanho da radícula e/ou do hipocótilo. Além disso, alguns extratos de certas espécies não causaram nenhum efeito sobre a germinação e crescimento da alface. Portanto, pode-se considerar que esses bioensaios são válidos para demonstrar os efeitos que possíveis aleloquímicos de extratos vegetais possam exercer. Experimentos a campo são essenciais para confirmar se o potencial alelopático das 15 espécies se expressa em condições naturais, já que a maioria não apresenta indícios de alelopatia.

Palavras-chave: alelopatia, extratos aquosos, bioensaios, germinação, crescimento, espécies nativas brasileiras.

**ABSTRACT**

Allelopathy is a biochemical interaction mechanism among vegetables, considered a way of defensive chemical adaptation of plants, besides being a factor of environmental stress for many plants. In this phenomenon, biomolecules produced by a plant are released in the environment and influence the growth and development of neighbour plants, being an important ecological mechanism in natural and managed ecosystems. Laboratorial studies receive many criticism, because many times they don't reflect the natural conditions in which allelopathy occurs. Therefore, the objective of this study is to analyse the aqueous extracts and the laboratory bioassays as for their power to demonstrate plant allelopathic potential. Germination and inicial growth bioassays were performed in Petri dishes, using *Lactuca sativa* as target plant. The achenes and seedlings were treated with aqueous extracts of leaves of 15 native species, at concentrations of 2 and 4% (w/v), obtained by static maceration with hot and cold water. As control, it was used distilled water. The pH, osmotic potential and yield of the extracts were verified, in order to exclude non allelopathic effects. For the test species, detection reactions for tannins, saponins and flavonoids were performed, pointing to the presence of these possible alelochemicals. The bioassays performed with the 15 test species showed varied effects that can be caused by allelochemicals, being the hot extracts effects more accentuated. Alterations on the lettuce germination curve and increases on the average time and entropy of germination were observed, besides reductions on the average speed of achenes germination. On lettuce growth, some extracts caused reductions and/or promotions on radicle and/or hypocotil size. Besides this, some extracts of certain species didn't caused any effects on lettuce germination and growth. Thus, it can be considered that these bioassays are valid to demonstrate the effects that possible allelochemicals of plant extracts may exert. Field experiments are essential to confirm if the allelopathic potential of the 15 species is expressed under natural conditions, since most of them don't show allelopathy signals.

Key-words: allelopathy, aqueous extracts, bioassays, germination, growth, brazilian native species.



RELAÇÃO DE FIGURAS

FIGURA 1. A) Curva, esperada ou teórica, de ação de um aleloquímico, conforme sua concentração. B) Curva em “serra/dente” que pode ser encontrada em muitos processos alelopáticos. (REIGOSA <i>et al.</i> , 1999 - Adaptado).	9
FIGURA 2. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>C. canjerana</i>	34
FIGURA 3. Influência dos extratos de <i>C. canjerana</i> no crescimento inicial de alface.	34
FIGURA 4. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>C. pachystachya</i>	36
FIGURA 5. Influência dos extratos de <i>C. pachystachya</i> no crescimento inicial de alface.	36
FIGURA 6. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>D. viscosa</i>	38
FIGURA 7. Influência dos extratos de <i>D. viscosa</i> no crescimento inicial de alface.	38
FIGURA 8. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>E. contortisiliquum</i>	40
FIGURA 9. Influência dos extratos de <i>E. contortisiliquum</i> no crescimento inicial de alface.	40
FIGURA 10. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>E. argentinum</i>	42
FIGURA 11. Influência dos extratos de <i>E. argentinum</i> no crescimento inicial de alface.	42
FIGURA 12. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>L. divaricata</i>	44
FIGURA 13. Influência dos extratos de <i>L. divaricata</i> no crescimento inicial de alface.	44
FIGURA 14. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>M. guianensis</i>	46
FIGURA 15. Influência dos extratos de <i>M. guianensis</i> no crescimento inicial de alface.	46
FIGURA 16. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>O. puberula</i>	48
FIGURA 17. Influência dos extratos de <i>O. puberula</i> no crescimento inicial de alface.	48
FIGURA 18. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>P. dubium</i>	50
FIGURA 19. Influência dos extratos de <i>P. dubium</i> no crescimento inicial de alface.	50
FIGURA 20. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>P. leiocarpa</i>	52
FIGURA 21. Influência dos extratos de <i>P. leiocarpa</i> no crescimento inicial de alface.	52
FIGURA 22. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>R. brasiliensis</i>	54
FIGURA 23. Influência dos extratos de <i>R. brasiliensis</i> no crescimento inicial de alface.	54
FIGURA 24. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>S. glandulatum</i>	56
FIGURA 25. Influência dos extratos de <i>S. glandulatum</i> no crescimento inicial de alface.	56
FIGURA 26. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>S. molle</i>	58
FIGURA 27. Influência dos extratos de <i>S. molle</i> no crescimento inicial de alface.	58
FIGURA 28. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>S. bonplandii</i>	60
FIGURA 29. Influência dos extratos de <i>S. bonplandii</i> no crescimento inicial de alface.	60
FIGURA 30. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de <i>T. micrantha</i>	62
FIGURA 31. Influência dos extratos de <i>T. micrantha</i> no crescimento inicial de alface.	62

 **RELAÇÃO DE TABELAS**

TABELA 1. Relação das espécies usadas para verificação do potencial alelopático.	19
TABELA 2. Características físico-químicas dos extratos aquosos.	30
TABELA 3. Reações para detecção de possíveis aleloquímicos.	32
TABELA 4. Efeito dos extratos de <i>C. canjerana</i> nos parâmetros de germinação de alface.	34
TABELA 5. Efeito dos extratos de <i>C. pachystachya</i> nos parâmetros de germinação de alface.	36
TABELA 6. Efeito dos extratos de <i>D. viscosa</i> nos parâmetros de germinação de alface.	38
TABELA 7. Efeito dos extratos de <i>E. contortisiliquum</i> nos parâmetros de germinação de alface. ...	40
TABELA 8. Efeito dos extratos de <i>E. argentinum</i> nos parâmetros de germinação de alface.	42
TABELA 9. Efeito dos extratos de <i>L. divaricata</i> nos parâmetros de germinação de alface.	44
TABELA 10. Efeito dos extratos de <i>M. guianensis</i> nos parâmetros de germinação de alface.	46
TABELA 11. Efeito dos extratos de <i>O. puberula</i> nos parâmetros de germinação de alface.	48
TABELA 12. Efeito dos extratos de <i>P. dubium</i> nos parâmetros de germinação de alface.	50
TABELA 13. Efeito dos extratos de <i>P. leiocarpa</i> nos parâmetros de germinação de alface.	52
TABELA 14. Efeito dos extratos de <i>R. brasiliensis</i> nos parâmetros de germinação de alface.	54
TABELA 15. Efeito dos extratos de <i>S. glandulatum</i> nos parâmetros de germinação de alface.	56
TABELA 16. Efeito dos extratos de <i>S. molle</i> nos parâmetros de germinação de alface.	58
TABELA 17. Efeito dos extratos de <i>S. bonplandii</i> nos parâmetros de germinação de alface.	60
TABELA 18. Efeito dos extratos de <i>T. micrantha</i> nos parâmetros de germinação de alface.	62



SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	18
MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
Material vegetal	19
Características das plantas testadas.....	20
Preparo do material vegetal.....	24
Extratos aquosos.....	24
Caracterização físico-química dos extratos	25
Reações de detecção de saponinas, taninos e flavonóides	25
Bioensaios de germinação	26
Avaliação da viabilidade dos aquênios não germinados no bioensaio.....	26
Parâmetros de germinação avaliados	27
Bioensaios de crescimento	27
Delineamento experimental e análise estatística	28
RESULTADOS	29
Caracterização físico-química dos extratos.....	29
Reações de detecção de saponinas, taninos e flavonóides	32
Bioensaios de germinação e crescimento.....	33
<i>Cabralea canjerana</i>	33
<i>Cecropia pachystachya</i>	35
<i>Dodonaea viscosa</i>	37
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	39
<i>Erythroxylum argentinum</i>	41
<i>Luehea divaricata</i>	43
<i>Myrsine guianensis</i>	45
<i>Ocotea puberula</i>	47
<i>Peltophorum dubium</i>	49
<i>Psychotria leiocarpa</i>	51
<i>Roupala brasiliensis</i>	53
<i>Sapium glandulatum</i>	55
<i>Schinus molle</i>	57
<i>Sorocea bonplandii</i>	59

<i>Trema micrantha</i>	61
DISCUSSÃO	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75



INTRODUÇÃO

As plantas apresentam uma grande vantagem em relação aos animais: a capacidade de converter energia luminosa em energia química. Entretanto, a vantagem da autotrofia tem a contrapartida do hábito estático em ambientes geralmente hostis. Nestes ambientes, diversos fatores bióticos e abióticos, tais como patógenos, herbívoros, plantas competidoras, temperaturas extremas, seca, luz ultravioleta, etc., exercem pressões seletivas que resultam numa impressionante variedade de adaptações e interações.

A sobrevivência dos vegetais até os dias de hoje se deve, portanto, a diversos mecanismos de defesa originados em função dos estresses ambientais. A primeira linha de defesa é a superfície da planta, que, segundo LOVETT (1985), apesar de ser bastante resistente, pode sofrer danos de diferentes naturezas, tais como a poluição, a abrasão e a herbivoria. A defesa mecânica contra esses ‘estragos’ se dá através de adaptações morfológicas e anatômicas. A presença de ceras epicuticulares em camadas espessas pode, além de evitar a perda d’água, dificultar o ataque de herbívoros e patógenos. Pêlos e espinhos também são outros exemplos de defesa mecânica (LOVETT, 1985; NULTSCH, 2000).

Embora as barreiras morfológicas e físicas sejam componentes importantes na estratégia defensiva das plantas, as defesas químicas também apresentam um extremo valor e têm sido amplamente investigadas nas últimas décadas. HARBORNE (1993) cita que as adaptações bioquímicas podem operar em diferentes níveis do metabolismo, podendo afetar: enzimas e a constituição primária de proteínas, o metabolismo intermediário e o secundário.

Considerando o metabolismo secundário, as plantas produzem uma gama de substâncias que, além de desempenharem funções fisiológicas, resultam em interações entre as plantas, causando impactos no ambiente adjacente. Estas substâncias químicas são de grande importância na adaptação das espécies e na organização de comunidades vegetais (WHITTAKER & FEENY, 1971). As interações químicas são diversas e complexas e conferem às plantas doadoras, i. e., aquelas que produzem e liberam metabólitos bioativos, inúmeras vantagens adaptativas (REIGOSA *et al.*, 1999).

A alelopatia é um tipo de mecanismo de interação bioquímica entre vegetais, que tem sido amplamente estudado nos últimos anos, devido à sua importância em diversos ecossistemas. Esse fenômeno pode ser considerado uma forma de adaptação química defensiva das plantas, além de ser um fator de estresse ambiental para muitos vegetais (LOVETT & RYUNTYU, 1992). O conceito de alelopatia sugere que biomoléculas

produzidas por uma planta alcançam o meio ambiente e influenciam no crescimento e desenvolvimento de plantas vizinhas (RIZVI *et al.*, 1992).

Em 1984, RICE definiu a alelopatia como qualquer efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico, que uma planta (ou microorganismo) causa em outra, através da produção de substâncias químicas que são liberadas no meio ambiente. Entretanto, a palavra alelopatia, cujo significado é ‘dano mútuo’, surgiu em 1937, quando Molisch (*apud* RICE, 1984) usou-a para se referir às interações bioquímicas que ocorrem entre todos os tipos de vegetais. O significado dessa palavra de origem grega descarta os efeitos benéficos que podem ocorrer entre as plantas. Embora o termo ‘alelopatia’ tenha permanecido, atualmente, o conceito dado por RICE é seguido pela maioria dos pesquisadores sobre o tema.

As substâncias químicas envolvidas na alelopatia têm sido alvo de muitos estudos, tendo em vista o potencial que apresentam como agroquímicos. Essas substâncias, chamadas de aleloquímicos, podem ter origem no metabolismo primário (como proteínas tóxicas), mas em sua maioria são oriundas do metabolismo secundário, sendo muito diversificadas quanto à estrutura química. Os metabólitos secundários apresentam um papel relevante na interação das plantas com o ambiente e com outros organismos, fornecendo proteção contra: infecções, predação e estresses ambientais (STAHL, 1988 *apud* RHODES, 1994; HARBORNE, 1997).

Alguns autores já propuseram classificações para as substâncias procedentes do metabolismo secundário, formando grupos de acordo com a origem biossintética dessas moléculas. WHITTAKER & FEENY (1971) classificam os metabólitos secundários, com poucas exceções, em cinco grupos principais: fenilpropanos, acetogeninas, terpenóides, esteróides e alcalóides. Por sua vez, HARBORNE (1997) simplifica essa classificação em três categorias: terpenóides, metabólitos fenólicos e metabólitos nitrogenados.

De acordo com RICE (1984), as substâncias químicas identificadas como agentes alelopáticos se enquadram em quatorze categorias: (1) ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia curta, aldeídos alifáticos e cetonas, (2) lactonas simples insaturadas, (3) ácidos graxos de cadeia longa e poliacetilenos, (4) naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas, (5) fenóis simples, ácido benzóico, e derivados, (6) ácido cinâmico e derivados, (7) cumarinas, (8) flavonóides, (9) taninos, (10) terpenóides e esteróides, (11) aminoácidos e polipeptídeos, (12) alcalóides e cianohidrininas, (13) derivados sulfurados e glicosídeos de óleo mostarda, e (14) purinas e nucleosídeos. Além dessas categorias, o autor também destaca mais uma que inclui uma miscelânea de substâncias alelopáticas que não se enquadram claramente em nenhuma das divisões acima, apesar de apresentarem relações a uma ou mais categorias.

Os exemplos de substâncias aleloquímicas são inúmeros na bibliografia. Entretanto, seguindo a classificação simplificada e abrangente de HARBORNE (1997), alguns metabólitos secundários que podem atuar como aleloquímicos merecem atenção.

Os terpenóides, e. g., são provenientes do isopentenilpirofosfato, cuja biossíntese se dá via rota do mevalonato ou da deoxi-xilulose-P sintase (DXPS) (WHITTAKER & FEENY, 1971; WEST, 1992; BRAMLEY, 1997; LANGE *et al.*, 1998). Geralmente, são insolúveis em água (TAIZ & ZEIGER, 1998) e são encontrados em resinas, ceras, látex e óleos essenciais (HELDT, 1999). As plantas produzem uma grande variedade dessas substâncias, que atuam como reguladores de crescimento, fitoalexinas, repelentes para insetos herbívoros, agentes de defesa, sinalizadores, agentes fotoprotetores, constituintes de membranas e aleloquímicos (HARBORNE, 1997; MIZUTANI, 1999).

A enorme importância dessas moléculas como agentes na comunicação intra e interespecífica provavelmente resulte da sua volatilização, juntamente com a grande diversidade estrutural desse grupo (WHITTAKER & FEENY, 1971). Apesar dessa diversidade de substâncias, poucas estão envolvidas com a alelopatia (RICE, 1984).

Monoterpenos constituintes de óleos essenciais, tais como cânfora, limoneno, α - e β -pineno, cineol, entre outros, encontrados em *Salvia leucophylla*, *S. apiana* e *S. mellifera*, atuam como inibidores de espécies vizinhas, quando volatilizados (MULLER *et al.*, 1964). Alguns sesquiterpenóides encontrados em rizomas de *Petasites japonicus* ssp. *giganteus* são capazes de afetar o crescimento de plântulas de alface, conforme demonstrado por GOTO *et al.* (2001). Ácidos diterpênicos, presentes em extratos aquosos das folhas de *Chrysoma pauciflosculosa*, são inibitórios para a germinação e crescimento da radícula de gramíneas, porém, promovem um leve crescimento da radícula de alface (MANELAOU *et al.*, 1993).

Saponinas são triterpenóides glicosilados que também estão envolvidos na alelopatia. A cadeia polissacarídica hidrofílica e o esteróide hidrofóbico conferem, a estas substâncias, propriedades de detergentes (HELDT, 1999), e, conseqüentemente, a capacidade de ligação a membranas celulares, afetando o funcionamento celular (WHITTAKER & FEENY, 1971; HARBORNE, 1997; TAIZ & ZEIGER, 1998). São conhecidas por suas propriedades hemolíticas e toxidez para moluscos, insetos e fungos (OLESZEK *et al.*, 1992; HARBORNE, 1993).

HIRADATE *et al.* (1999) identificaram três saponinas, presentes nas folhas de *Duranta repens*, com efeitos potencialmente alelopáticos. Nesse estudo, foi constatada uma inibição no crescimento radicular de plântulas de *Brassica juncea* por estas substâncias.

Os glicosídeos de ácido medicagênico, saponinas presentes em alfafa, possuem efeitos inibitórios sobre o crescimento de outras plantas, conforme relatado por OLESZEK *et al.* (1992). Estas moléculas são precipitadas na presença de colesterol, o que facilita sua separação de saponinas não-precipitáveis, também presentes em espécies de *Medicago* e que apresentam ação fitotóxica mais branda. Conforme os autores, os glicosídeos de ácido medicagênico inibem o crescimento de *Triticum aestivum*, *Bromus secalimus*, *Echinochloa crus-galli*, *Amaranthus retroflexus*, *Taraxacum vulgare* e *Sesbania exaltate*. A germinação dessas espécies também é reduzida pela ação dessas saponinas.

Os derivados fenólicos são estruturas com anel aromático e grupos hidroxila, tendo, em sua maioria, origem a partir da fenilalanina, cuja biossíntese se dá através da rota do ácido chiquímico. A rota do malonato também contribui para a formação fenólicos, entre eles os flavonóides (STRACK, 1997; TAIZ & ZEIGER, 1998). Em sua maioria são polifenóis com várias hidroxilas e grupos metil e glicosil (HARBORNE, 1997). Alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos hidrofílicos, havendo, ainda, os polímeros insolúveis (TAIZ & ZEIGER, 1998).

Estas substâncias atuam na defesa contra herbívoros e patógenos, na atração de polinizadores, na proteção contra radiação ultravioleta, no estabelecimento de simbioses, fitoalexinas (HARBORNE, 1997; TAIZ & ZEIGER, 1998; HELDT, 1999) e aleloquímicos, neste caso, constituindo-se num entrave para a renovação de florestas (FISHER, 1980 *apud* INDERJIT & MALLIK, 1997). Os fenólicos compreendem o maior grupo de metabólitos que foram identificados como alelopáticos (RICE, 1984).

Os ácidos fenólicos são amplamente estudados devido ao potencial alelopático que apresentam. BLUM *et al.*, (1999) citam diversas substâncias estudadas por muitos pesquisadores, entre elas o ácido cinâmico e seus derivados (ácidos ferúlico e cumárico) e o ácido benzóico e seus derivados (ácidos vanílico e *p*-hidroxibenzóico). Estes metabólitos são comumente encontrados em muitas plantas, podendo ser produtos de degradação da lignina ou serem liberados de folhas e/ou serrapilheira por lavagem (INDERJIT & MALLIK, 1997).

O ácido ferúlico foi demonstrado como um dos metabólitos responsáveis pela inibição de *Trichocereus pasacana*, cactácea cujas sementes não germinam sob plantas de *Baccharis boliviensis* (CAZÓN *et al.*, 2000). Outro exemplo acerca da ação dos ácidos fenólicos é o estudo de WU *et al.* (1998), no qual detectou-se que seis ácidos (*p*-cumárico, ferúlico, gentísico, homoverático, *p*-hidroxibenzóico e vanílico), presentes nos extratos aquosos da gramínea *Buchloe dactyloides*, inibiam severamente o crescimento das radículas de *Poa annua*, embora não tenham afetado a germinação desta espécie.

Os flavonóides estão presentes nas plantas em diversas formas e com variadas funções. Incluem flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, proantocianidinas, isoflavonóides, entre outros (WHITTAKER & FEENY, 1971; SHIRLEY, 1998). Além das funções como pigmentos, atrativos ou repelentes de herbívoros, proteção contra radiação UV (HARBORNE, 1993; HELDT, 1999), estas substâncias apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir o crescimento de plantas e fungos. RICE (1984) cita alguns casos em que foram evidenciados efeitos fitotóxicos de flavonóides, entretanto, o autor afirma que poucos estão envolvidos na alelopatia.

As proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados, são polímeros de flavonóides (catequina e flavan-3,4-dióis) (WHITTAKER & FEENY, 1971; RICE, 1984; CROTEAU *et al.*, 2000). Esta classe de taninos é encontrada em todas plantas lenhosas, ao contrário dos taninos hidrolisáveis, que são restritos a poucas famílias das angiospermas, estando ausentes nas monocotiledôneas. Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos fenólicos, geralmente o gálico, e açúcares, apresentando uma suscetibilidade à hidrólise por ácidos diluídos (WHITTAKER & FEENY, 1971; HARBORNE, 1997; CROTEAU *et al.*, 2000).

Os taninos possuem a capacidade de se ligar a proteínas, geralmente de forma irreversível, formando precipitados. O papel defensivo destas moléculas, contra ataque de herbívoros invertebrados e vertebrados, reside nesta característica, apresentando, conseqüentemente, sabor adstringente e difícil digestão, já que as enzimas digestivas não conseguem atacar esses precipitados (HARBORNE, 1993).

RICE (1992) aponta alguns estudos sobre a importância dos taninos como inibidores de bactérias nitrificadoras, o que pode acarretar em efeitos alelopáticos indiretos em muitas plantas que colonizam o solo. Outros trabalhos citam que restos vegetais de eucalipto e de coníferas são responsáveis pela liberação de taninos para o ambiente (ALVES *et al.*, 1999; INDERJIT & MALLIK, 2002), podendo resultar em efeitos alelopáticos, tal como a redução nas radículas de arroz demonstrada por BERNHARD-REVERSAT (1999).

A terceira categoria de metabólitos secundários, definido por HARBORNE (1997), i. e., os metabólitos nitrogenados, tem como característica a presença de nitrogênio em sua estrutura. A maioria destas substâncias é derivada de aminoácidos que doam o esqueleto de carbono e/ou o nitrogênio (WINK, 1997). Estas substâncias também atuam como toxinas de defesa contra animais herbívoros e patógenos, como cores e odores para atração de polinizadores e dispersores, além de serem fitotoxinas (WINK, 1997). Neste grupo, os metabólitos ocorrem de maneira restrita nas plantas devido à limitação no aporte de

nitrogênio, podendo-se citar os glicosídeos cianogênicos, comuns às rosáceas, e os glicosinolatos, bastante restritos às brassicáceas.

O maior grupo de metabólitos secundários dentro dos metabólitos nitrogenados é o dos alcalóides, que englobam mais de 12.000 estruturas já descritas, ficando atrás apenas dos terpenóides (*ca.* 30.000). Aproximadamente 20% das espécies vegetais acumulam alcalóides, moléculas caracterizadas pelo baixo peso molecular e pela origem principal a partir de fenilalanina, tirosina, triptofano, lisina e ornitina (WHITTAKER & FEENY, 1971; DE LUCA & ST-PIERRE, 2000). Somando-se a estes, existem ainda os alcalóides monoterpénóides indólicos, derivados do triptofano e precursores terpenóides (DE LUCA & ST-PIERRE, 2000).

De acordo com WINK & TWARDOWSKI (1992), vários alcalóides são capazes de inibir o crescimento de bactérias, além de serem tóxicos para *Lemna gibba*, causando morte em concentrações de 0,4%. Os autores mostram ainda que, em testes com *Lactuca sativa* e *Lepidium sativum* como espécies alvo, essas substâncias podem reduzir a germinação e o crescimento de plântulas submetidas a concentrações de 0,1%. Em concentrações possíveis de serem encontradas em condições naturais (3-5 mM), poucos alcalóides possuem atividade fitotóxica, entre eles a cafeína, a papaverina, a colchicina, a quinina e a teofilina (WINK *et al.*, 1998).

Parte da bioatividade dos alcalóides está relacionada com a capacidade de interação com o DNA (WINK & TWARDOWSKI, 1992). Este efeito ocorre por intercalação desses metabólitos na cadeia de DNA ou por ligação iônica da porção nitrogenada dos alcalóides com os grupos fosfato dos ácidos nucleicos, prejudicando, conseqüentemente, a biossíntese protéica.

Contrastando com os metabólitos primários, os secundários variam muito no que diz respeito a sua distribuição nas plantas. Essas substâncias têm ocorrência esporádica e, em muitos casos, se restringem a algumas famílias, gêneros, espécies e até subespécies (FRAENKEL, 1959; RHODES, 1994), podendo até fazer parte das características de certos táxons (SANTOS, 2000).

Os metabólitos secundários não apresentam uma uniformidade de distribuição pela planta, sendo compartimentalizados em alguns órgãos, tecidos e estruturas celulares, destacando-se: vacúolos, idioblastos, dutos, laticíferos, glândulas e tricomas (HADACEK, 2002). O acúmulo de metabólitos secundários em estruturas especializadas evita que a planta produtora seja prejudicada pela toxidez que muitas destas substâncias apresentam.

Além da compartimentalização, alguns metabólitos podem ser conjugados a outras moléculas, tornando-se inativos. Metabólitos fenólicos, e. g., por serem muito tóxicos para organismos vivos em geral, são conjugados com açúcares, sulfatos ou ambos, sendo armazenados nos vacúolos, de forma solúvel em água (HARBORNE, 1997). Segundo RHODES (1994), substâncias lipofílicas são conjugadas, a fim de torná-las solúveis, facilitando o armazenamento em vacúolos. O autor afirma, ainda, que metabólitos lipofílicos produzidos por glândulas podem ser armazenados fora das células ou exportados como componentes de suberinas e ceras cuticulares. O acúmulo de metabólitos secundários em estruturas especializadas funciona, também, como barreira para as enzimas responsáveis pela quebra destas formas conjugadas, reduzindo o efeito tóxico para a própria planta (HARBORNE, 1997).

RICE (1984) relata que os aleloquímicos podem ser encontrados em todos os órgãos da planta: caules, folhas, raízes, inflorescências e flores, frutos e sementes. Entretanto, a grande maioria dos trabalhos realizados tem empregado folhas como principal fonte dessas substâncias.

A produção de aleloquímicos pelas plantas é regulada por diversos fatores bióticos e abióticos. Entre eles pode-se citar a temperatura, a qualidade e quantidade luminosa, as condições hídricas, o estado nutricional e os microorganismos do solo (CHOU, 1999a). Assim como na produção, a liberação dos aleloquímicos para o ecossistema também é afetada por fatores ambientais (REIGOSA *et al.*, 1999).

Existem diversas rotas de liberação dessas substâncias para o meio ambiente, incluindo-se a volatilização pelas partes aéreas da planta, a lixiviação das superfícies do vegetal através da chuva, orvalho e neblina, a exsudação pelas raízes, a decomposição de resíduos vegetais e a lixívia de serrapilheira (WHITTAKER & FEENY, 1971; CHOU, 1986; ANAYA, 1999). A decomposição de resíduos vegetais destaca-se como a fonte de aleloquímicos mais importante, entretanto, esse processo de liberação não é uniforme, variando conforme o ecossistema (REIGOSA *et al.*, 1999).

Uma vez liberados no ambiente, a ação dos aleloquímicos dependerá de vários fatores, que interferem nos efeitos sobre a planta alvo. CHENG (1992) cita a ocorrência de três processos pós-liberação: retenção, transformação e transporte. A retenção basicamente retarda o movimento do aleloquímico através do meio (solo, água ou ar). No segundo processo, incluem-se as mudanças na forma e estrutura do composto químico, levando a uma alteração parcial ou degradação da molécula. E, finalmente, o transporte definirá como o aleloquímico se move no ambiente. Portanto, o destino dos aleloquímicos no meio ambiente dependerá da

cinética e das interações desses processos ao longo do tempo, tendo influência das condições peculiares do ecossistema.

A alelopatia, geralmente, resulta da ação de várias substâncias químicas em conjunto. Nestas ‘misturas de aleloquímicos’, podem existir substâncias similares ou de natureza química diversa (EINHELLIG, 1999). Na maioria dos casos, os aleloquímicos dessas misturas, quando sozinhos, não são capazes de causar nenhum efeito inibitório ou benéfico sobre a planta alvo (REIGOSA *et al.*, 1999). Isto acontece porque muitas substâncias químicas não são liberadas no ambiente em concentrações suficientes para surtir efeitos, geralmente, ocorrendo em quantidades muito baixas (EINHELLIG, 1999; REIGOSA *et al.*, 1999).

Os efeitos que podem ser ocasionados pelos aleloquímicos sobre uma planta são diversos. RICE (1984) afirma que é muito difícil separar os efeitos secundários das causas primárias. Os efeitos visíveis, observados em muitos estudos de alelopatia, são, portanto, sinais secundários de mudanças ocorridas num nível molecular (RIZVI *et al.*, 1992), que, começaram a ser elucidadas em estudos recentes (BAIS *et al.*, 2003). Segundo REIGOSA *et al.* (1999), os efeitos dos aleloquímicos dependem de algumas circunstâncias, tais como concentração, temperatura e outras condições ambientais.

Quanto à concentração, REIGOSA *et al.* (1999) relatam que os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são dependentes deste fator, ou ao menos se espera que sejam, tendo uma resposta representada pela Fig. 1A. Entretanto, os autores afirmam que são comuns os efeitos em “serra/dente” (Fig. 1B), em relação à concentração, visto que a quantificação de efeitos secundários reflete a soma não-linear de vários efeitos no nível primário.

Basicamente, os aleloquímicos podem apresentar mecanismos de ação diretos ou indiretos sobre a planta alvo. Os efeitos indiretos incluem alterações nas propriedades e características nutricionais do solo e, também, nas populações e/ou atividades de organismos, tais como microorganismos, nematódeos e insetos. Já os efeitos diretos, que são mais estudados, incluem alterações no crescimento e metabolismo vegetal (RIZVI *et al.*, 1992). Compreendem alterações no nível celular, fitormonal, fotossintético e respiratório, bem como modificações no funcionamento de membranas, na absorção de nutrientes e nas relações hídricas, entre outras (RICE, 1984; RIZVI *et al.* 1992; REIGOSA *et al.*, 1999).

Devido à complexidade dos efeitos citados anteriormente, juntamente com os diversos fatores que operam em conjunto na natureza, alguns autores afirmam que é impossível separar, em ambientes naturais, a alelopatia da competição por recursos (INDERJIT & DEL

MORAL, 1997). Para eles, esses dois tipos de interação operam simultaneamente, sendo que a alelopatia se desenvolveu como resultado da competição por recursos e outros fatores ambientais. Neste caso, demonstrar a alelopatia não se limita apenas a isolar substâncias, mas inclui a comprovação da persistência de um efeito tóxico quando não há mais a limitação de recursos.

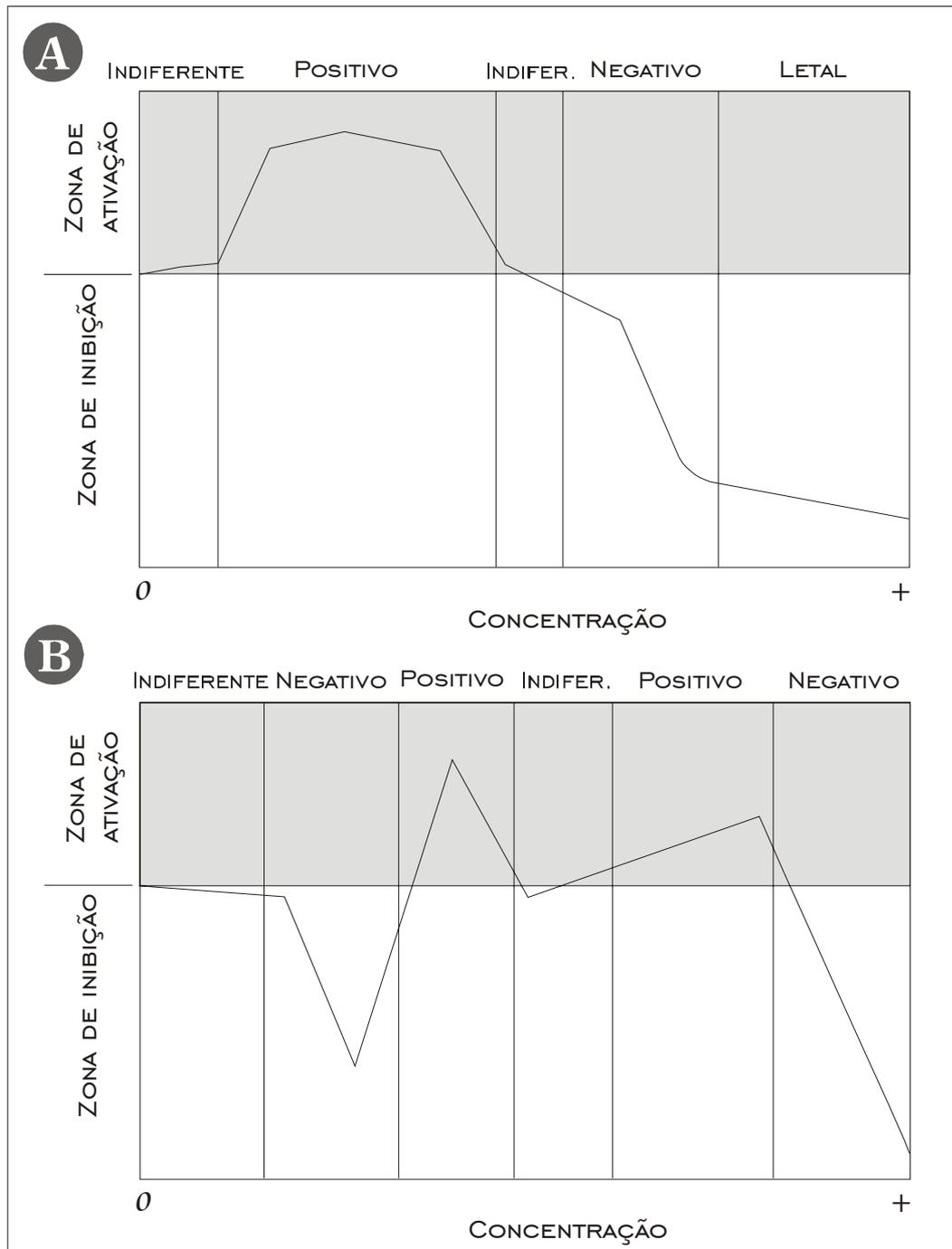


FIGURA 1. A) Curva, esperada ou teórica, de ação de um aleloquímico, conforme sua concentração. B) Curva em “serra/dente” que pode ser encontrada em muitos processos alelopáticos. (REIGOSA *et al.*, 1999 - Adaptado).

Outros estudiosos acreditam que esses processos são fenômenos distintos, apesar de estarem inter-relacionados, sendo, geralmente, de difícil separação experimental. (WEIDENHAMER *et al.*, 1989; THIJS *et al.*, 1994; NILSSON, 1994). Entretanto, no intuito de demonstrar experimentalmente essa separação, WEIDENHAMER *et al.* (1989) mostraram que os efeitos causados por determinada quantidade de aleloquímico eram atenuados à medida que a densidade de plantas alvo aumentava, sugerindo uma diluição do efeito fitotóxico. Em suma, este e outros estudos (THIJS *et al.*, 1994; WEIDENHAMER, 1996) afirmam que a fitotoxidez é máxima quando as plantas alvo encontram-se em baixas densidades, enquanto que reduções de crescimento, devido à competição por recursos, são mais acentuadas em altas densidades de plantas.

Devido a essa dificuldade em distinguir alelopatia de competição por recursos, o termo interferência foi proposto por MULLER (1966 *apud* REIGOSA *et al.*, 1999) para incluir os efeitos alelopáticos e a competição em geral. Cabe ressaltar que, no primeiro caso, há a adição de substâncias químicas no ambiente pelas plantas, enquanto que, no segundo, ocorre a remoção ou redução de algum recurso ambiental necessário às plantas, como água, minerais, luz, etc (RICE, 1984; FRIEDMAN & WALLER, 1985).

A autointoxicação também está inserida dentro do fenômeno da alelopatia, sendo que este termo é usado quando os efeitos são intraespecíficos. A autointoxicação já foi observada em muitas espécies e é tida como um mecanismo de regulação das populações, além de evitar a competição intraespecífica, promover a perpetuação da espécie e a distribuição geográfica da mesma (SINGH *et al.*, 1999).

A alelopatia é reconhecida como um mecanismo ecológico importante em ecossistemas naturais e manejados. É um fenômeno que influencia na sucessão vegetal primária e secundária, englobando todos os estádios sucessionais (REIGOSA *et al.*, 1999); na estrutura e composição de comunidades vegetais e na dinâmica entre diferentes formações (RIZVI *et al.*, 1992; SCRIVANTI *et al.*, 2003); na dominância de certas espécies vegetais, afetando na biodiversidade local (REIGOSA *et al.*, 1999); e na agricultura, alvo da maioria dos estudos (CHOU, 1986).

Os padrões vegetacionais são condicionados aos mecanismos de interferência que todas as plantas de uma comunidade exercem. Além da competição por recursos, a alelopatia também influencia nos padrões de distribuição das espécies em muitas formações vegetais (RICE, 1984; RIZVI *et al.*, 1992; GOSLEE *et al.*, 2001). Espécies com os mais variados hábitos, de ervas a árvores, podem liberar aleloquímicos e afetar outras plantas nas suas proximidades. Alguns estudos demonstram a ocorrência de áreas desnudas, i. e., sem

crescimento de plantas, embaixo e ao redor de determinadas espécies, tais como os arbustos *Salvia leucophylla* e *Artemisia californica* (MULLER *et al.*, 1964) e a árvore *Cassia siamea* (GOEL & SAREEN, 1986).

Em formações florestais, onde o fenômeno parece ser mais evidente, tanto as árvores do dossel quanto os arbustos e ervas dos estratos inferiores podem causar efeitos alelopáticos, dificultando a regeneração das espécies da comunidade (REIGOSA *et al.*, 1999). Entretanto, geralmente os efeitos causados por espécies lenhosas são mais evidentes do que aqueles acarretados por plantas herbáceas (RICE, 1984).

Nessas formações, por exemplo, muitas vezes uma espécie pode ter caráter dominante, influenciando nas condições do solo e da vegetação sob o dossel através de meios diretos como sombreamento, umidade e disponibilidade de nutrientes, incluindo-se também os efeitos alelopáticos (MELKANIA, 1992; REIGOSA *et al.*, 1999). Os efeitos químicos causados no solo por plantas dominantes limitam o estabelecimento de outras espécies tanto nas comunidades em processo de sucessão quanto naquelas em clímax.

Plantas pioneiras, ao bloquear o processo de fixação do nitrogênio pela ação de aleloquímicos, podem atrasar o estabelecimento de espécies sucessionais tardias, favorecendo, conseqüentemente, sua permanência por mais tempo (WARDLE *et al.*, 1996). Entretanto, espécies secundárias e climácicas, como *Populus balsamifera* e *Abies balsamea*, respectivamente, também podem causar tal efeito alelopático, afetando a sucessão vegetal. Desse modo, a alelopátia pode ser um fator determinante na redução da riqueza e da diversidade do ecossistema, seja qual for o estágio sucessional em que este se encontra.

A liberação de fitotoxinas para o ambiente é uma das estratégias de espécies que invadem determinadas comunidades. CARRAL *et al.* (1988) relatam que a invasão da planta *Rumex obtusifolius* em pastagens artificiais se deve ao efeito alelopático exercido sobre as espécies do campo, sendo os aleloquímicos encontrados nas folhas.

As plantas invasoras são um problema para a agricultura moderna, que visa alta produtividade aliada a práticas menos nocivas ao meio ambiente e à saúde humana. Nos agroecossistemas, muitas espécies invasoras acarretam perdas de produtividade, devido aos efeitos alelopáticos que podem causar nas plantas cultivadas (QASEM & FOY, 2001). Por outro lado, as próprias espécies cultivadas podem resultar em prejuízos no ciclo de produção, devido à ação tóxica de resíduos de culturas anteriores, que muitas vezes são usados como cobertura do solo e/ou adubo (CHOU, 1986; SINGH *et al.*, 2001).

Em sistemas agroflorestais, a compatibilidade alelopática das espécies lenhosas que coexistem com as cultivadas é crucial para o sucesso na produção (RIZVI *et al.*, 1999). A

maioria das espécies agrofloretais estudadas causam efeitos alelopáticos inibitórios, entre elas várias espécies de *Eucalyptus* (RIZVI *et al.*, 1999). Porém, as características alelopáticas de certas plantas podem ser empregadas em benefício da produção nas agroflorestas e, também, nos sistemas agrícolas comuns.

Os aleloquímicos são vistos, atualmente, como alternativas a agroquímicos sintéticos, objetivando o manejo sustentável e ecológico na produção agrícola. Muitas substâncias alelopáticas apresentam grande potencial para uso no controle biológico de ervas daninhas (PUTNAM & DUKE, 1974; MACHARIA & PEFFLEY, 1995; ANAYA, 1999; CHOU, 1999a; CHUNG *et al.*, 2001), sendo parcial ou totalmente solúveis em água e ativos em baixas concentrações (VYVYAN, 2002). Em contrapartida ao poder fitotóxico, os efeitos benéficos dos aleloquímicos, tais como promoção de germinação e crescimento, também são de interesse para o manejo agrícola (VYVYAN, 2002).

Devido à importância que a alelopatia apresenta nos diversos ecossistemas, muitos estudos já foram realizados sobre o tema, sendo que a grande maioria dos trabalhos envolve espécies de interesse econômico. No Brasil, os estudos alelopáticos também se concentram em plantas de agroecossistemas, em especial as cultivadas e as daninhas. Por outro lado, trabalhos acerca do potencial alelopático das espécies nativas, ocorrentes nos diversos ecossistemas naturais do País, são escassos ainda, considerando-se a extensão territorial e a diversidade da flora brasileira (FERREIRA *et al.*, 1992).

Entre algumas das espécies nativas, cujo potencial alelopático já foi investigado, incluem-se: *Mimosa bimucronata* (JACOBI & FERREIRA, 1991), *Baccharis trimera* (FERREIRA *et al.*, 1992), *Chrysophyllum gonocarpum* (AQÜILA & AZAMBUJA, 1996), *Eugenia uniflora* (AQÜILA *et al.*, 1999a), *Achyrocline satureioides* (AQÜILA *et al.*, 1999b), *Ilex paraguariensis* (AQÜILA, 2000), *Dicranopteris flexuosa*, *Gleicheniella pectinata*, *Sticherus bifidus*, *S. nigropaleaceus*, *S. penniger* (SOARES & VIEIRA, 2000), *Mimosa caesalpinaefolia* (PIÑA-RODRIGUES & LOPES, 2001) e *Myrciaria cuspidata* (RODRIGUES, 2002). Os trabalhos citados refletem um maior número de estudos a partir da década de 90, entretanto, ainda são limitados.

As investigações sobre a ocorrência da alelopatia são dificultadas em condições de campo, devido à ocorrência simultânea de diversos mecanismos de interferência na natureza. Os estudos laboratoriais, por sua vez, auxiliam na investigação desse fenômeno, sendo desenvolvidos em alguma fase da pesquisa, dentre uma série de abordagens. INDERJIT & DAKSHINI (1995) relatam, contudo, que a maioria dos trabalhos não incluem análises a

campo, limitando-se a experimentos em condições controladas de laboratório ou casa de vegetação.

CHOU (1999b) indica quatro etapas para o estudo da alelopatia, posicionando as observações de campo em primeira instância. Segundo o autor, os passos a serem seguidos são: (1) observações e medidas a campo, (2) experimentos a campo, (3) experimentos em casa de vegetação e (4) ensaios em laboratório. Contudo, na maioria dos estudos realizados, os experimentos laboratoriais são feitos como uma abordagem inicial, quando se suspeita que determinada espécie tenha um potencial alelopático na natureza. Seguindo esta linha metodológica, FOY (1999) divide o estudo alelopático em três fases: (1) estudos em laboratório e casa de vegetação, (2) estudos a campo e (3) análise fitoquímica dos supostos aleloquímicos.

Independentemente da ordem em que as abordagens experimentais são conduzidas, existem diversos protocolos para se avaliar o potencial alelopático de uma espécie. Para que haja a comprovação da alelopatia em condições naturais, alguns autores propõem os seguintes critérios a serem cumpridos: demonstrar a interferência, descrever sintomas e quantificar os efeitos; isolar, identificar e caracterizar o agente químico através de bioensaios; reproduzir a interferência, introduzindo o agente químico num sistema biológico nas concentrações encontradas na natureza; e quantificar a quantidade de aleloquímico liberada da planta fonte e absorvida na planta alvo (FUERST & PUTNAM, 1983; WEIDENHAMER, 1996; INDERJIT, 1998; VYVYAN, 2002).

Segundo VYVYAN (2002), os aleloquímicos são liberados no ambiente junto com outros metabólitos secundários e um efeito sinérgico pode aumentar os efeitos observados, o que inviabiliza a reprodução da interferência. Além disso, a quantificação da concentração de aleloquímico liberado e absorvido é dificultada, devido às interações do composto químico com o solo e com microorganismos. Em vista disso, torna-se complicado seguir todos esses critérios.

Apesar de muitos métodos já terem sido sugeridos para se detectar a alelopatia, a maioria apresenta pouca ou nenhuma correspondência com as interações que ocorrem na natureza, devido à dificuldade em simular as condições naturais observadas a campo (INDERJIT & DAKSHINI, 1995). Portanto, para se atingir um maior significado ecológico nos estudos laboratoriais, é imprescindível levar em consideração as condições naturais nas quais ocorre o fenômeno.

Os bioensaios realizados em laboratório são valiosas ferramentas, pois permitem eliminar todas as interferências que ocorrem no ambiente, através de modelos experimentais

controlados, o que possibilita a pesquisa de cada mecanismo de interação isoladamente (INDERJIT & DAKSHINI, 1995). Outras vantagens do uso destes bioensaios em análises preliminares são a economia e a rapidez com que podem ser desenvolvidos, motivos pelos quais são amplamente realizados.

Estas técnicas empregam o uso direto do tecido vegetal, no qual se suspeita conter aleloquímicos, ou o preparo de extratos com partes da planta teste (ANDERSON & LOUCKS, 1966). INDERJIT & DAKSHINI (1995), todavia, desencorajam o uso de extratos em bioensaios laboratoriais, principalmente com solventes orgânicos. Porém, os autores ressaltam que as extrações aquosas são de maior relevância ecológica, devendo ser priorizadas, caso os extratos sejam empregados no método de estudo. Grande parte das investigações emprega a extração com água, visto que a interferência alelopática se dá, principalmente, devido à liberação de substâncias solúveis em água no ambiente (VYVYAN, 2002).

A água é um dos líquidos extratores mais importantes, segundo SONAGLIO *et al.* (2003). É um solvente usado na extração de substâncias hidrofílicas, tais como aminoácidos, açúcares, alcalóides na forma de sais, saponinas, flavonóides heterosídeos, mucilagens e taninos (SANTOS & MELLO, 2003; SONAGLIO *et al.*, 2003; FALKENBERG *et al.*, 2003).

No preparo dos extratos a serem usados nos bioensaios, não são indicados alguns procedimentos, entre eles a trituração do material vegetal. Este processo é capaz de promover a liberação de enzimas, sais, aminoácidos e moléculas nitrogenadas, o que não ocorre em condições naturais (INDERJIT & DAKSHINI, 1995; ELAKOVICH, 1999). Técnicas de extração com solventes orgânicos ou com água quente também não são recomendadas por muitos autores, pois podem gerar artefatos não previsíveis, além de apresentarem pouca relevância ecológica (INDERJIT & DAKSHINI, 1995; INDERJIT, 1996; FERREIRA & AQÜILA, 2000).

Usualmente, aplica-se a técnica de lixívia do material vegetal com água fria, que resulta num percolado com aleloquímicos (FERREIRA & AQÜILA, 2000). Apesar disso, os solventes orgânicos já foram utilizados para se testar os efeitos e as características de aleloquímicos específicos, uma vez que apresentam um poder de extração seletivo (RODRIGUES, 2002). Mesmo não sendo uma técnica sugerida, o preparo de extratos com água quente é muito usado (ANDERSON & LOUCKS, 1966; AQÜILA & AZAMBUJA, 1996; MIRÓ *et al.*, 1998; AQÜILA *et al.*, 1999b; AQÜILA, 2000; PIRES *et al.*, 2001; RODRIGUES, 2002), visando uma maior extração e a obtenção de substâncias menos solúveis da planta.

SONAGLIO *et al.* (2003) ressaltam que os extratos aquosos devem ser preparados para uso imediato, devido à sua suscetibilidade de degradação e de contaminação microbiana, inerente à presença de água como solvente. Nos extratos a quente, a temperatura elevada auxilia na redução de contaminações. Já nos extratos a frio, a manutenção em temperaturas baixas, de 8 a 10°C, é indicada para evitar a proliferação de microorganismos (RUTHERFORD & POWRIE, 1993). Além disso, a secagem do material vegetal também ajuda a diminuir o crescimento dos microorganismos, além de impedir reações de hidrólise, promovendo maior estabilidade química, segundo FALKENBERG *et al.* (2003).

Segundo CHENG (1992), a maior parte dos estudos alelopáticos se concentra nos sintomas e na severidade dos efeitos adversos causados em plantas alvo ou na identificação dos aleloquímicos da espécie produtora. A quantificação da germinação e a avaliação do crescimento inicial dessas plântulas são os bioensaios mais simples para verificar o potencial alelopático de determinada espécie (LOVETT & RYUNTYU, 1992; FERREIRA & AQÜILA, 2000), sendo amplamente empregados por muitos pesquisadores. O uso destas avaliações nos testes laboratoriais é favorecido devido a alguns fatores, tais como a clareza nas respostas observadas, a possibilidade de reprodução, o baixo custo, a facilidade de operação, a possibilidade de aplicação em inúmeras espécies alvo, a validade estatística, a demanda de pouco tempo e espaço (WU *et al.*, 2001).

Nas formas mais simples de desenvolvimento dos bioensaios de germinação, as sementes da planta alvo são colocadas em placas de Petri, forradas com papel filtro, sendo tratadas com a solução de aleloquímicos (FERREIRA & AQÜILA, 2000; WU *et al.*, 2001; VYVYAN, 2002). Alguns autores indicam o uso de extrato-ágar, podendo-se evitar resultados inconsistentes devido à umidade não uniforme do substrato, bem como pela formação de protuberâncias, causadas por bolhas de ar sob o papel (WU *et al.*, 2001). Apesar dessa recomendação, estudos com agar-gel são escassos quando comparados com os de papel filtro.

Uma vez montado o bioensaio de germinação, o acompanhamento do experimento deve ser, no mínimo, a cada 24 h. Conforme citado por FERREIRA & AQÜILA (2000), a avaliação da germinação da espécie alvo deve ser feita, preferencialmente, em períodos mais curtos, já que o processo de germinação pode sofrer alterações não visíveis na germinabilidade, parâmetro avaliado ao final do período de teste. Outros índices de germinação podem ser alterados, provocando mudanças na curva de germinação padrão, entre eles o tempo e a velocidade média de germinação, bem como a sincronia das reações metabólicas desse processo, avaliadas pelo cálculo da entropia informacional (LABOURIAU & AGUDO, 1987; FERREIRA & AQÜILA, 2000).

Para os testes de crescimento, se aplicam os mesmos moldes do bioensaio de germinação. Porém, geralmente as sementes da espécie alvo são germinadas previamente, sendo, posteriormente, colocadas nas placas de Petri para avaliação dos efeitos dos extratos. Este procedimento diminui erros experimentais, como redução no tamanho das radículas devido a atrasos na germinação (WU *et al.*, 2001). Além disso, o uso de sementes pré-germinadas confere uma maior uniformidade da amostra e, conseqüentemente, dos resultados (FERREIRA & AQÜILA, 2000).

Estudos anteriores ressaltam, ainda, outros cuidados que devem ser tomados na realização dos bioensaios (FERREIRA & AQÜILA, 2000). CHIAPUSO *et al.* (1997) destacam que as condições ótimas de germinação para a espécie alvo escolhida deve ser identificada e empregada. O mesmo se aplica para os bioensaios de crescimento, devendo-se atentar para o fornecimento adequado de alguns fatores, tais como luminosidade, temperatura, fotoperíodo e volume de solução na placa de Petri, reduzindo-se, desse modo, artefatos de técnica.

O pH e o potencial osmótico dos extratos a serem empregados nestes bioensaios também podem interferir nos resultados (ANDERSON & LOUCKS, 1966; CHOU & YOUNG, 1974; ASTARITA *et al.*, 1996), visto que são capazes de afetar o processo de germinação e o crescimento das plantas (LABOURIAU, 1983; AQÜILA, 2000). Outro parâmetro a ser avaliado, segundo AQÜILA (2000), é o rendimento dos extratos, que estima a concentração das substâncias químicas extraídas. Assim, a caracterização dos extratos quanto ao pH, potencial osmótico e rendimento se faz necessária para excluir efeitos não alelopáticos que podem, porventura, ser considerados como tal, e fornecer maior suporte aos resultados.

As plantas alvo usadas nos bioensaios podem ser nativas, sendo suas sementes coletadas no mesmo ambiente onde a espécie alelopática ocorre. Entretanto, muitas espécies nativas apresentam problemas de germinação, como dormência (FERREIRA & AQÜILA, 2000) entre outros. Além disso, várias plantas nativas necessitam de longos períodos para germinar, em alguns casos até meses, sem mencionar as condições ideais para germinação, que, geralmente, são desconhecidas.

Em vista das dificuldades expostas acima, sementes de espécies cultivadas podem ser empregadas nos experimentos, visando contornar tais problemas. Nestes casos, a alface é amplamente utilizada, sendo que, apenas em interações envolvendo hidrófitas vasculares herbáceas, a frequência de uso dessa espécie foi de 54%, conforme revisão citada por ELAKOVICH (1999).

A principal vantagem do uso de *Lactuca sativa* como alvo nos estudos alelopáticos reside na sensibilidade da espécie, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos. Além disso, a espécie apresenta outras peculiaridades que favorecem sua utilização: germinação rápida dos aquênios, em aproximadamente 24 h; crescimento linear insensível às diferenças de pH em uma ampla faixa de variação; insensibilidade aos potenciais osmóticos menores que $-0,167$ MPa (ELAKOVICH, 1999).

Entretanto, INDERJIT (1996) afirma que o uso de espécies cultivadas, como a alface, é de pouca relevância ecológica, já que, geralmente, não ocorrem no mesmo ambiente da espécie supostamente alelopática. O autor afirma, ainda, que essas espécies alvo ‘artificiais’ são úteis para estudar os mecanismos de ação dos aleloquímicos. FOY (1999) sugere, então, a seleção de várias espécies alvo, ao menos em bioensaios de laboratório, visando fornecer resultados com maior significado. Ressalta-se, ainda, que a alface é usada em estudos preliminares para efeitos de comparação, já que muitos estudos são realizados com esta espécie alvo. Posteriormente, esses efeitos podem ser avaliados em plantas nativas que ocorrem nas vizinhanças das espécies alelopáticas.

Devido às dificuldades na comprovação da alelopatia, as pesquisas são continuadas, aliando, aos bioensaios, experimentos com uso de solo em casa de vegetação ou em ambientes naturais. Técnicas mais refinadas, como HPLC, também estão sendo utilizadas, sendo a cromatografia bastante eficaz no isolamento e identificação dos candidatos aleloquímicos presentes em extratos de material vegetal ou de solo (INDERJIT, 1998; CHUNG *et al.*, 2001; VYVYAN, 2002).

Apesar das dificuldades e controvérsias expostas anteriormente, o uso de extratos aquosos e os bioensaios de germinação e crescimento continuam sendo ferramentas muito úteis no diagnóstico preliminar da alelopatia, antes de se empregar outras abordagens experimentais mais complexas. Mesmo com a ampla utilização dessa metodologia, muitas dúvidas ainda são levantadas quanto a sua eficiência e fidedignidade no diagnóstico laboratorial deste fenômeno, sendo que inúmeros estudos se limitam a usar esses métodos. Uma avaliação mais cuidadosa dessas técnicas é essencial para que se possa correlacionar com maior segurança os efeitos observados em laboratório com o que ocorre na natureza.

 **OBJETIVO GERAL**

Estudar os extratos aquosos e os bioensaios laboratoriais quanto ao seu poder de demonstrar o potencial alelopático das plantas.

 **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ⊕ Padronizar o preparo dos extratos vegetais através do método de maceração estática, utilizando como solvente água fria e quente.
- ⊕ Caracterizar os extratos aquosos quanto ao pH, potencial osmótico e rendimento.
- ⊕ Realizar uma prospecção fitoquímica preliminar das espécies testadas, detectando a presença de saponinas, taninos e flavonóides e sugerindo possíveis aleloquímicos.
- ⊕ Comparar os dois tipos de extrato elaborados, a quente e a frio, quanto aos efeitos causados na germinação e no crescimento da espécie alvo utilizada, relacionando-os com sua relevância ecológica.
- ⊕ Verificar a capacidade dos bioensaios de laboratório em demonstrar possíveis efeitos alelopáticos de espécies sem indícios de alelopatia em condições naturais.
- ⊕ Contribuir para o conhecimento do potencial alelopático de 15 espécies nativas.



MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Como espécie alvo, foi utilizada *Lactuca sativa* L. (alface), variedade Branca Boston, cujos aquênios foram obtidos no comércio local. Em todos os bioensaios, foi empregado o mesmo lote de aquênios (Lote 167470, origem Dinamarca, germinabilidade 95%, análise 02/2002, validade 02/2005).

Foram usadas folhas adultas de 15 espécies arbustivas ou arbóreas nativas para avaliação do potencial alelopático. As espécies escolhidas estão listadas na Tabela 1 e descritas no próximo tópico. As coletas foram feitas em dias com tempo seco há pelo menos 96h, sendo levadas para o beneficiamento logo em seguida. O material vegetal foi coletado no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em locais com vegetação natural. Apenas duas espécies, indicadas por um asterisco na Tab. 1, não foram coletadas no Campus, sendo obtidas em um fragmento de Mata Atlântica no Município de Dom Pedro de Alcântara/RS, de propriedade do Prof. Luis Rios de Moura Baptista.

A escolha das espécies foi ao acaso e conforme a disponibilidade e acesso. Foram preparadas exsiccatas de cada espécie, estando as mesmas depositadas no Herbário ICN da UFRGS.

TABELA 1. Relação das espécies usadas para verificação do potencial alelopático.

Espécie testada	Nome popular	Época de coleta		Número da exsicata
		G	C	
<i>Cabralea canjerana</i> *	Canjerana	Ago-2002	Ago-2002	130030
<i>Cecropia pachystachya</i>	Embaúba	Mai-2003	Abr-2003	122908
<i>Dodonaea viscosa</i>	Vassoura-vermelha	Mai-2003	Abr-2003	122909
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Timbaúva	Mai-2003	Mai-2003	122911
<i>Erythroxylum argentinum</i>	Cocão	Out-2002	Out-2002	130031
<i>Luehea divaricata</i>	Açoita-cavalo	Jun-2002	Jun-2002	130032
<i>Myrsine guianensis</i>	Capororoca	Out-2002	Nov-2002	130033
<i>Ocotea puberula</i>	Canela	Mar-2003	Mar-2003	130034
<i>Peltophorum dubium</i>	Canafistula	Jan-2003	Jan-2003	130035
<i>Psychotria leiocarpa</i>	Erva-de-rato	Mar-2003	Abr-2003	130036
<i>Roupala brasiliensis</i>	Carvalho-brasileiro	Jan-2003	Jan-2003	130037
<i>Sapium glandulatum</i>	Pau-leiteiro	Fev-2003	Mar-2003	130038
<i>Schinus molle</i>	Aroeira-salso	Jun-2002	Jul-2002	130039
<i>Sorocea bonplandii</i> *	Cincho	Ago-2002	Ago-2002	130040
<i>Trema micrantha</i>	Grandiúva	Mai-2003	Mai-2003	122910

G: bioensaio de germinação; C: bioensaio de crescimento. * Coletadas num fragmento de Floresta Ombrófila Densa.

CARACTERÍSTICAS DAS PLANTAS TESTADAS

Foi realizada uma revisão bibliográfica sobre as espécies testadas, a fim de buscar informações sobre aspectos ecológicos e fitoquímicos que pudessem dar algum suporte para um possível efeito alelopático. Para algumas espécies, foram encontrados dados ecológicos e fitoquímicos mais detalhados, enquanto que, para outras, encontraram-se apenas informações parciais e indícios da presença de substâncias químicas secundárias, tal como o uso medicinal ou inseticida.

⊕ *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. – Família Meliaceae

Árvore de grande porte (até 40 m), perenifólia, ocasionalmente pode perder as folhas completamente, climácica, heliófita, seletiva higrófito; ocorre em quase todas as formações vegetais, sendo mais comum na floresta primária, mas podendo ser encontrada como pioneira e secundária nas capoeiras (KLEIN, 1984; SANCHOTENE, 1985; LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

O suco dos frutos tem poder inseticida e a casca, principalmente da raiz, é usada como purgativa, febrífugo, adstringente e abortiva (SANCHOTENE, 1985; LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

⊕ *Cecropia pachystachya* Trec. – Família Cecropiaceae

Árvore de porte médio (até 18 m), latescente, perenifólia, pioneira, heliófita e seletiva higrófito; ocorre na Mata Atlântica e nas restingas, sendo característica de beira de mata e clareira; prefere matas secundárias; encontrada também em capoeiras novas (SANCHOTENE, 1985; MARCHIORI, 1997a; LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

Chá das folhas é usado para tratar doenças do fígado, enxaquecas, epilepsia, bronquite, asma e coqueluche, sendo empregado também como diurético e calmante (SANCHOTENE, 1985; BACKES & IRGANG, 2002). Já foram isolados flavonóides das folhas e cumarinas nos caules e folhas (SIMÕES *et al.* 1998).

⊕ *Dodonaea viscosa* Jacq. – Família Sapindaceae

Arbusto ou arvoreta de pequeno porte (até 8 m), decídua, com folhas viscosas, isto é, com muita resina; pioneira, heliófita, seletiva xerófito, típica de terrenos arenosos e alterados da costa litorânea, sendo uma planta dominante que pode constituir formações quase puras (GONÇALVES, 1995; BRACK *et al.*, 1998; LORENZI, 1998).

As partes aéreas são usadas como antifebril e adstringente, para reumatismo e cólicas intestinais; as folhas possuem ácidos diterpênicos, taninos, flavonóides e ácido

clorogênico; a casca possui ácido clorogênico e leucoantocianidinas (SIMÕES *et al.*, 1998). Já foram isolados flavonóides, óleos essenciais, terpenos, saponinas e taninos das partes aéreas (SACHDEV & KULSHRESHTHA, 1983, 1986; WAGNER *et al.*, 1987; SIMÕES *et al.*, 1998; ORTEGA *et al.*, 2001).

⊕ ***Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong – Família Mimosaceae**

Árvore de grande porte (até 40 m), caducifólia, pioneira, heliófita e seletiva higrófila; ocorre nas florestas pluviais e semidecíduas, em locais cobertos por mata primária, onde apresenta baixos valores em abundância e frequência; é mais comum em capoeirões e matas abertas ao longo de cursos d'água; difunde-se facilmente sobre os campos (BURKART, 1979; MARCHIORI, 1997b; LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

A casca e os frutos contêm grande quantidade de saponinas, podendo causar irritações em mucosas (BURKART, 1979; MARCHIORI, 1997b; BACKES & IRGANG, 2002). A espécie é citada como uma planta medicinal rica em saponinas por MIMAKI *et al.* (2003). É usada como forrageira, entretanto os frutos podem ser tóxicos para bovinos, causando fotossensibilização e abortos (TOKARNIA *et al.*, 1999).

⊕ ***Erythroxylum argentinum* O. E. Schulz – Família Erythroxylaceae**

Árvore de pequena altura (até 8 m), folhagem persistente, rarefazendo-se eventualmente; pioneira, heliófita; suporta variações na temperatura, porém sensível à seca; ocorre em quase todos sistemas florestais, sendo característica da Mata Atlântica e das restingas litorâneas; encontrada em capoeiras e também em campos (AMARAL-JR., 1980; SANCHOTENE, 1985; SOBRAL, 1987; BACKES & IRGANG, 2002).

É citada como medicinal, sendo empregada como digestiva e para sinusite, além de apresentar propriedades antiinflamatórias (SANCHOTENE, 1985; CHAVES *et al.*, 1988; BACKES & IRGANG, 2002). Das folhas já foram isolados flavonóides e alcalóides (CHAVES *et al.*, 1988; ZUANAZZI *et al.*, 1990; ZUANAZZI *et al.*, 2001).

⊕ ***Luehea divaricata* Mart. – Família Tiliaceae**

Árvore de grande porte (até 30 m), caducifólia, pioneira, heliófita e seletiva higrófila, típica de florestas de solos aluviais, sendo emergente nestas formações (LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

É empregada como anti-reumática, antidiarréica, antiséptica, expectorante, depurativa, entre outros (LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002). Análises fitoquímicas demonstraram a presença de flavonóides, taninos e triterpenos (LOPES *et al.*, 1989; TANAKA *et al.*, 2003).

✦ ***Myrsine guianensis* (Aubl.) Kuntze – Família Myrsinaceae**

Árvore de médio porte (até 20 m), heliófita, pioneira, seletiva higrófila. Característica de vegetação secundária, ocorre em agrupamentos mais ou menos densos; comum também em restingas (LORENZI, 2000; JUNG-MENDAÇOLLI & BERNACCI, 2001).

É usada na medicina popular como antiséptica, sendo que as folhas apresentam pontuações glandulares dispersas e contém terpenos (JANUÁRIO *et al.*, 1992). Também já foram citadas quinonas e substâncias tânicas na casca (CALLE *et al.*, 2000; JUNG-MENDAÇOLLI & BERNACCI, 2001).

✦ ***Ocotea puberula* (Rich.) Nees – Família Lauraceae**

Árvore de médio porte (até 25 m), perenifólia, pioneira, heliófita, indiferente às condições físicas do solo. Ocorre em todas as formações florestais; invade capoeiras, chegando a dominar um determinado estágio da sucessão secundária; ocorre também em clareiras de matas (LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002). Estudos anteriores indicaram a presença de alguns alcalóides nas partes aéreas (BARALLE *et al.*, 1972).

✦ ***Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. – Família Caesalpiniaceae**

Árvore de grande porte (até 40 m), caducifólia, pioneira, heliófita; ocorre na floresta estacional do Alto Uruguai, preferindo solos bem drenados, ao longo de rios. A casca produz taninos (MARCHIORI, 1997b; LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

✦ ***Psychotria leiocarpa* Cham. & Schldtl – Família Rubiaceae**

Arbusto de pequeno porte (até 2 m), perene, com um aumento na queda de folhas na frutificação. É típica do interior das matas pluviais, ocorrendo, portanto, na Mata Atlântica e nas Florestas do Alto Uruguai. Apesar de ser comum em ambientes sombreados, pode, entretanto, ser encontrada nas bordas das matas (RAMBO, 1962; DILLENBURG, 1978; LIMA, 1986). Estudos mais recentes demonstram a presença de alcalóides com atividade analgésica nas folhas desta espécie (ELISABETSKY *et al.*, 1997; LOPES, 1998; PARANHOS, 2003; HENRIQUES *et al.*, 2004).

✦ ***Roupala brasiliensis* Klotz. – Família Proteaceae**

Árvore de grande porte (até 30 m), decídua, heliófita. Característica da Mata Atlântica, onde apresenta frequência expressiva (LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

✦ ***Sapium glandulatum* (Vell.) Pax – Família Euphorbiaceae**

Árvore de porte médio (até 18 m), com látex abundante, decídua, pioneira, heliófita, seletiva higrófila, resistente à seca e sensível à geada, cresce em qualquer tipo de solo.

Ocorre em várias formações florestais, sendo mais freqüente na Mata com Araucária; prefere o sub-bosque dos pinhais devastados, os capões e capoeiras do planalto; (SANCHOTENE, 1985; LORENZI, 2000; MARCHIORI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

O látex é muito cáustico e esbranquiçado, podendo causar inflamação quando em contato com os olhos (MARCHIORI, 2000).

✦ ***Schinus molle* L. – Família Anacardiaceae**

Árvore de médio porte (até 20 m), perenifólia, pioneira, heliófita, suporta seca e baixas temperaturas, bem como a salinidade moderada; ocorre em solos secos, arenosos, adaptando-se aos pouco férteis e pedregosos, ocorre predominantemente em áreas de campo, útil no melhoramento de solos (SANCHOTENE, 1985; FLEIG, 1989; BACKES & IRGANG, 2002).

A casca é adstringente, sendo usada em curtumes; o cozimento da mesma tem ação tônica, diurética, emenagoga, antidiarréica, antiinflamatória, antiséptica e cicatrizante; o córtex possui resina impregnada de terebentina, sendo a goma resinosa usada como purgativa, emenagoga, em problemas respiratórios e urinários; as folhas, que contém óleo-resina de cheiro forte e terebentináceo (FLEIG, 1989), são usadas como estimulantes, anti-reumáticas, antiespasmódicas, anti-hemorragicas, antibacteriano e cicatrizante; a planta pode causar alergias semelhantes as da *Lithraea brasiliensis* (SANCHOTENE, 1985; SIMÕES *et al.*, 1998). Nas folhas, foram detectados flavonóides e acúmulo de lipídios; e os frutos acumulam óleo essencial com mono e sesquiterpenos, ácidos triterpenóides e leucoantocianidinas (POZZO-BALBI *et al.*, 1978; SIMÕES *et al.*, 1998).

✦ ***Sorocea bonplandii* (Baill.) Burger, Lanj. & Boer – Família Moraceae**

Árvore de pequeno porte (até 9 m), perenifólia, com látex leitoso, amarelo-avermelhado, ciófito, seletiva higrófito, indiferente quanto às condições de solo; via de regra, é encontrada formando agrupamentos, principalmente quando jovem; compõe o estrato médio das matas, apresentando elevados valores de densidade e freqüência, podendo ocorrer também em capoeirões com estágio avançado de regeneração (SANCHOTENE, 1985; MARCHIORI, 1997a; LORENZI, 1998; BACKES & IRGANG, 2002).

O látex apresenta propriedades curativas (SANCHOTENE, 1985). Análises fitoquímicas das folhas detectaram a presença de alcalóides, flavonas, flavonóis, saponinas, triterpenos, fenóis, taninos e xantonas (HANO *et al.*, 1995; GONZALEZ *et al.* 2001).

✦ ***Trema micrantha* (L.) Blume – Família Ulmaceae**

Árvore de médio porte (até 20 m), perenifólia, pioneira, heliófita; ocorre em solos com boa fertilidade ou não, desde que não sejam muito úmidos; característica de matas secundárias em regeneração, surgindo de maneira explosiva, quando há bastante disponibilidade de luz; comum também em clareiras ou beira de matas (SANCHOTENE, 1985; LORENZI, 2000; BACKES & IRGANG, 2002).

As folhas são usadas como forragem para animais, apresentando boa palatabilidade; o córtex possui propriedades adstringentes; o tronco fornece resina (SANCHOTENE, 1985; BACKES & IRGANG, 2002). Apesar do uso como forragem, TRAVERSO *et al.* (2003) relatam um caso de intoxicação natural pela espécie em caprinos. As folhas são citadas como medicinais, sendo empregadas em doenças de pele, sífilis e reumatismo, e contém alcalóides e terpenóides (FRIMEL *et al.*, 2000).

PREPARO DO MATERIAL VEGETAL

Após a abertura dos envelopes com aquênios de alface, aqueles que não eram usados imediatamente foram transferidos para um vidro âmbar. Tanto os envelopes fechados quanto o vidro foram mantidos em ambiente seco, com temperatura entre 16 e 20°C.

O material coletado das 15 espécies teste foi seco à sombra em temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), sobre papel absorvente (FALKENBERG *et al.*, 2003), sendo utilizado para preparo dos extratos após 10 dias.

EXTRATOS AQUOSOS

Foi utilizado o método de maceração estática (SOARES & VIEIRA, 2000) para a obtenção dos extratos, sendo que se usou tanto água fria como quente para a extração, seguindo as proposições de RUTHERFORD & POWRIE (1993) e AQUILA (2000), respectivamente.

Para as espécies teste de folhas pequenas, foram usadas as folhas secas inteiras no preparo dos extratos aquosos. Já para aquelas com folhas grandes, foram realizados cortes grosseiros para que o material ficasse completamente coberto pela água dentro do frasco tipo Erlenmeyer utilizado no desenvolvimento da técnica.

Para a extração à quente, as folhas foram imersas em água destilada à aproximadamente 80°C, nas concentrações de 2 e 4% (p/v), e mantidas à temperatura ambiente (25°C) por 24h, sem agitação. Posteriormente, os extratos foram filtrados em funil forrado com gaze,

seguindo-se uma centrifugação a 1308xg por 10 min, conforme indicado por UNGARETTI (2000).

Para a extração a frio, as folhas foram imersas em água destilada fria, na proporção de 10% (p/v) durante 24h, à 8°C, no escuro, sem agitação. Após este período, o material foi filtrado, centrifugado e o sobrenadante diluído para se obter os extratos a 2 e 4%, que foram, então, empregadas nos bioensaios.

Os extratos preparados foram usados imediatamente nos bioensaios. Uma pequena quantidade foi armazenada sob refrigeração, por no máximo 3 dias, para a sua caracterização quanto ao potencial osmótico.

Caracterização físico-química dos extratos

Os extratos aquosos foram caracterizados quanto ao potencial osmótico, estimado pelo método de Chardakov (SALISBURY & ROSS, 1992); pH no início e fim dos bioensaios, aferido com pHmetro (pH inicial) ou com papel indicador (pH final); e rendimento. Para esta última medida, 3 ml de cada extrato foram colocados em um tubo de ensaio, pesado previamente, sendo os tubos acondicionados em estufa, com temperatura aproximada de 60°C, até evaporação total do solvente. Após, os tubos foram novamente pesados, procedendo-se, então, o cálculo do resíduo através da fórmula:

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

{ P_f: peso final do tubo de ensaio
P_i: peso inicial do tubo de ensaio
V_{ext}: volume de extrato usado, no caso 3 ml.

REAÇÕES DE DETECÇÃO DE SAPONINAS, TANINOS E FLAVONÓIDES

Para todas as espécies testadas, foram realizadas análises parciais da composição fitoquímica das folhas, usando-se a metodologia descrita por FALKENBERG *et al.* (2003). Foram escolhidos apenas três grupos de metabólitos secundários, as saponinas, os taninos e os flavonóides, visto que essas substâncias podem apresentar solubilidade em água, solvente usado na extração dos aleloquímicos.

- ⊕ **Extratos** – para esta análise, os extratos foram preparados separadamente. Foi usado o pó das folhas secas das plantas teste e água destilada, na concentração de 5% (p/v), mantendo-se em banho-maria fervente por 15 minutos. Após esse período, seguiu-se o

resfriamento e a filtração dos extratos. Para realização de cada teste, foi colocada uma pequena quantidade dos extratos (± 5 ml) em tubos de ensaio.

- ⊕ **Saponinas** – Para detectar a presença destas moléculas, foi empregado o teste de formação e persistência de espuma estável na presença de ácidos minerais diluídos.

Método: com os extratos nos tubos, seguiram-se as seguintes operações:

1. Agitação enérgica por 10 segundos (para cima e para baixo, com vigor), tapando-se o tubo com dedo-protegido.
2. Medição da altura do anel de espuma formado: logo após a agitação, 10 minutos depois da agitação e após a adição de ácido clorídrico 10%.

- ⊕ **Taninos** – Foi empregada a reação de precipitação com gelatina para a detecção destes metabólitos, não sendo realizadas, contudo, diferenciações entre os taninos condensados e os hidrolisáveis.

Método: Foram adicionadas 3 gotas de gelatina 1% aos extratos. Na presença de taninos, a gelatina precipita, tornando a solução turva.

- ⊕ **Flavonóides** – Neste teste, foi empregada a reação com cianidina.

Método: Adicionou-se aos extratos 5 ml de metanol e 1 ml de HCl concentrado, observando-se a coloração formada. Após, colocou-se cerca de 100 mg de magnésio em pó. O desenvolvimento de coloração avermelhada indica a presença predominante de flavonóis e a coloração laranja, a de flavonas.

BIOENSAIOS DE GERMINAÇÃO

Este teste foi conduzido em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com 2 discos de papel-filtro, umedecidos com 6 ml de extrato ou água destilada no caso dos controles. Foram semeados 20 aquênios de alface por placa, seguindo-se a incubação por 96 h em estufa B.O.D. à 25°C, fotoperíodo de 12 h e irradiância de $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

O acompanhamento foi feito a cada 12 h, totalizando 96 h. Como critério para avaliação da germinação, foi usada a curvatura geotrópica da radícula, conforme indicado por LABOURIAU (1983). Os aquênios que apresentaram falsa germinação por embebição não foram contabilizados nos resultados.

Avaliação da viabilidade dos aquênios não germinados no bioensaio

Após o período de 96 h do bioensaio, os aquênios não germinados foram lavados em água destilada e transferidos para placas de Petri, forradas com papel-filtro umedecido com água. Seguiu-se uma nova incubação por 48 h em estufa B. O. D., nas mesmas condições

descritas acima. Após esse período, os aquênios que ainda assim não germinaram foram submetidos ao teste do tetrazólio, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1980).

- ⊕ **Teste do tetrazólio** – Foi retirada a casca dos aquênios com auxílio de uma pinça, obtendo-se apenas os embriões. Estes foram colocados em tubos de ensaio, ficando totalmente imersos em solução aquosa a 1% de 2, 3, 4-trifenil cloreto de tetrazólio. Os tubos foram incubados em estufa a 30°C, no escuro, por 24 h. Depois desse período, os embriões foram analisados, separando-os em duas categorias: (1) parcial ou totalmente corados de vermelho – viáveis; e (2) não corados de vermelho – não viáveis.

Parâmetros de germinação avaliados

Com o registro do número de aquênios germinados a cada 12 h, foram calculados os seguintes índices, conforme LABOURIAU (1983):

- ⊕ Germinabilidade (G)
Somatório dos aquênios germinados durante o bioensaio ($\sum n_i$).
- ⊕ Tempo médio de germinação (Tm)
 $Tm = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$
- ⊕ Velocidade média de germinação (Vm)
 $Vm = 1/Tm$
- ⊕ Entropia informacional da germinação (E)
 $E = -\sum (f_i \log_2 f_i)$

$$\left\{ \begin{array}{l} n_i: \text{n}^\circ \text{ de aquênios que germinam em cada tempo } t_i \\ t_i: \text{tempo entre o início do experimento e a } i\text{-ésima (dia ou hora) observação.} \\ f_i: \text{freqüência relativa de germinação.} \end{array} \right.$$

BIOENSAIOS DE CRESCIMENTO

Para este bioensaio, os aquênios de alface foram previamente germinados em placas de Petri, forradas com papel-filtro umedecido com água destilada. Depois de aproximadamente 24 h em estufa B.O.D., as plântulas que apresentaram em torno de 1 mm de comprimento foram empregadas no teste de crescimento.

Essas plântulas foram transplantadas para placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com 2 discos de papel-filtro, umedecidos com 6 ml de extrato ou água destilada. Depois de montadas, as placas foram incubadas em estufa B.O.D. nas mesmas condições descritas no bioensaio de germinação. Após 6 dias, o comprimento do eixo hipocótilo-radícula das plântulas foi medido com auxílio de papel milimetrado.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Nos bioensaios realizados, foi utilizado um delineamento experimental em blocos casualizados com 5 tratamentos: 1 controle e 4 extratos (quente 2%, quente 4%, frio 2% e frio 4%). Cada tratamento teve 6 repetições nos bioensaios de germinação e 12 repetições nos de crescimento, totalizando 120 aquênios por tratamento em cada bioensaio.

Para análise do processo de germinação, como um todo, foram usados os valores absolutos registrados a cada 12 h de avaliação, sendo cada placa de Petri uma unidade amostral. Para os índices de germinação, utilizaram-se os valores calculados para cada placa (unidade amostral), obtendo-se as médias e desvios padrões de cada tratamento.

Já na análise do crescimento das plântulas de alface, foram calculadas as médias do tamanho do hipocótilo e da radícula das 10 plântulas de cada placa, sendo estas médias avaliadas estatisticamente. Na apresentação dos dados, foram usadas as médias de cada tratamento.

Os dados foram avaliados por análise de variância, através de aleatorização, usando-se o programa estatístico MULTIV (PILLAR, 2001). Para todas as análises, foi escolhido um nível de significância α de 5%.

 **RESULTADOS****CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS EXTRATOS**

Tanto nos bioensaios de germinação, como nos de crescimento, os valores iniciais de pH oscilaram entre 5,0 e 8,0 aproximadamente (Tab. 2). Ao término do período de incubação das placas de Petri, os valores de pH se mantiveram dentro deste intervalo, apresentando pequenos incrementos, quando analisados isoladamente.

A estimativa do potencial osmótico pelo método de Chardakov revelou valores baixos para os extratos, que variaram de -0,025 a -0,074 (Tab. 2). Considerando-se os extratos mais concentrados quentes e frios de algumas espécies, tais como *C. canjerana* e *E. contortisiliquum*, foram verificados potenciais osmóticos mais altos. Constatou-se, também, que alguns extratos quentes apresentaram valores mais altos em relação aos extratos frios, principalmente quando se considera a concentração de 4%.

Os valores de resíduo dos extratos variaram de 0,333 a 10,0 mg/ml (Tab. 2). À semelhança dos dados de potencial osmótico, foi observada uma tendência de um maior rendimento nos extratos mais concentrados, bem como nos extratos quentes em relação aos frios. Porém, em alguns casos a concentração e a temperatura de extração não influenciaram nos valores de resíduo, sendo que o mesmo ocorreu para alguns dados de potencial osmótico.

TABELA 2. Características físico-químicas dos extratos aquosos.

		Germinação		Crescimento		PO	Resíduo	
		pH _i	pH _f	pH _i	pH _f	(MPa)	(mg/ml)	
<i>Cabralea</i>	<i>canjerana</i>	Controle	5,70	6,00	5,73	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	6,04	6,00	6,07	7,00	-0,025	1,333
		Frio 4%	5,97	7,00	6,00	7,00	-0,037	3,333
		Quente 2%	5,48	6,00	5,93	7,00	-0,025	1,333
		Quente 4%	5,87	7,00	6,03	8,00	-0,049	5,000
<i>Cecropia</i>	<i>pachystachya</i>	Controle	5,80	5,00	5,84	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	5,90	6,00	5,90	6,00	-0,025	2,000
		Frio 4%	5,81	7,00	5,81	7,00	-0,025	4,000
		Quente 2%	5,88	6,00	5,91	7,00	-0,037	3,333
		Quente 4%	5,80	7,00	5,84	7,00	-0,049	4,333
<i>Dodonaea</i>	<i>viscosa</i>	Controle	5,40	5,00	5,39	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	5,74	6,00	5,78	6,00	-0,037	3,667
		Frio 4%	5,68	6,00	5,72	6,00	-0,037	7,333
		Quente 2%	5,42	6,00	5,47	6,00	-0,049	6,333
		Quente 4%	5,40	5,00	5,48	7,00	-0,074	10,667
<i>Enterolobium</i>	<i>contortisiliquum</i>	Controle	5,55	5,00	5,50	5,00	0,000	0,000
		Frio 2%	6,30	6,00	6,42	6,00	-0,025	2,000
		Frio 4%	6,31	6,00	6,39	6,00	-0,037	4,667
		Quente 2%	5,29	6,00	6,09	6,00	-0,025	1,333
		Quente 4%	5,14	6,00	6,27	7,00	-0,049	5,333
<i>Erythroxylum</i>	<i>argentinum</i>	Controle	5,40	6,00	5,39	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	5,32	6,00	5,10	7,00	-0,025	2,333
		Frio 4%	5,22	6,00	5,16	6,00	-0,025	3,000
		Quente 2%	5,35	6,00	5,25	6,00	-0,025	1,667
		Quente 4%	5,16	7,00	5,26	7,00	-0,049	5,000
<i>Luehea</i>	<i>divaricata</i>	Controle	5,40	6,00	5,52	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	5,57	6,00	5,56	6,00	-0,025	1,000
		Frio 4%	5,50	7,00	5,50	7,00	-0,025	2,667
		Quente 2%	5,72	6,00	5,72	6,00	-0,025	1,000
		Quente 4%	5,58	7,00	5,59	7,00	-0,025	2,667
<i>Myrsine</i>	<i>guianensis</i>	Controle	5,70	6,00	5,70	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	5,86	6,00	5,94	6,00	-0,025	0,667
		Frio 4%	5,86	6,00	5,85	6,00	-0,025	2,000
		Quente 2%	5,70	6,00	5,78	6,00	-0,025	0,667
		Quente 4%	5,57	7,00	5,78	7,00	-0,037	2,333
<i>Ocotea</i>	<i>puberula</i>	Controle	5,36	6,00	5,17	6,00	0,000	0,000
		Frio 2%	5,17	7,00	5,24	7,00	-0,025	0,667
		Frio 4%	5,10	7,00	5,19	7,00	-0,037	4,667
		Quente 2%	5,78	7,00	5,29	7,00	-0,025	2,233
		Quente 4%	5,19	7,00	5,00	7,00	-0,049	6,000

H_i: pH inicial; pH_f: pH final; PO: potencial osmótico.

TABELA 2. Continuação...

		Germinação		Crescimento		PO	Resíduo
		pH _i	pH _f	pH _i	pH _f	(MPa)	(mg/ml)
<i>Peltophorum dubium</i>	Controle	5,45	6,00	5,40	6,00	0,000	0,000
	Frio 2%	5,66	6,00	5,67	6,00	-0,025	0,667
	Frio 4%	5,60	6,00	5,55	7,00	-0,025	1,667
	Quente 2%	5,53	6,00	5,53	6,00	-0,025	2,333
	Quente 4%	5,47	6,00	5,45	6,00	-0,037	2,667
<i>Psychotria leiocarpa</i>	Controle	5,36	6,00	6,16	6,00	0,000	0,000
	Frio 2%	5,78	6,00	5,86	6,00	-0,037	3,333
	Frio 4%	5,77	7,00	5,86	6,00	-0,049	5,000
	Quente 2%	5,17	6,00	5,33	6,00	-0,025	2,333
	Quente 4%	5,50	7,00	5,61	7,00	-0,074	10,000
<i>Roupala brasiliensis</i>	Controle	5,50	6,00	5,52	6,00	0,000	0,000
	Frio 2%	5,93	6,00	5,77	6,00	-0,025	0,333
	Frio 4%	5,79	6,00	5,67	6,00	-0,025	1,667
	Quente 2%	6,15	6,00	5,58	6,00	-0,025	0,333
	Quente 4%	5,60	6,00	5,55	6,00	-0,049	1,000
<i>Sapium glandulatum</i>	Controle	5,36	6,00	5,43	6,00	0,000	0,000
	Frio 2%	5,38	6,00	5,48	7,00	-0,025	2,667
	Frio 4%	5,34	7,00	5,43	7,00	-0,037	4,333
	Quente 2%	5,18	7,00	5,37	7,00	-0,025	2,333
	Quente 4%	5,33	7,00	5,33	7,00	-0,049	5,000
<i>Schinus molle</i>	Controle	5,50	6,00	5,50	6,00	0,000	0,000
	Frio 2%	6,12	7,00	5,69	6,00	-0,025	2,000
	Frio 4%	6,06	6,00	5,66	6,00	-0,049	3,000
	Quente 2%	5,64	6,00	5,58	6,00	-0,025	1,667
	Quente 4%	5,60	6,00	5,54	6,00	-0,049	1,667
<i>Sorocea bonplandii</i>	Controle	5,54	7,00	5,51	6,00	0,000	0,000
	Frio 2%	6,11	8,00	6,08	7,00	-0,025	2,000
	Frio 4%	6,06	7,00	6,03	7,00	-0,037	4,667
	Quente 2%	5,09	7,00	5,19	7,00	-0,025	3,333
	Quente 4%	5,35	7,00	5,63	7,00	-0,037	4,000
<i>Trema micrantha</i>	Controle	5,50	5,00	5,37	5,00	0,000	0,000
	Frio 2%	7,71	6,00	7,70	7,00	-0,037	2,000
	Frio 4%	7,77	6,00	7,62	7,00	-0,061	4,333
	Quente 2%	6,49	7,00	6,18	7,00	-0,037	4,333
	Quente 4%	6,43	7,00	6,57	8,00	-0,074	6,000

pH_i: pH inicial; pH_f: pH final; PO: potencial osmótico.

REAÇÕES DE DETECÇÃO DE SAPONINAS, TANINOS E FLAVONÓIDES

Os resultados das reações para detecção de saponinas, taninos e flavonóides são mostrados na Tab. 3. Particularmente em *M. guianensis*, o extrato preparado para as reações apresentou-se bastante viscoso, o que pode ter interferido em alguma das técnicas empregadas. A reação positiva para esses metabólitos variou conforme a espécie.

O desenvolvimento de espuma e sua persistência após repouso indicaram resultados positivos para saponinas. Para os taninos, as reações positivas caracterizaram-se pela turvação, após a adição de gelatina. Nos resultados positivos para flavonóides, foi possível detectar a predominância de flavonóis, em *E. argentinum* e *S. molle*, e de flavonas, em *C. pachystachya*, *E. contortisiliquum*, *P. dubium* e *T. micrantha*.

TABELA 3. Reações para detecção de possíveis aleloquímicos.

Espécie	Saponinas	Flavonóides	Taninos
<i>Cabrlea canjerana</i>	+	-	-
<i>Cecropia pachystachya</i>	+	+	+
<i>Dodonaea viscosa</i>	+	-	+
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	+	+	+
<i>Erythroxylum argentinum</i>	-	+	+
<i>Luehea divaricata</i>	+	-	+
<i>Myrsine guianensis</i>	-	-	+
<i>Ocotea puberula</i>	+	-	-
<i>Peltophorum dubium</i>	+	+	+
<i>Psychotria leiocarpa</i>	+	-	-
<i>Roupala brasiliensis</i>	+	-	+
<i>Sapium glandulatum</i>	+	-	+
<i>Schinus molle</i>	+	+	+
<i>Sorocea bonplandii</i>	-	-	-
<i>Trema micrantha</i>	+	+	+

(+) positivo; (-) negativo.

BIOENSAIOS DE GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO

1. *Cabralea canjerana*

O comportamento germinativo dos aquênios de alface foi significativamente afetado pelos extratos a 4%, em relação ao controle (Fig. 2). Conforme mostra a Tab. 4, estes extratos provocaram um aumento no tempo médio e na entropia informacional da germinação dos aquênios, bem como uma redução da velocidade média da germinação. Estes mesmos efeitos nos parâmetros de germinação também foram constatados para o extrato quente 2%, embora não tenha apresentado diferenças significativas na curva de germinação em relação ao controle. Comparando-se os efeitos causados pelos extratos frios e pelos quentes, não foram constatadas diferenças na germinação da alface.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições do bioensaio foi de 4,17%, 5,83%, 3,33%, 0% e 4,17%, respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

O crescimento das plântulas de alface foi afetado pelos extratos de concentração 4% (Fig. 3), observando-se uma redução significativa das radículas em relação ao controle. O tamanho médio do hipocótilo teve uma tendência de aumento no extrato frio a 2%, sendo que este efeito de promoção mostrou-se significativo no extrato quente a 2%. Comparando-se os efeitos dos extratos em função da temperatura de extração, constataram-se diferenças significativas apenas entre extratos frios e quentes de concentrações distintas.

Apenas no tratamento quente 4%, as plântulas de alface apresentaram radículas frágeis e regiões escurecidas. Nos demais, a aparência das plântulas era normal quando comparadas ao controle.

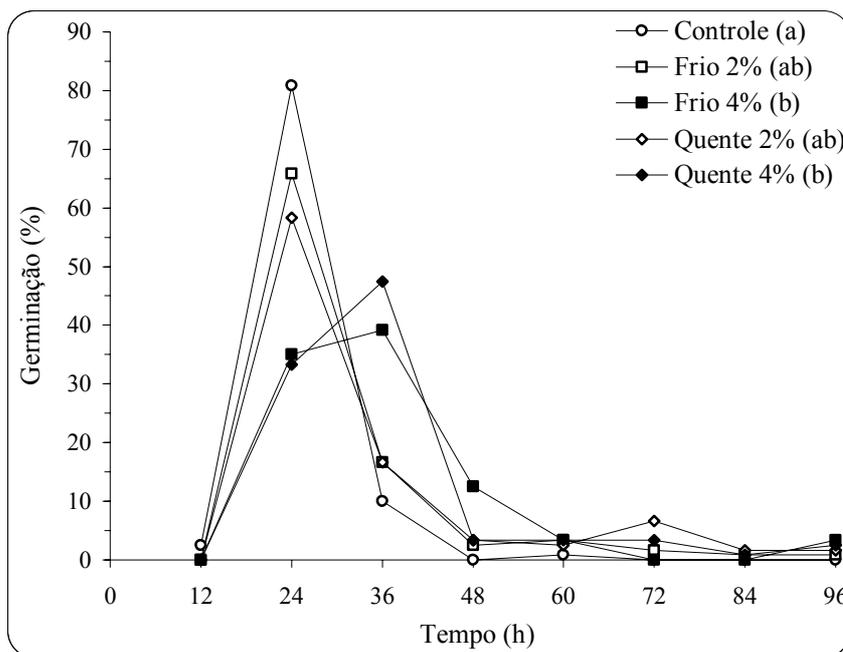


FIGURA 2. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *C. canjerana*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 4. Efeito dos extratos de *C. canjerana* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	94,17 ± 8,036 a	25,301 ± 0,618 a	3,954.10 ⁻² ± 0,098.10 ⁻² a	0,661 ± 0,147 a
Frio 2%	91,67 ± 3,819 a	30,223 ± 4,274 ab	3,351.10 ⁻² ± 0,448.10 ⁻² ab	1,201 ± 0,532 ab
Frio 4%	93,33 ± 3,819 a	36,127 ± 2,635 b	2,778.10 ⁻² ± 0,205.10 ⁻² b	1,697 ± 0,236 b
Quente 2%	90,83 ± 6,292 a	34,093 ± 3,555 b	2,954.10 ⁻² ± 0,306.10 ⁻² b	1,514 ± 0,318 b
Quente 4%	94,17 ± 1,443 a	36,324 ± 2,281 b	2,760.10 ⁻² ± 0,178.10 ⁻² b	1,593 ± 0,260 b

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

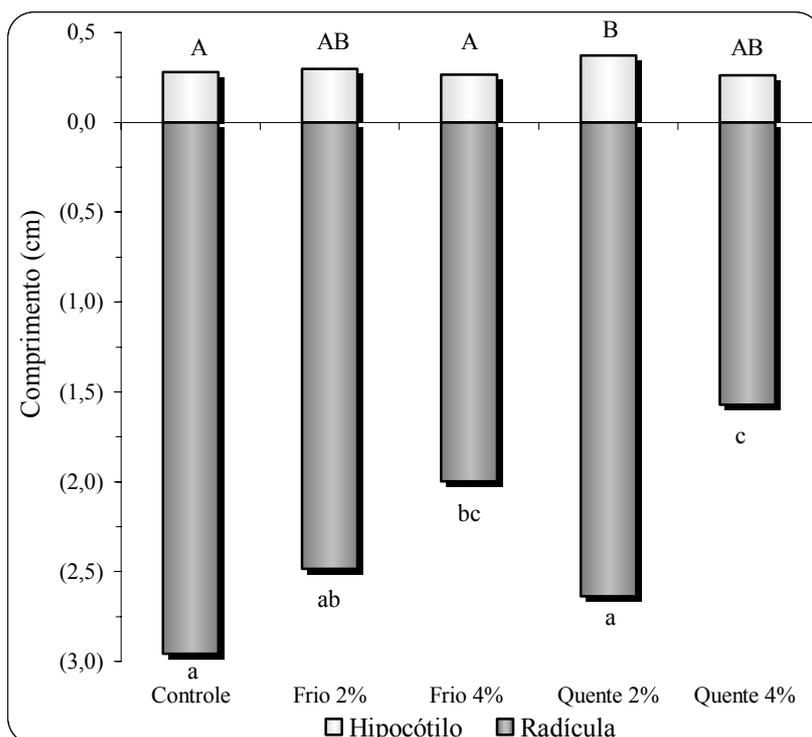


FIGURA 3. Influência dos extratos de *C. canjerana* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

2. *Cecropia pachystachya*

O comportamento germinativo dos aquênios de alface foi significativamente afetado pelos extratos frios e pelo quente 4%, em relação ao controle (Fig. 4). Entretanto, constataram-se alterações significativas nos parâmetros de germinação apenas nos tratamentos com extratos frio 2% (Vm e E) e quente 4% (Tm, Vm e E) (Tab. 5). Os demais extratos mostraram uma tendência de aumento do tempo médio e da entropia de germinação da alface, bem como uma tendência de redução da velocidade média, quando comparados ao controle.

Constataram-se diferenças entre a curva de germinação do extrato quente 2% e dos demais extratos (Fig. 4). Além disso, a germinabilidade dos aquênios nos extratos frio 2% e quente 4% também diferiram significativamente (Tab. 5). Entretanto, os demais parâmetros não apresentaram diferenças entre os extratos frios e quentes.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições do bioensaio foi de 1,67%, 0%, 0%, 1,67% e 4,17% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

Em relação ao controle, o tamanho das radículas de alface foi reduzido significativamente por todos extratos (Fig. 5), sendo que os hipocótilos não foram afetados. Comparando-se os efeitos dos extratos em função da temperatura de extração, constataram-se diferenças significativas entre os dois extratos de concentração 2%, bem como entre o extrato quente 4% e os frios, no que se refere ao tamanho das radículas.

A aparência das plântulas submetidas aos extratos estava normal, não sendo observadas pontos escuros nem radículas frágeis e quebradiças. Porém, em todos os tratamentos, as radículas pareciam mais espessas e conter mais pêlos em relação ao controle.

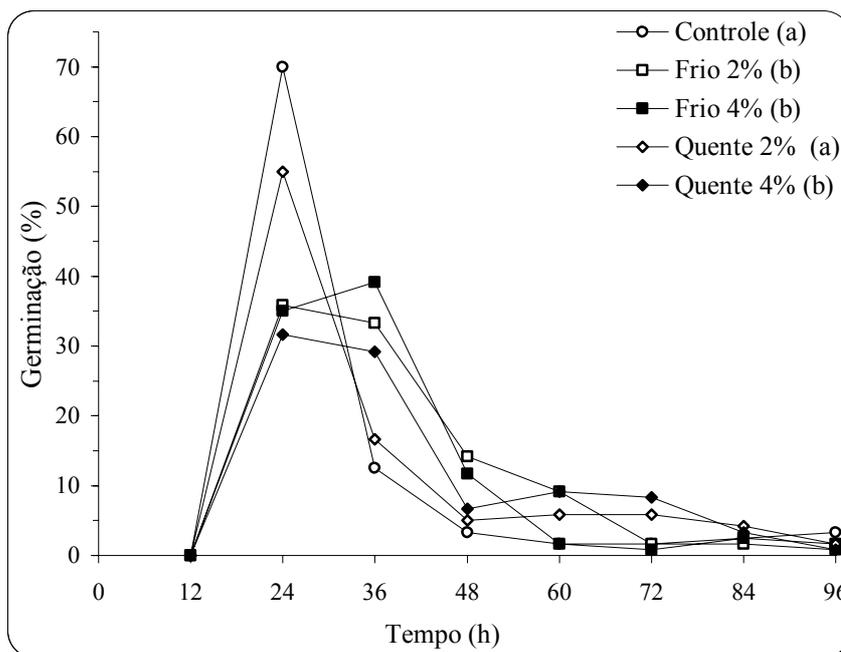


FIGURA 4. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *C. pachystachya*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 5. Efeito dos extratos de *C. pachystachya* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	95,00 ± 6,324 ab	32,070 ± 3,182 a	3,144.10 ⁻² ± 0,311.10 ⁻² a	1,184 ± 0,131 a
Frio 2%	96,67 ± 4,082 a	37,592 ± 3,761 ab	2,681.10 ⁻² ± 0,253.10 ⁻² b	1,749 ± 0,328 b
Frio 4%	92,50 ± 8,216 ab	35,945 ± 5,303 ab	2,828.10 ⁻² ± 0,374.10 ⁻² ab	1,576 ± 0,267 ab
Quente 2%	94,17 ± 3,764 ab	36,525 ± 4,428 ab	2,775.10 ⁻² ± 0,372.10 ⁻² ab	1,654 ± 0,405 ab
Quente 4%	89,17 ± 5,845 b	40,958 ± 3,030 b	2,453.10 ⁻² ± 0,187.10 ⁻² b	1,999 ± 0,258 b

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

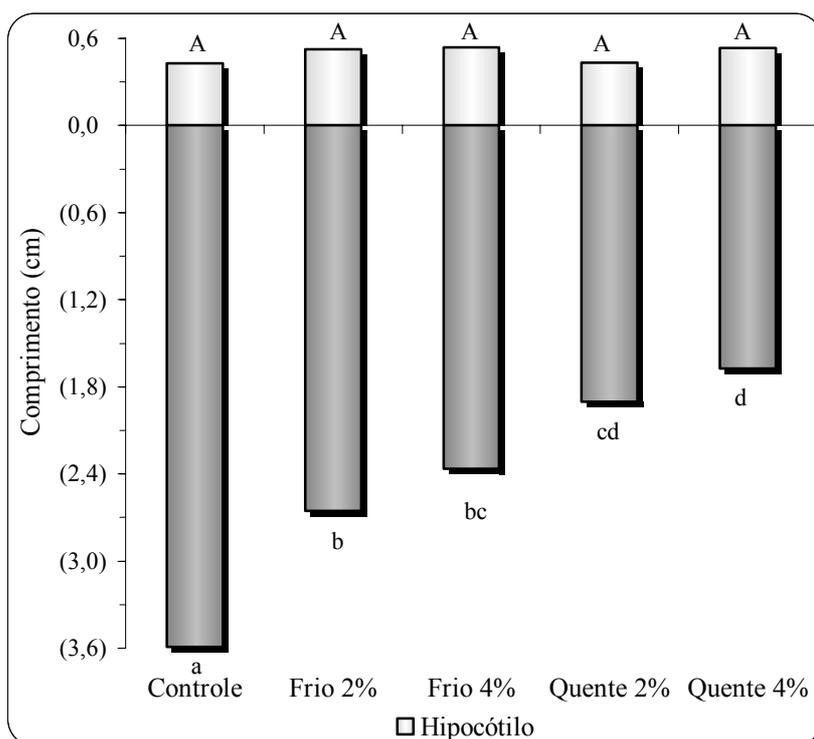


FIGURA 5. Influência dos extratos de *C. pachystachya* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

3. *Dodonaea viscosa*

Em relação ao controle, o comportamento germinativo dos aquênios de alface foi significativamente afetado por ambos extratos frios e pelo extrato quente a 4% (Fig. 6). A germinabilidade foi reduzida significativamente apenas nos aquênios submetidos ao extrato quente 4% (Tab. 6). Os extratos mais concentrados provocaram um atraso na germinação da alface quando comparados ao controle, o que se confirma pelas diferenças no tempo e na velocidade média, bem como na entropia de germinação. Já com o extrato frio a 2%, observou-se uma tendência de aumento no tempo médio de germinação, sendo a velocidade média e a entropia informacional afetadas significativamente, em relação ao controle. Considerando-se os efeitos dos extratos conforme a temperatura de extração, foi observada uma diferença somente na germinabilidade dos aquênios entre os tratamentos frio 2% e quente 4%.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 1,67%, 4,17%, 3,33%, 8,3% e 17,5% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

O tamanho médio do hipocótilo apresentou uma tendência de redução no tratamento com o extrato quente 2%, quando comparado ao controle (Fig. 7). Entretanto, este efeito de inibição mostrou-se significativo apenas no tratamento quente a 4%. O comprimento da radícula da alface foi significativamente menor nesses dois tratamentos. Comparando-se os efeitos dos extratos em função da temperatura de extração, verificaram-se diferenças significativas no tamanho das plântulas de alface entre os extratos quentes e frios.

Nos tratamentos com o extrato frio 4% e com os quentes, as plântulas de alface apresentaram radículas frágeis e quebradiças, além de regiões escurecidas.

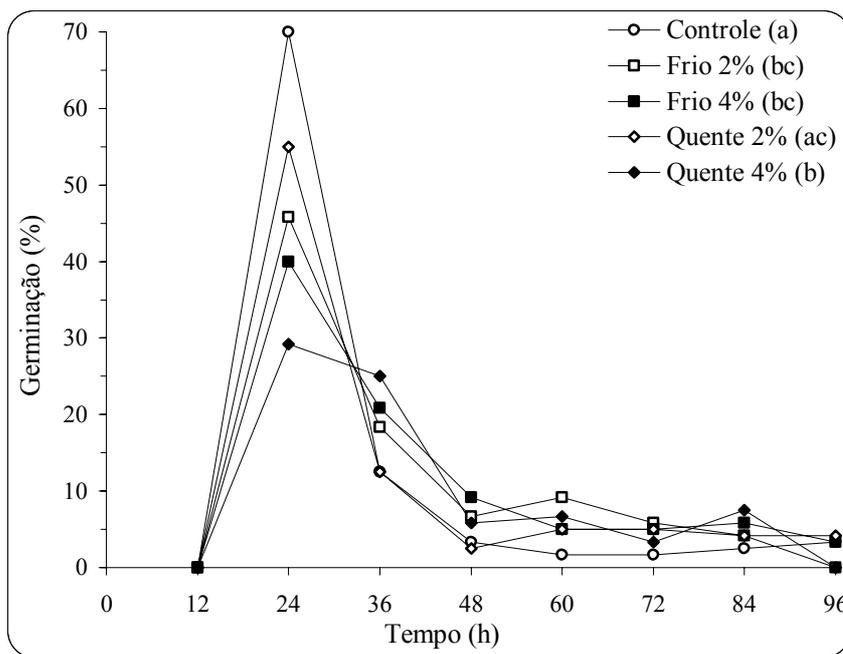


FIGURA 6. Comportamento germinativo da alfaca sob ação dos extratos de *D. viscosa*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 6. Efeito dos extratos de *D. viscosa* nos parâmetros de germinação de alfaca.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	95,00 ± 6,325 a	32,070 ± 3,182 a	3,144.10 ⁻² ± 0,311.10 ⁻² a	1,184 ± 0,131 a
Frio 2%	90,00 ± 10,000 a	37,736 ± 3,193 ab	2,664.10 ⁻² ± 0,225.10 ⁻² b	1,839 ± 0,163 b
Frio 4%	89,17 ± 6,646 ab	40,592 ± 5,010 b	2,494.10 ⁻² ± 0,298.10 ⁻² b	2,032 ± 0,240 b
Quente 2%	87,50 ± 8,803 ab	36,911 ± 5,900 ab	2,770.10 ⁻² ± 0,459.10 ⁻² ab	1,590 ± 0,484 ab
Quente 4%	77,50 ± 14,404 b	40,336 ± 2,616 b	2,488.10 ⁻² ± 0,156.10 ⁻² b	1,987 ± 0,200 b

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

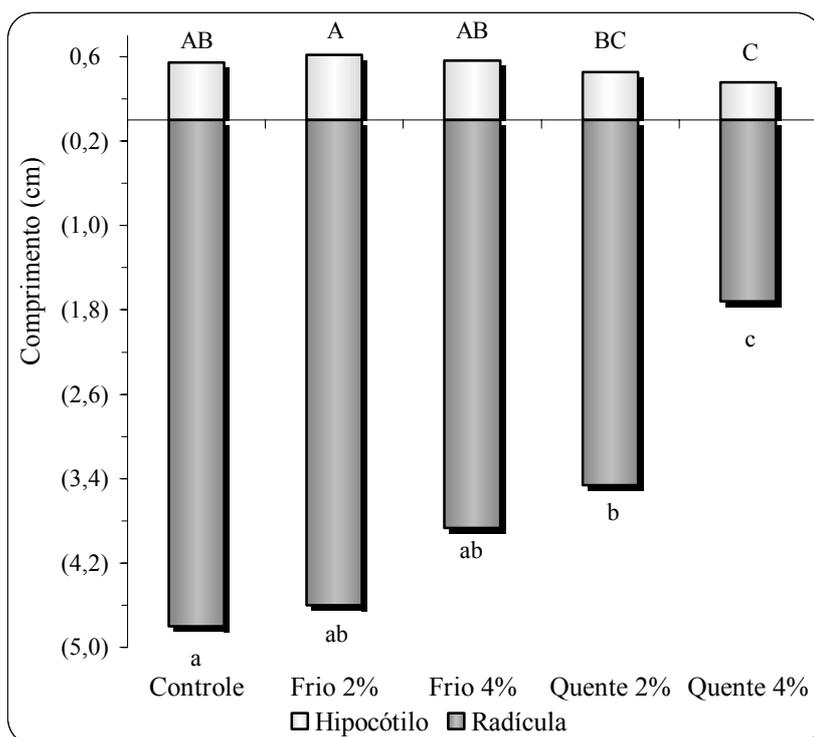


FIGURA 7. Influência dos extratos de *D. viscosa* no crescimento inicial de alfaca. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

4. *Enterolobium contortisiliquum*

Conforme mostra a Fig. 8, o comportamento germinativo da alface foi alterado pelo extrato frio 4% e por ambos extratos quentes, em relação ao controle. Esta alteração foi confirmada por aumentos no tempo médio e por reduções na velocidade média de germinação nestes tratamentos (Tab. 7). A entropia da germinação também foi afetada pelos tratamentos, sendo que no extrato quente 4% o aumento não foi significativo. No tratamento frio 2%, a entropia de germinação dos aquênios foi significativamente maior que a do controle. Entre os extratos frios e quentes, não houve diferenças significativas na germinação da alface.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 1,67%, 0%, 0,83%, 0,83% e 1,67% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

O crescimento da alface foi afetado pelos extratos (Fig. 9), sendo que foi constatado um aumento significativo no tamanho do hipocótilo em todos os tratamentos, quando comparados ao controle. Também foi observado um comprimento maior das radículas. Porém, somente nos extratos mais concentrados este efeito foi significativo. Comparando-se os efeitos de extratos frios e quentes, foram verificadas diferenças no comprimento das radículas somente entre extratos de concentrações distintas.

Em todos os tratamentos, a aparência das plântulas de alface mostrou-se normal, sem o aspecto com pontos escurecidos citado para os bioensaios anteriores.

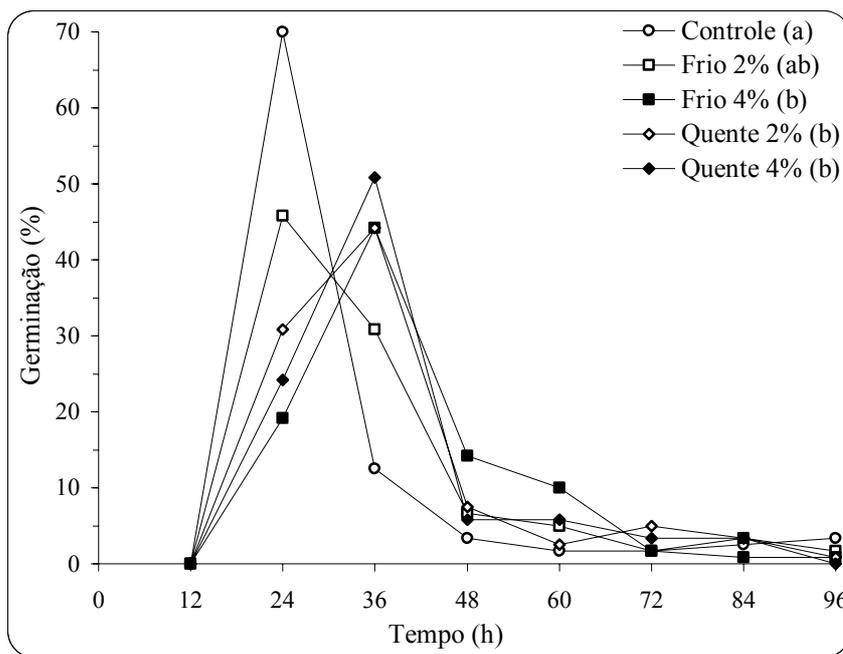


FIGURA 8. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *E. contortisiliquum*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 7. Efeito dos extratos de *E. contortisiliquum* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	95,00 ± 6,325 a	32,070 ± 3,182 a	3,144.10 ⁻² ± 0,311.10 ⁻² a	1,184 ± 0,131 a
Frio 2%	95,00 ± 6,325 a	35,065 ± 4,596 ab	2,888.10 ⁻² ± 0,334.10 ⁻² ab	1,629 ± 0,360 b
Frio 4%	90,83 ± 9,704 a	39,775 ± 2,516 b	2,522.10 ⁻² ± 0,158.10 ⁻² b	1,852 ± 0,228 b
Quente 2%	94,17 ± 5,845 a	37,817 ± 2,656 b	2,655.10 ⁻² ± 0,190.10 ⁻² b	1,717 ± 0,133 b
Quente 4%	93,33 ± 7,528 a	37,943 ± 3,748 b	2,658.10 ⁻² ± 0,270.10 ⁻² b	1,529 ± 0,282 ab

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

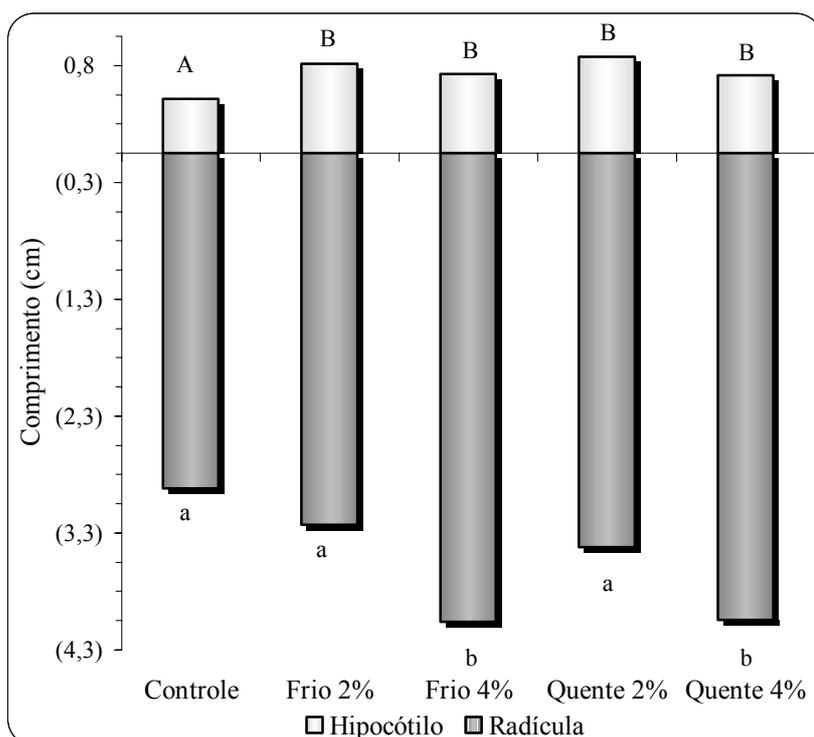


FIGURA 9. Influência dos extratos de *E. contortisiliquum* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

5. *Erythroxylum argentinum*

Os tratamentos com os extratos não afetaram o comportamento germinativo da alface, demonstrado na Fig. 10. Os parâmetros de germinação calculados reforçam este resultado (Tab. 8), exceto para os aquênios tratados com o extrato quente 4%. Neste caso, as diferenças no tempo e na velocidade média de germinação, em relação ao controle, foram significativas. Não se observaram diferenças entre os efeitos de extratos frios e quentes.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 0,83%, para o controle e para o frio 2%, e de 0% para os demais extratos.

O tamanho médio das radículas da alface foi significativamente reduzido pelo extrato frio mais concentrado e pelos dois extratos quentes (Fig. 11), quando comparados ao controle. No hipocótilo, foi constatado um crescimento significativo causado pelo extrato quente 4%, sendo que, nos demais, observou-se apenas uma tendência de aumento. Comparando-se os extratos quentes e frios, verificaram-se diferenças significativas no comprimento das radículas entre extratos de concentrações distintas, mas também entre os extratos de mesma concentração.

Foram observadas radículas escuras e mais espessas nos tratamentos mais concentrados. Nos tratamentos a 2%, as plântulas apresentaram um aspecto normal.

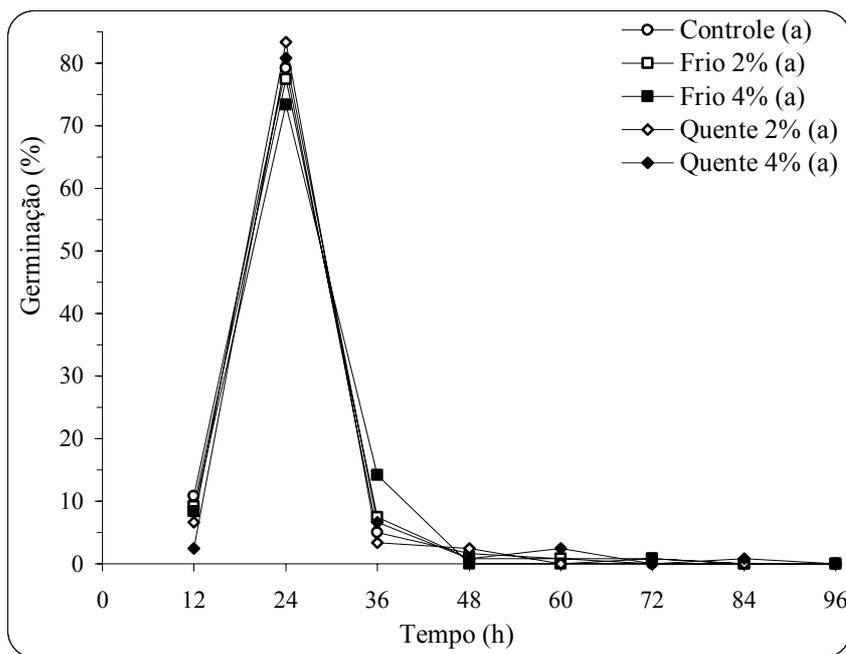


FIGURA 10. Comportamento germinativo da alfáce sob ação dos extratos de *E. argentinum*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 8. Efeito dos extratos de *E. argentinum* nos parâmetros de germinação de alfáce.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	97,50 ± 2,739 a	23,989 ± 1,271 a	4,178.10 ⁻² ± 0,209.10 ⁻² a	0,853 ± 0,400 a
Frio 2%	96,67 ± 2,582 a	24,716 ± 1,334 ab	4,056.10 ⁻² ± 0,221.10 ⁻² ab	0,875 ± 0,374 a
Frio 4%	96,67 ± 4,082 a	25,159 ± 1,321 ab	3,984.10 ⁻² ± 0,220.10 ⁻² ab	0,949 ± 0,374 a
Quente 2%	95,83 ± 3,764 a	24,765 ± 1,260 ab	4,046.10 ⁻² ± 0,201.10 ⁻² ab	0,651 ± 0,383 a
Quente 4%	94,17 ± 3,764 a	26,196 ± 1,806 b	3,833.10 ⁻² ± 0,278.10 ⁻² b	0,661 ± 0,248 a

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

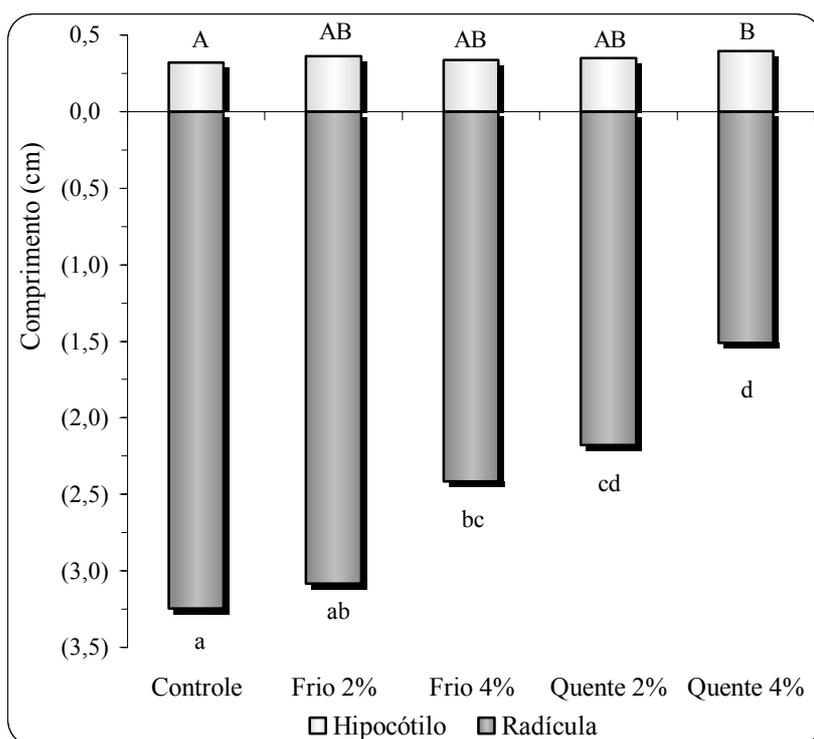


FIGURA 11. Influência dos extratos de *E. argentinum* no crescimento inicial de alfáce. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

6. *Luehea divaricata*

O comportamento germinativo da alface não foi afetado pelos extratos, quando comparados ao controle (Fig. 12). A germinabilidade, bem como o tempo e a velocidade média de germinação dos aquênios tratados (Tab. 9) reforçam esse resultado. A entropia da germinação da alface também suporta essa idéia. Contudo, no tratamento com extrato frio 4% houve uma diferença significativa neste parâmetro em relação ao controle.

Comparando-se os efeitos dos extratos frios e quentes, foram constatadas diferenças tanto nas curvas de germinação, quanto nos quatro parâmetros calculados. Foram observadas diferenças significativas entre os efeitos dos extratos de concentrações distintas, mas também entre os extratos frio e quente na concentração de 2%.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 1,67%, para o controle, e de 0%, para todos os tratamentos.

Todos os tratamentos afetaram significativamente o crescimento da radícula da alface, quando comparados ao controle, conforme demonstra a Fig. 13. Em relação ao hipocótilo, o extrato frio 2% causou um incremento no tamanho médio deste órgão das plântulas tratadas. Comparando-se os extratos em função da temperatura de extração, foram verificadas diferenças significativas nos efeitos causados por extratos frios e quentes, tanto em concentração distintas, como em concentrações iguais.

Em todos os tratamentos, as plântulas apresentavam um aspecto normal, não sendo evidenciados pontos escuros ou fragilidade, quando comparadas ao controle.

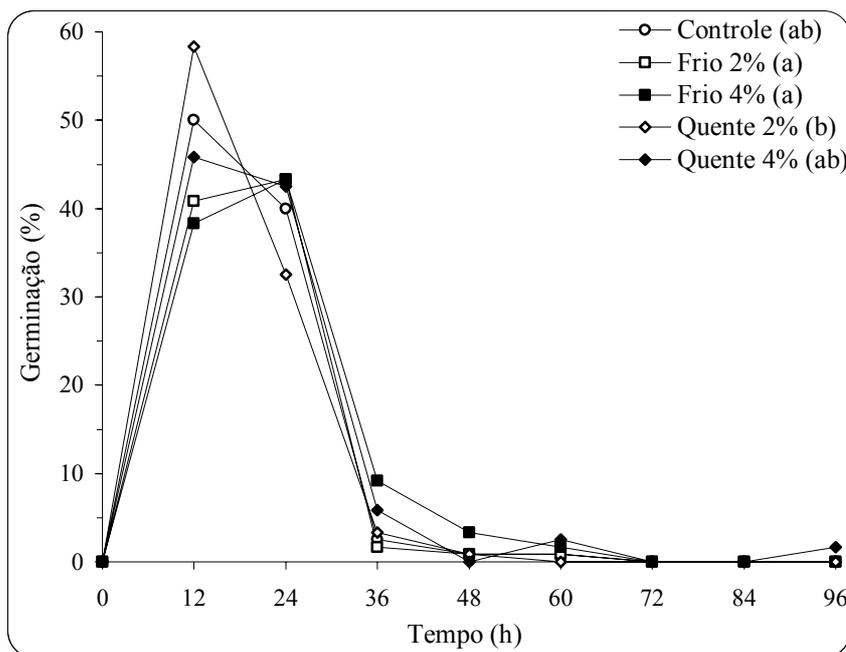


FIGURA 12. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *L. divaricata*. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 9. Efeito dos extratos de *L. divaricata* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	94,17 ± 7,360 ab	18,512 ± 1,753 ab	5,445.10 ⁻² ± 0,547.10 ⁻² ab	1,162 ± 0,214 a
Frio 2%	87,50 ± 6,892 a	19,280 ± 2,410 ab	5,253.10 ⁻² ± 0,643.10 ⁻² ab	1,138 ± 0,236 a
Frio 4%	95,83 ± 3,764 b	21,875 ± 2,742 a	4,633.10 ⁻² ± 0,592.10 ⁻² a	1,493 ± 0,209 b
Quente 2%	95,00 ± 3,162 b	17,256 ± 2,402 b	5,873.10 ⁻² ± 0,674.10 ⁻² b	1,103 ± 0,266 a
Quente 4%	96,67 ± 4,082 b	20,017 ± 2,868 ab	5,073.10 ⁻² ± 0,649.10 ⁻² ab	1,291 ± 0,300 ab

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

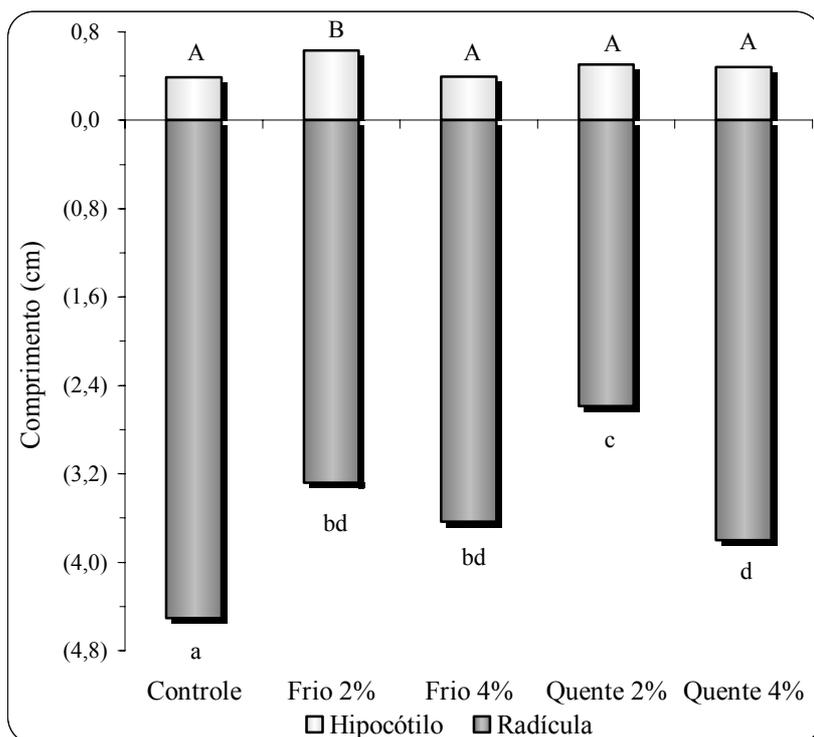


FIGURA 13. Influência dos extratos de *L. divaricata* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

7. *Myrsine guianensis*

O comportamento germinativo dos aquênios de alface não foi afetado pelos extratos, em relação ao controle (Fig. 14). Conforme mostra a Tab. 10, os tratamentos não causaram alterações significativas nos parâmetros de germinação dos aquênios. Por outro lado, foi observada uma diferença significativa entre a curva germinativa dos aquênios submetidos ao extrato frio 4% e a do extrato quente 2%. Apesar da semelhança na forma das curvas, na análise estatística foram detectadas as diferenças no percentual de germinação ao longo do tempo de avaliação. A diferença entre esses tratamentos foi confirmada também pela germinabilidade. Entre os demais extratos frios e quentes, não houve diferenças na germinação da alface.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições do bioensaio foi de 0,83%, para o controle e extrato quente 2%, e de 0%, para os demais extratos.

O crescimento das plântulas de alface foi afetado pelos extratos (Fig. 15), observando-se uma redução acentuada do comprimento das radículas, em relação ao controle. No tratamento com extrato frio a 4%, foi constatado um pequeno, porém significativo, incremento no tamanho do hipocótilo. Comparando-se os efeitos dos extratos frios e quentes, não foram observadas diferenças significativas entre as plântulas dos tratamentos.

Em todos os tratamentos, a aparência das plântulas mostrou-se normal, quando comparadas ao controle.

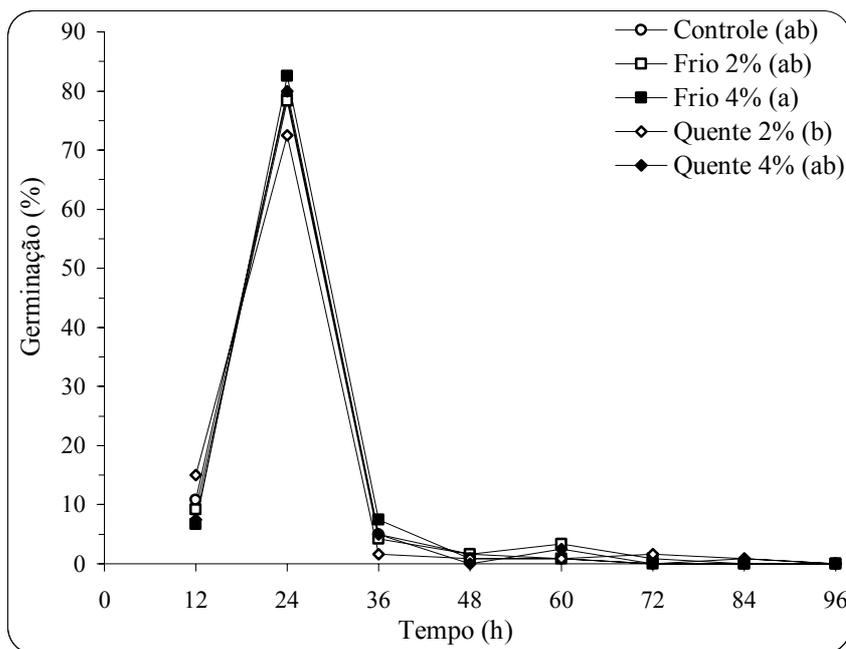


FIGURA 14. Comportamento germinativo da alfaca sob ação dos extratos de *M. guianensis*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 10. Efeito dos extratos de *M. guianensis* nos parâmetros de germinação de alfaca.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	97,50 ± 2,739 ab	23,989 ± 1,271 a	4,178.10 ⁻² ± 0,209.10 ⁻² a	0,853 ± 0,400 a
Frio 2%	97,50 ± 2,739 ab	25,432 ± 2,175 a	3,956.10 ⁻² ± 0,333.10 ⁻² a	0,918 ± 0,274 a
Frio 4%	98,33 ± 2,582 a	24,605 ± 1,326 a	4,074.10 ⁻² ± 0,222.10 ⁻² a	0,796 ± 0,187 a
Quente 2%	93,33 ± 6,055 b	24,293 ± 1,992 a	4,139.10 ⁻² ± 0,330.10 ⁻² a	0,972 ± 0,221 a
Quente 4%	95,83 ± 3,764 ab	25,206 ± 2,930 a	4,008.10 ⁻² ± 0,418.10 ⁻² a	0,774 ± 0,468 a

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

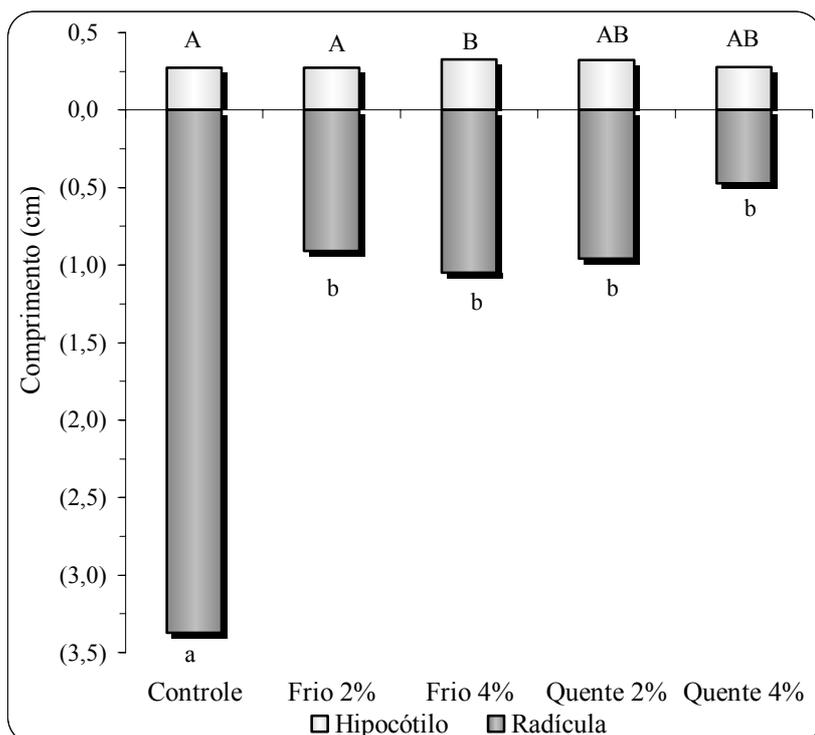


FIGURA 15. Influência dos extratos de *M. guianensis* no crescimento inicial de alfaca. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

8. *Ocotea puberula*

A germinação dos aquênios de alface não foi afetada por nenhum dos tratamentos, conforme mostram as curvas da Fig. 16. Os parâmetros de germinação calculados para os aquênios submetidos aos extratos também não diferiram do controle (Tab. 11). Comparando-se os tratamentos frios e quentes, novamente não foram constatadas diferenças na germinação da alface entre esses extratos.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 1,67%, 0,83%, 2,50%, 0% e 0,83% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

Quanto ao crescimento da alface, todos os tratamentos reduziram significativamente o tamanho das radículas, em relação ao controle (Fig. 17). O tamanho do hipocótilo apresentou uma pequena redução nas concentrações mais altas, sendo este efeito significativo apenas no tratamento com extrato frio. Entre os extratos frios e quentes, foram observadas diferenças somente entre concentrações diferentes, tanto para a radícula, como para o hipocótilo.

A aparência das plântulas de alface estava normal nos tratamentos de concentração 2%. Já nos tratamentos com extratos mais concentrados, foram observados pontos escuros, principalmente nas radículas, além de um aspecto frágil e quebradiço das mesmas.

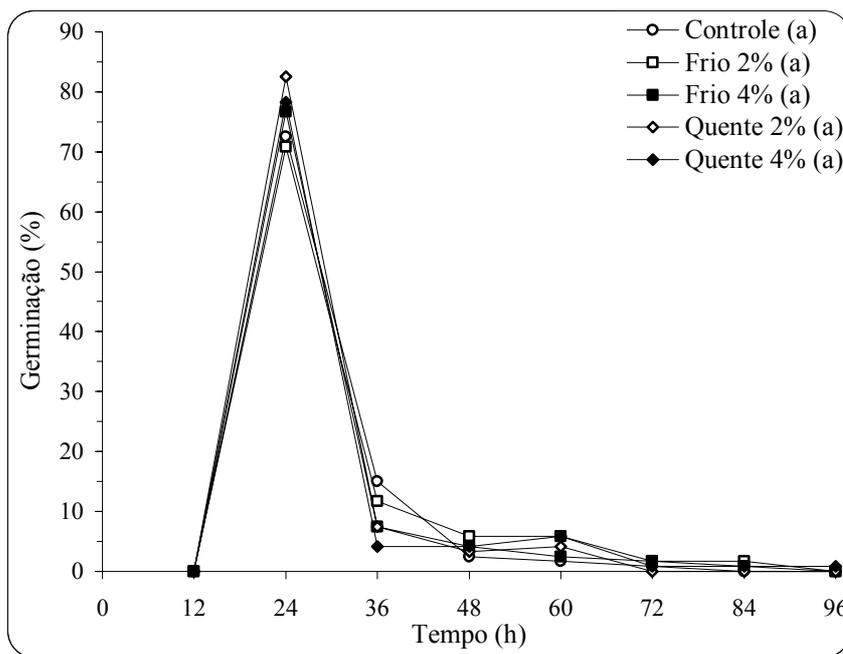


FIGURA 16. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *O. puberula*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 11. Efeito dos extratos de *O. puberula* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	93,33 ± 5,164 a	28,109 ± 1,431 a	3,565.10 ⁻² ± 0,178.10 ⁻² a	0,897 ± 0,135 a
Frio 2%	97,50 ± 4,183 a	30,819 ± 5,045 a	3,318.10 ⁻² ± 0,542.10 ⁻² a	1,064 ± 0,577 a
Frio 4%	93,33 ± 2,582 a	28,386 ± 2,852 a	3,553.10 ⁻² ± 0,363.10 ⁻² a	0,889 ± 0,374 a
Quente 2%	97,50 ± 4,183 a	27,304 ± 1,416 a	3,671.10 ⁻² ± 0,197.10 ⁻² a	0,770 ± 0,294 a
Quente 4%	95,00 ± 3,162 a	29,296 ± 2,906 a	3,440.10 ⁻² ± 0,324.10 ⁻² a	0,869 ± 0,166 a

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais, na vertical, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

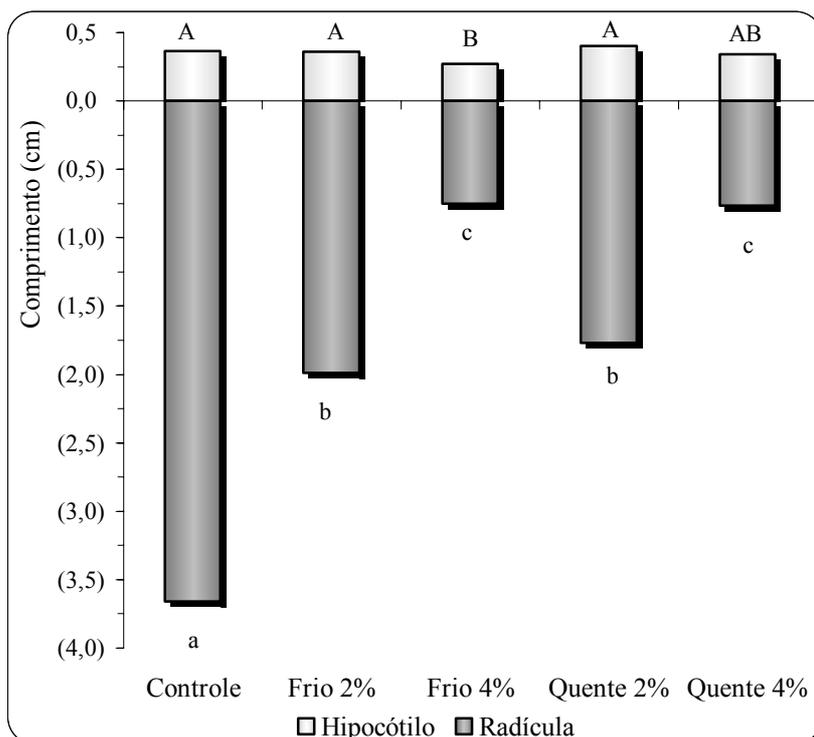


FIGURA 17. Influência dos extratos de *O. puberula* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

9. *Peltophorum dubium*

Apesar das curvas de germinação dos aquênios tratados serem bastante semelhantes à curva controle, foram detectadas diferenças significativas no percentual de germinação ao longo do tempo de avaliação em todos os tratamentos (Fig. 18). O extrato frio 4% e ambos extratos quentes provocaram um aumento no tempo médio e uma redução na velocidade média de germinação dos aquênios, sendo que o mesmo não ocorreu nos tratamentos com extrato frio a 2% (Tab. 12). Entre os extratos frios e quentes, não foram observadas diferenças significativas na germinação.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 0%, para o controle e para os extratos a 2%, e de 1,67%, para os extratos a 4%.

Em relação ao controle, o crescimento das plântulas foi afetado apenas pelos extratos quentes, ocorrendo uma redução significativa somente das radículas (Fig. 19). Comparando-se os extratos frios e quentes, observou-se uma diferença significativa nos efeitos causados sobre as radículas. Entretanto, sobre o hipocótilo, não houve diferenças entre os efeitos de extratos frios e quentes.

A aparência das plântulas tratadas mostrou-se normal, exceto para aquelas tratadas com o extrato quente a 4%, que apresentavam pontos escuros.

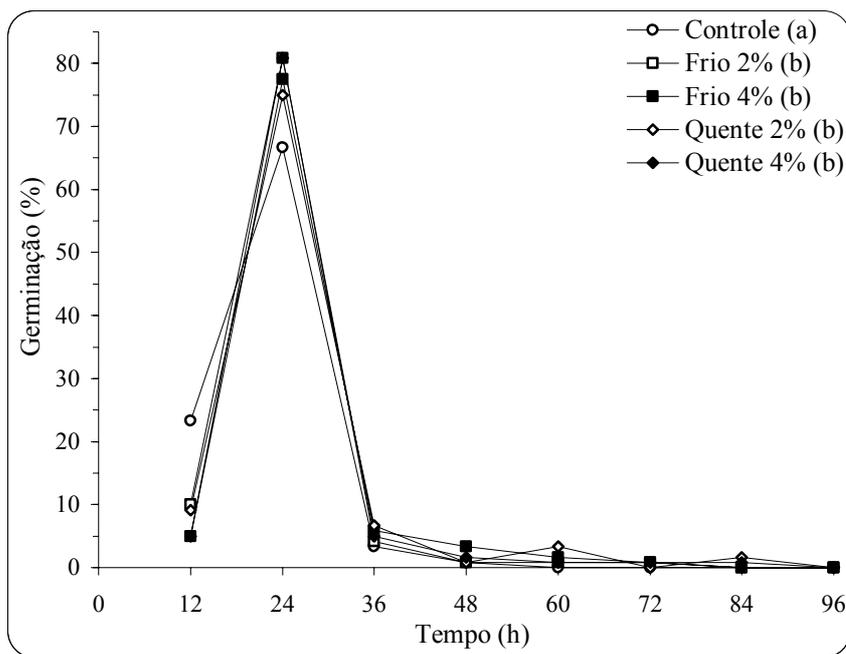


FIGURA 18. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *P. dubium*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 12. Efeito dos extratos de *P. dubium* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	94,17 ± 2,041 a	22,030 ± 1,622 a	4,560.10 ⁻² ± 0,337.10 ⁻² a	0,958 ± 0,187 a
Frio 2%	97,50 ± 4,183 a	24,277 ± 2,071 ab	4,142.10 ⁻² ± 0,328.10 ⁻² ab	0,792 ± 0,370 a
Frio 4%	94,17 ± 3,764 a	26,037 ± 1,822 b	3,856.10 ⁻² ± 0,269.10 ⁻² b	0,867 ± 0,236 a
Quente 2%	96,67 ± 4,082 a	26,254 ± 1,706 b	3,822.10 ⁻² ± 0,248.10 ⁻² b	1,025 ± 0,237 a
Quente 4%	95,00 ± 5,477 a	25,714 ± 2,341 b	3,914.10 ⁻² ± 0,336.10 ⁻² b	0,736 ± 0,456 a

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

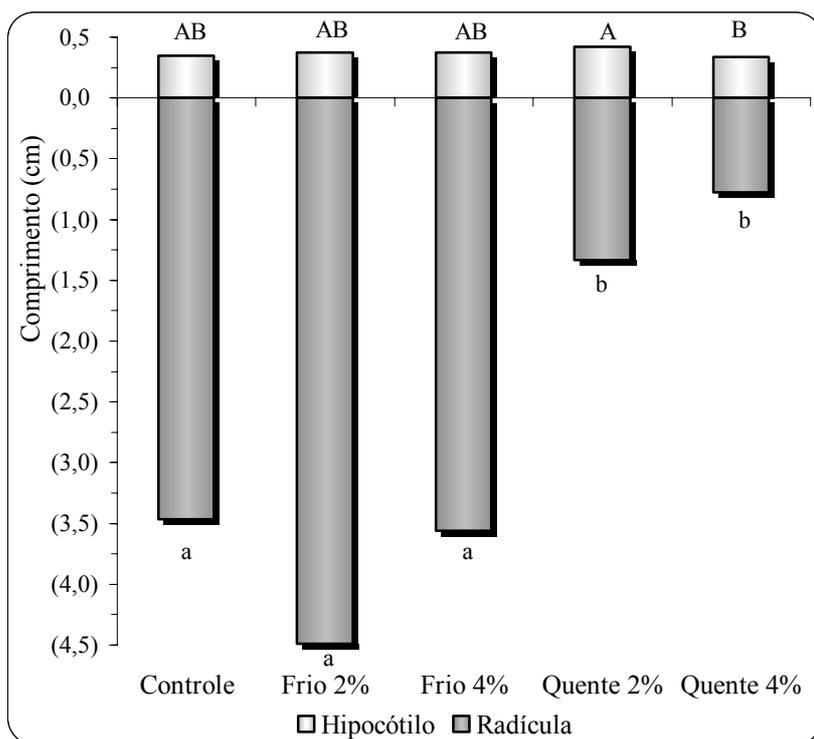


FIGURA 19. Influência dos extratos de *P. dubium* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

10. *Psychotria leiocarpa*

O extrato quente a 4% interferiu no comportamento germinativo dos aquênios, quando comparado ao controle (Fig. 20), sendo que este resultado se reflete em alterações nos parâmetros de germinação calculados – Tm, Vm e E (Tab. 13). Constatou-se, também, um aumento significativo na entropia informacional da germinação no tratamento com extrato frio a 4%. Foi observada uma diferença significativa na germinação da alface entre os tratamentos com extrato frio 2% e quente 4%, apresentada pelas curvas da Fig. 20 e pelo tempo médio de germinação (Tab. 13).

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 1,67%, 1,67%, 0%, 2,50% e 2,50% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

Em relação ao controle, as radículas da alface foram reduzidas por todos os tratamentos, sendo o mesmo efeito causado sobre os hipocótilos (Fig. 21). Comparando-se os extratos frios e quentes, foram constatadas diferenças nos efeitos causados entre extratos de concentrações distintas, mas também entre os extratos frio e quente de concentração 4%.

Em todos os tratamentos, as radículas apresentavam regiões escurecidas, além de estarem frágeis e quebradiças.

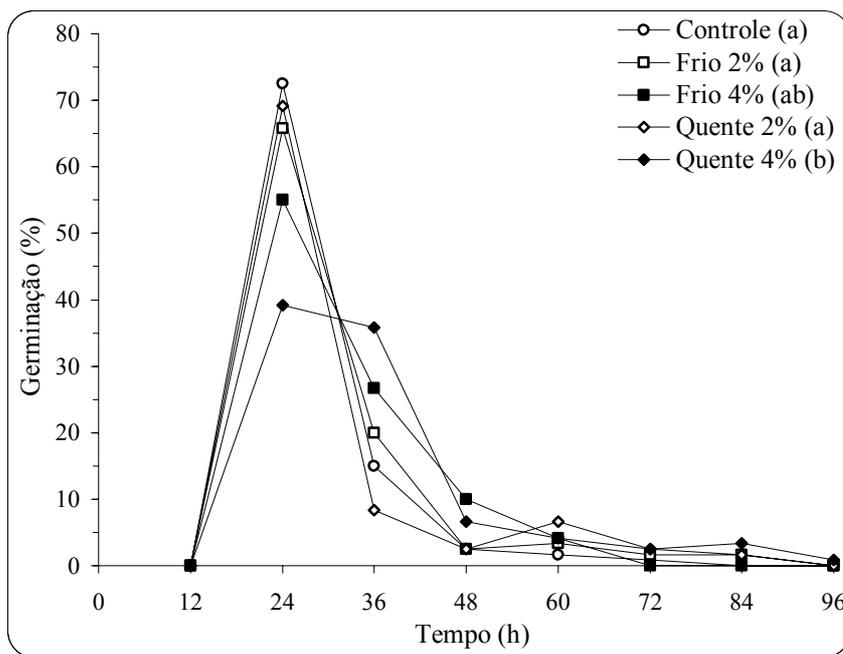


FIGURA 20. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *P. leiocarpa*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 13. Efeito dos extratos de *P. leiocarpa* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	93,33 ± 5,164 a	28,109 ± 1,431 a	3,565.10 ⁻² ± 0,178.10 ⁻² a	0,897 ± 0,135 a
Frio 2%	95,00 ± 3,162 a	30,359 ± 3,366 a	3,328.10 ⁻² ± 0,369.10 ⁻² ab	1,207 ± 0,361 ab
Frio 4%	96,67 ± 2,52 a	32,026 ± 4,063 ab	3,163.10 ⁻² ± 0,385.10 ⁻² ab	1,416 ± 0,334 b
Quente 2%	90,83 ± 4,916 a	30,983 ± 5,068 ab	3,292.10 ⁻² ± 0,477.10 ⁻² ab	1,114 ± 0,441 ab
Quente 4%	92,50 ± 6,124 a	35,826 ± 5,327 b	2,843.10 ⁻² ± 0,421.10 ⁻² b	1,552 ± 0,371 b

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

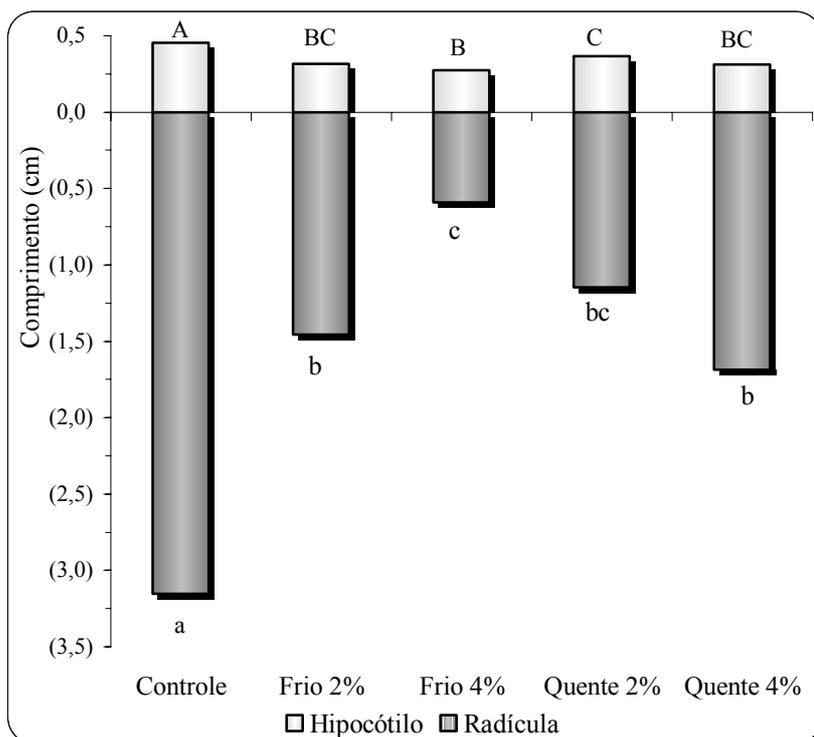


FIGURA 21. Influência dos extratos de *P. leiocarpa* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

11. *Roupala brasiliensis*

Mesmo apresentando curvas semelhantes, os aquênios submetidos ao extrato quente 4% apresentaram a germinação alterada (Fig. 22), quando comparados ao controle, visto que a porcentagem de germinação ao longo do tempo de avaliação foi significativamente diferente. Este resultado é confirmado pelo aumento no tempo médio e pela redução da velocidade média de germinação dos aquênios (Tab. 14), sendo que estas alterações também foram constatadas para os tratamentos com extratos quente 2% e frio 4%. O extrato frio a 2% também provocou uma redução significativa na velocidade média de germinação da alface. Comparando-se os efeitos de extratos frios e quentes, observou-se uma diferença no comportamento germinativo e na entropia de germinação dos aquênios entre tratamentos com extratos frio 2% e quente 4%.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 0%, 0,83%, 1,67%, 0% e 1,67% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

O extrato frio 2% e o quente 4% causaram alterações significativas no crescimento da alface em relação ao controle (Fig. 23). Constatou-se um aumento significativo das radículas em ambos tratamentos, além de um incremento no hipocótilo das plântulas submetidas ao extrato quente 4%. Comparando-se os extratos frios e quentes, observaram-se diferenças significativas no crescimento das plântulas entre tratamentos de concentrações distintas e, também, entre os extratos de mesma concentração.

Todas as plântulas tratadas apresentavam aparência normal, em relação ao controle.

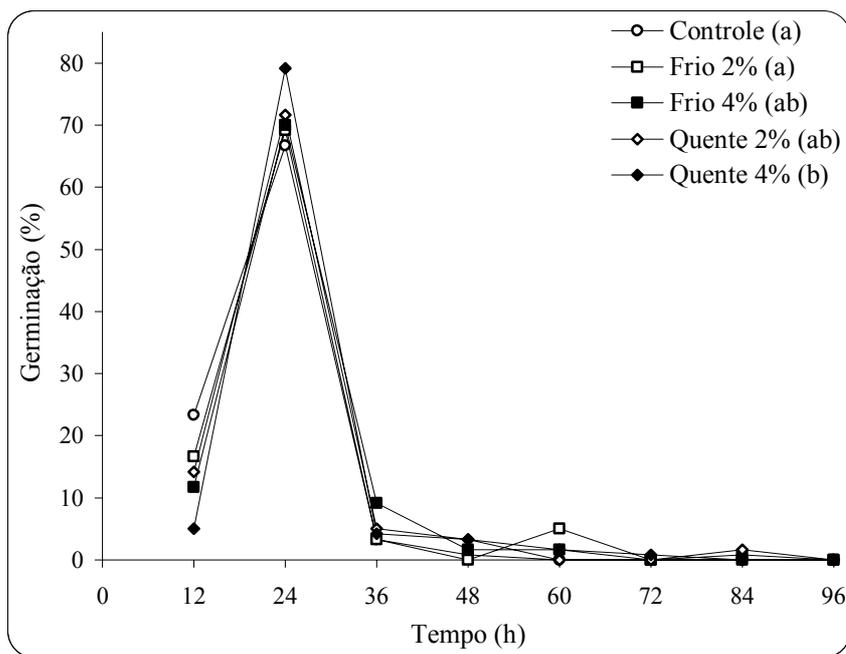


FIGURA 22. Comportamento germinativo da alfaca sob ação dos extratos de *R. brasiliensis*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 14. Efeito dos extratos de *R. brasiliensis* nos parâmetros de germinação de alfaca.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	94,17 ± 2,041 a	21,649 ± 1,808 a	4,645.10 ⁻² ± 0,377.10 ⁻² a	1,012 ± 0,069 ab
Frio 2%	94,17 ± 7,360 a	24,281 ± 1,340 ab	4,129.10 ⁻² ± 0,228.10 ⁻² b	1,116 ± 0,126 a
Frio 4%	95,00 ± 3,162 a	24,766 ± 1,779 b	4,055.10 ⁻² ± 0,296.10 ⁻² b	1,078 ± 0,485 ab
Quente 2%	95,83 ± 3,764 a	24,855 ± 4,357 b	4,115.10 ⁻² ± 0,629.10 ⁻² b	1,036 ± 0,423 ab
Quente 4%	94,17 ± 5,845 a	25,862 ± 2,519 b	3,897.10 ⁻² ± 0,372.10 ⁻² b	0,775 ± 0,275 b

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

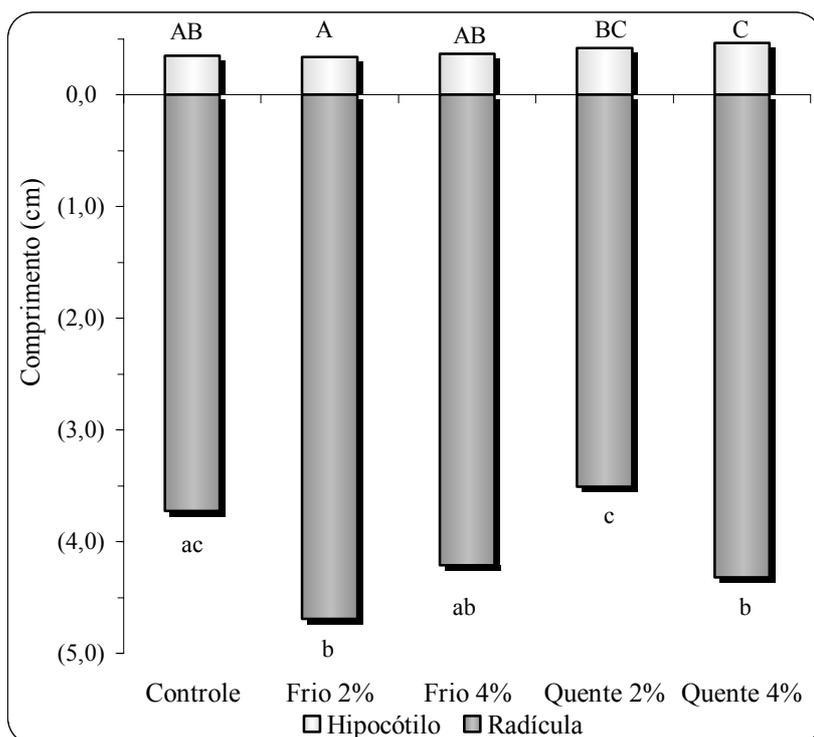


FIGURA 23. Influência dos extratos de *R. brasiliensis* no crescimento inicial de alfaca. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

12. *Sapium glandulatum*

Os extratos a 4% provocaram alterações no comportamento de germinação da alface, quando comparados ao controle (Fig. 24). Para o extrato quente, esse efeito foi confirmado pelas diferenças no tempo, na velocidade e na entropia de germinação (Tab. 15). Para o extrato frio a 4%, a entropia da germinação foi o único parâmetro afetado significativamente. Foram constatadas diferenças significativas no comportamento e nos parâmetros de germinação (T_m , V_m e E) entre os aquênios tratados com extratos frio 2% e quente 4%. Entre os aquênios tratados com extratos frio 4% e quente 4%, foram observadas diferenças significativas no tempo e na velocidade de germinação.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram durante o bioensaio foi de 1,67%, 2,50%, 1,67%, 0,83% e 0,83% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

Comparando-se ao controle, o extrato frio 4% e os dois extratos quentes reduziram significativamente a radícula das plântulas (Fig. 25). Em relação aos extratos frios e quentes, observou-se uma diferença nas radículas entre os tratamentos frio 2% e quente 4%.

Em todos os tratamentos as radículas pareciam mais espessas do que no controle. Nos extratos a 4%, observaram-se pontos escuros nas plântulas.

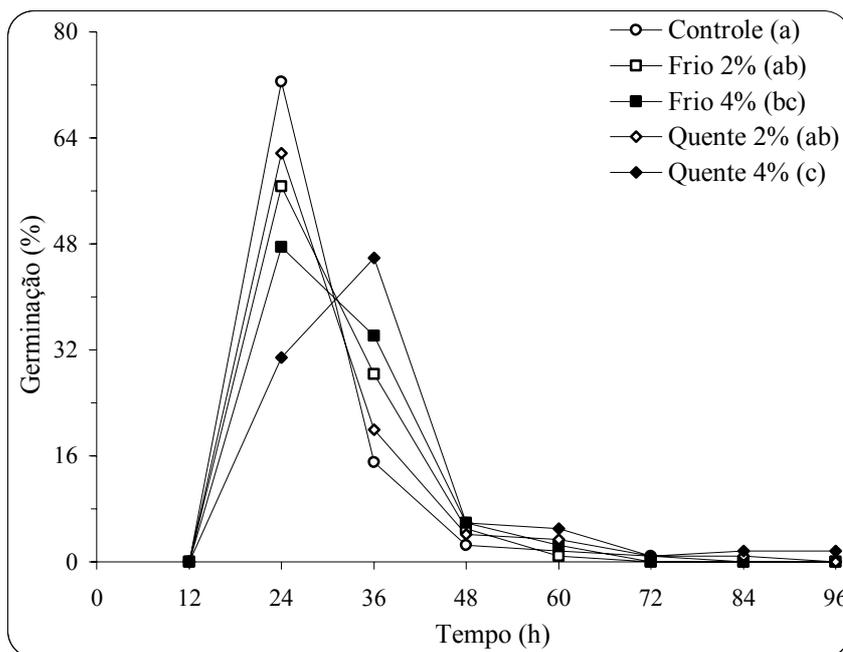


FIGURA 24. Comportamento germinativo da alfaca sob ação dos extratos de *S. glandulatum*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 15. Efeito dos extratos de *S. glandulatum* nos parâmetros de germinação de alfaca.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	93,33 ± 5,164 a	28,109 ± 1,431 a	3,565.10 ⁻² ± 0,178.10 ⁻² a	0,897 ± 0,135 a
Frio 2%	90,83 ± 4,916 a	29,365 ± 1,596 a	3,414.10 ⁻² ± 0,184.10 ⁻² a	1,172 ± 0,255 ab
Frio 4%	90,00 ± 4,472 a	31,101 ± 1,088 a	3,219.10 ⁻² ± 0,111.10 ⁻² a	1,295 ± 0,144 bc
Quente 2%	90,83 ± 5,845 a	30,003 ± 2,185 a	3,348.10 ⁻² ± 0,248.10 ⁻² a	1,151 ± 0,209 ab
Quente 4%	91,67 ± 6,055 a	36,397 ± 1,925 b	2,754.10 ⁻² ± 0,153.10 ⁻² b	1,519 ± 0,196 c

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

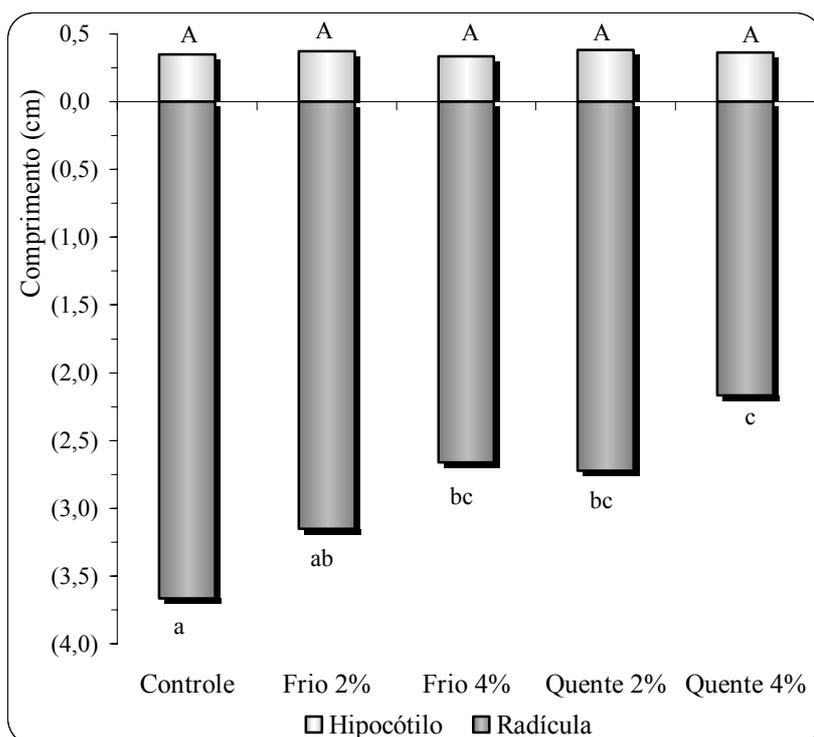


FIGURA 25. Influência dos extratos de *S. glandulatum* no crescimento inicial de alfaca. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

13. *Schinus molle*

A germinação da alface foi afetada pelo extrato quente a 4%, quando comparado ao controle, conforme mostra a Fig. 26. Houve um aumento no tempo médio e uma redução na velocidade média de germinação, reforçando esse resultado (Tab. 16). Considerando-se os efeitos dos extratos em função da temperatura de extração, observaram-se efeitos significativamente diferentes entre os extratos frio 2% e quente 4%, tanto no comportamento germinativo, quanto no tempo e velocidade de germinação.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 2,50%, 4,17%, 2,50%, 0,83% e 0,83% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

Todos os extratos afetaram o crescimento da alface, reduzindo significativamente o tamanho das radículas, quando comparados ao controle (Fig. 27). Considerando-se o hipocótilo, os extratos frio 4% e quente 2% provocaram um aumento significativo no tamanho médio deste órgão. Comparando-se extratos frios e quentes, foram verificadas diferenças no tamanho do hipocótilo entre os extratos a 4%, bem como no comprimento da radícula entre extratos frio 2% e quente 4%.

Em todos os tratamentos, as plântulas de alface apresentavam aparência normal, não sendo evidenciadas regiões escurecidas.

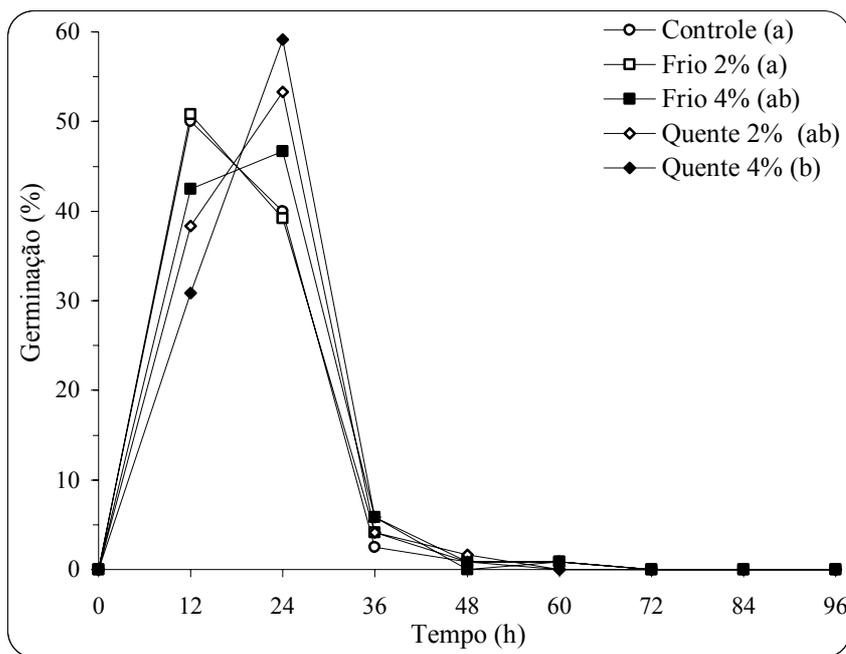


FIGURA 26. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *S. molle*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 16. Efeito dos extratos de *S. molle* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	94,17 ± 7,360 a	18,512 ± 1,753 a	5,445.10 ⁻² ± 0,547.10 ⁻² a	1,162 ± 0,214 a
Frio 2%	95,83 ± 2,041 a	18,689 ± 1,094 a	5,366.10 ⁻² ± 0,312.10 ⁻² a	1,212 ± 0,191 a
Frio 4%	95,83 ± 5,845 a	19,764 ± 1,898 ab	5,102.10 ⁻² ± 0,526.10 ⁻² ab	1,232 ± 0,141 a
Quente 2%	98,33 ± 4,183 a	19,947 ± 1,142 ab	5,019.10 ⁻² ± 0,284.10 ⁻² ab	1,360 ± 0,249 a
Quente 4%	96,67 ± 4,082 a	21,080 ± 1,719 b	4,772.10 ⁻² ± 0,407.10 ⁻² b	1,186 ± 0,223 a

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

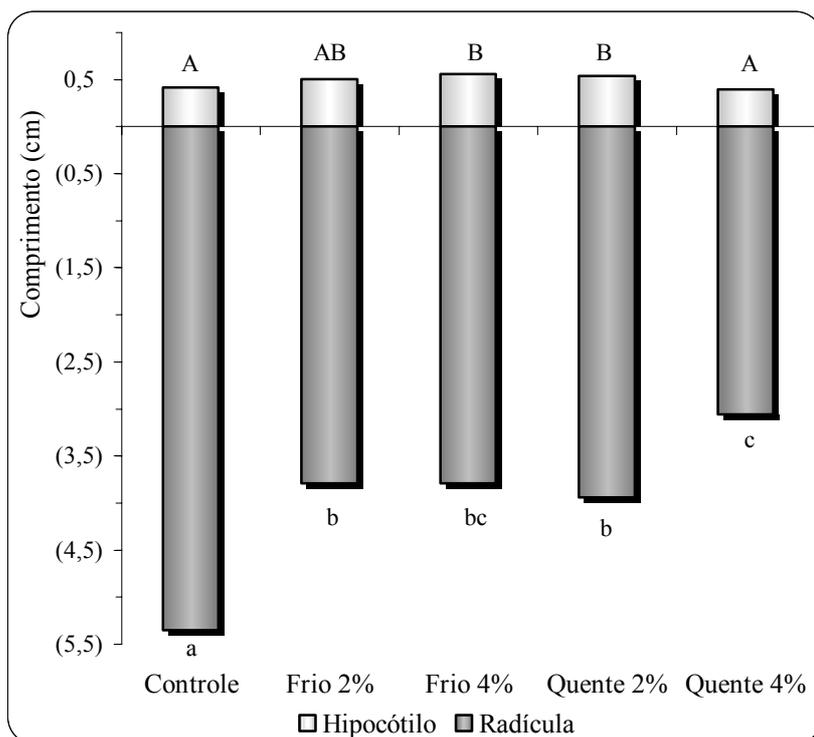


FIGURA 27. Influência dos extratos de *S. molle* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

14. *Sorocea bonplandii*

O comportamento germinativo dos aquênios foi alterado pelo extrato quente 4%, em relação ao controle (Fig. 28), visto que a porcentagem de aquênios germinados ao longo do tempo de avaliação foi significativamente diferente, apesar das curvas semelhantes. O tempo e a velocidade de germinação dos aquênios submetidos a este tratamento também foram significativamente afetados (Tab. 17). O tratamento com o extrato quente a 2% provocou uma redução na velocidade de germinação da alface, em relação ao controle. Comparando-se os tratamentos com extratos frios e quentes, foram observadas diferenças significativas nas curvas de germinação, entre os extratos a 4%. Apesar da semelhança na forma das curvas, a porcentagem de germinação ao longo do tempo de avaliação foi diferente entre esses dois tratamentos. A germinabilidade da alface foi significativamente menor no tratamento com extrato quente 4% em relação aos demais extratos.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 4,17%, para o tratamento com o extrato quente 4%, e de 0% para o controle e demais tratamentos.

O crescimento das radículas da alface foi afetado por ambos extratos frios e pelo extrato quente 4%, quando comparados ao controle (Fig. 29). Quanto ao tamanho deste órgão, observaram-se diferenças significativas entre as plântulas submetidas ao extrato quente 4% e as dos extratos frios. Conforme mostra a Fig. 29, o tamanho médio do hipocótilo também diferiu entre extratos frios e quentes, porém, essa diferença ocorreu somente entre extratos de concentrações distintas.

Os dois extratos frios e o extrato quente 4% causaram um leve escurecimento nas radículas. Entretanto, as radículas não se apresentavam frágeis nem quebradiças.

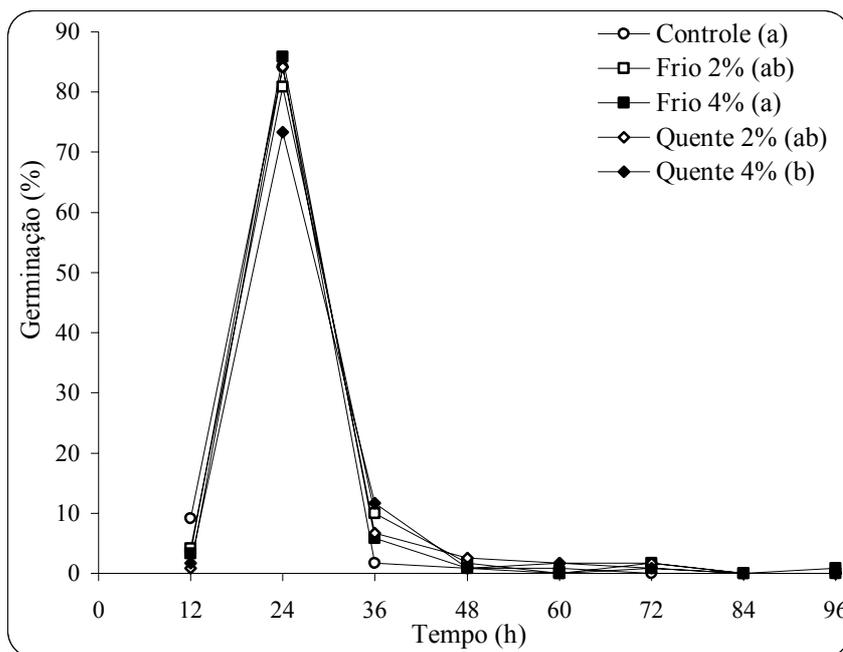


FIGURA 28. Comportamento germinativo da alfaca sob ação dos extratos de *S. bonplandii*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 17. Efeito dos extratos de *S. bonplandii* nos parâmetros de germinação de alfaca.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	96,67 ± 4,082 ab	23,584 ± 0,984 a	4,246.10 ⁻² ± 0,175.10 ⁻² a	0,636 ± 0,197 a
Frio 2%	97,50 ± 4,183 a	25,922 ± 1,900 ab	3,874.10 ⁻² ± 0,267.10 ⁻² ab	0,765 ± 0,295 a
Frio 4%	98,33 ± 2,582 a	25,958 ± 2,152 ab	3,874.10 ⁻² ± 0,308.10 ⁻² ab	0,649 ± 0,219 a
Quente 2%	97,50 ± 4,183 a	26,816 ± 2,494 ab	3,755.10 ⁻² ± 0,335.10 ⁻² b	0,700 ± 0,424 a
Quente 4%	90,00 ± 7,071 b	28,652 ± 4,607 b	3,551.10 ⁻² ± 0,456.10 ⁻² b	0,767 ± 0,250 a

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

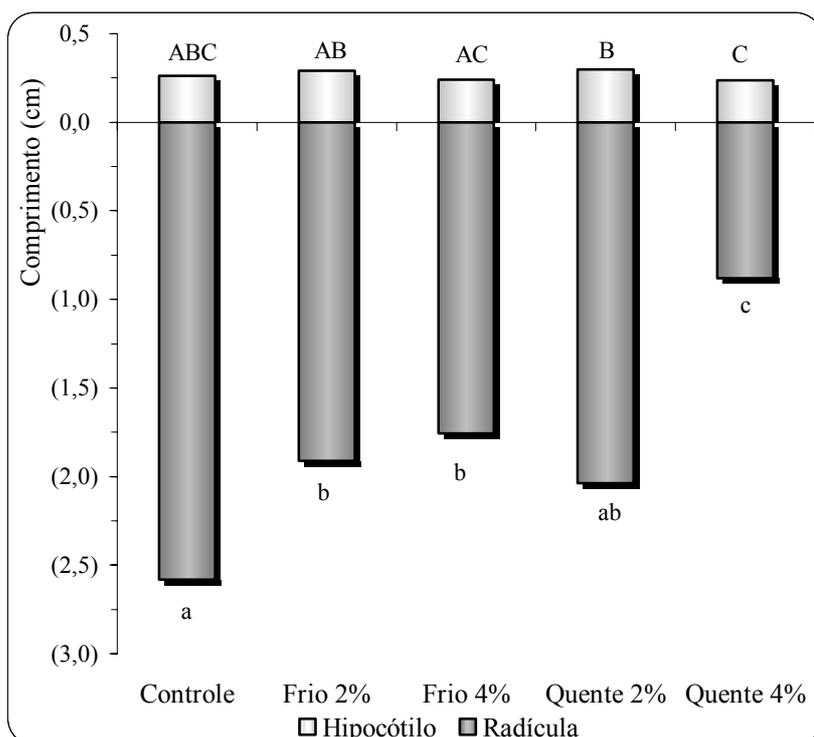


FIGURA 29. Influência dos extratos de *S. bonplandii* no crescimento inicial de alfaca. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

15. *Trema micrantha*

Em relação ao controle, os extratos quentes provocaram alterações no comportamento germinativo da alface (Fig. 30). Entretanto, nos parâmetros de germinação calculados (Tab. 18), somente a entropia de germinação dos aquênios do extrato quente 4% foi significativamente afetada. Constataram-se diferenças nas curvas de germinação dos aquênios tratados com o extrato frio 4% em relação aos extratos quentes. Os quatro parâmetros de germinação também apresentaram diferenças entre os extratos frios e quentes, tanto em concentrações distintas, como em concentrações iguais.

A proporção de aquênios viáveis que não germinaram nas condições dos bioensaios foi de 2,50%, 1,67%, 0%, 0,83% e 1,67% respectivamente para: controle, frio 2%, frio 4%, quente 2% e quente 4%.

O crescimento da alface foi significativamente afetado pelos extratos mais concentrados, quando comparados ao controle (Fig. 31). Observou-se uma redução do tamanho médio da radícula nestes tratamentos. O tamanho dos hipocótilos apresentou um incremento em todos os tratamentos em relação ao controle, contudo esta diferença foi significativa apenas nos extratos a 2%. Considerando-se os efeitos de extratos frios e quentes, foi observada uma diferença significativa no comprimento da radícula nos tratamentos com extratos frios em relação ao tratamento com extrato quente 4%.

Em todos os tratamentos, as radículas pareciam mais pilosas em relação ao controle. Os extratos mais concentrados causaram escurecimento das radículas, o que não foi observado para os extratos a 2%.

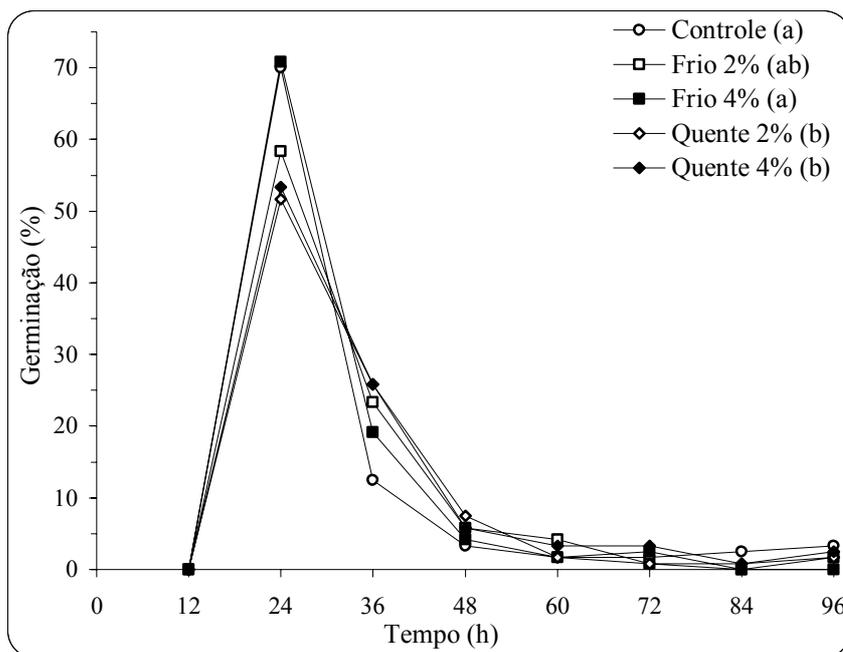


FIGURA 30. Comportamento germinativo da alface sob ação dos extratos de *T. micrantha*. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

TABELA 18. Efeito dos extratos de *T. micrantha* nos parâmetros de germinação de alface.

	G (%)	Tm (h)	Vm (aquênios/h)	E (bits)
Controle	95,00 ± 6,325 ab	32,070 ± 3,182 ab	3,144.10 ⁻² ± 0,311.10 ⁻² ab	1,184 ± 0,131 ab
Frio 2%	94,17 ± 5,845 ab	31,834 ± 3,473 ab	3,172.10 ⁻² ± 0,334.10 ⁻² ab	1,362 ± 0,303 ac
Frio 4%	98,33 ± 2,582 a	29,195 ± 1,280 a	3,431.10 ⁻² ± 0,153.10 ⁻² a	1,105 ± 0,174 a
Quente 2%	90,00 ± 7,071 b	32,490 ± 1,274 ab	3,082.10 ⁻² ± 0,119.10 ⁻² b	1,433 ± 0,157 bc
Quente 4%	95,00 ± 6,325 ab	34,042 ± 3,489 b	2,963.10 ⁻² ± 0,295.10 ⁻² b	1,494 ± 0,259 c

Média ± desvio padrão. G: germinabilidade; Tm: tempo médio de germinação; Vm: velocidade média de germinação; E: entropia informacional da germinação. Letras iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

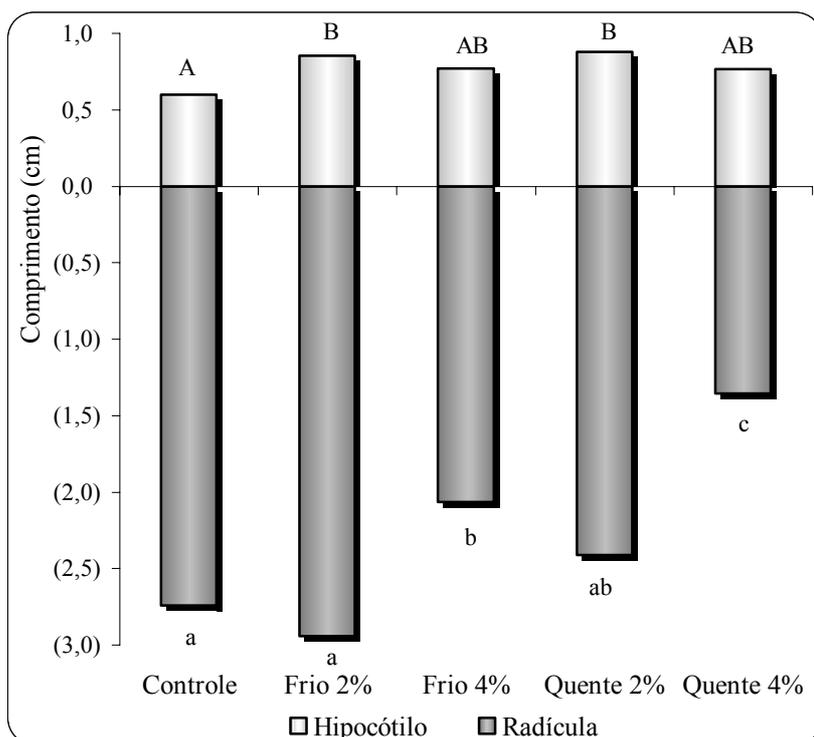


FIGURA 31. Influência dos extratos de *T. micrantha* no crescimento inicial de alface. Letras iguais, na horizontal, não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

 **DISCUSSÃO**

Os extratos das espécies testadas apresentaram valores de pH e potencial osmótico dentro do que se considera adequado para a germinação e desenvolvimento de *Lactuca sativa* (EPSTEIN, 1975; NOBEL, 1991; AQÜILA, 2000). Assim como muitas plantas, a alface é insensível ao pH dentro de uma ampla faixa de valores, que podem variar de 3,0 até 8,0 (CHOU & YOUNG, 1974; BASKIN & BASKIN, 1998; ELAKOVICH, 1999). FERREIRA *et al.* (1994) relatam que o pH do meio pode ser alterado por plântulas, sendo que foram constatados pequenos incrementos nos valores de pH ao final dos bioensaios. Entretanto, o pH_f dos controles e dos extratos mantiveram-se dentro do intervalo aceito para alface, não sendo necessários ajustes neste parâmetro. Além disso, cabe ressaltar que o pH inicial foi aferido com pHmetro, e o final, com papel indicador, o que pode ter contribuído para as pequenas diferenças observadas entre pH inicial e pH final.

Os potenciais osmóticos estimados foram baixos quando comparados com dados da literatura. Para *Mimosa bimucronata*, potenciais osmóticos situados entre -0,158 e -0,414 são capazes de afetar a germinação e o crescimento (ASTARITA *et al.*, 1996). Estudos com *Ilex paraguariensis* e *Myrciaria cuspidata* também descartam um efeito osmótico nos resultados de bioensaios com alface (AQÜILA, 2000; RODRIGUES, 2002), sendo que nestes trabalhos os valores de potencial osmótico foram similares aos obtidos para os extratos das 15 espécies testadas. ELAKOVICH (1999) cita que a alface é insensível a potenciais osmóticos abaixo de aproximadamente -0,167 MPa.

A medida do rendimento dos extratos revelou valores baixos, que podem ter uma relação direta com os dados de potencial osmótico. A tendência de um maior rendimento e de potenciais osmóticos mais negativos para os extratos mais concentrados sugere uma maior extração de substâncias nestes extratos, o que era esperado, já que o rendimento estima a concentração das substâncias extraídas (AQÜILA, 2000). Essa tendência também foi observada ao se comparar os extratos quentes em relação aos frios, demonstrando o maior poder de extração da água quente.

Os aleloquímicos podem agir de maneira diversa dependendo do ambiente e do estágio do ciclo vital em que a planta alvo se encontra, visto que ambos refletem diferentes estados fisiológicos. Assim, a abordagem de diferentes processos fisiológicos, como germinação e crescimento, é fundamental em estudos de alelopatia, visando abranger os diferentes sítios de

atuação dos aleloquímicos. De modo geral, os resultados obtidos com os bioensaios revelaram efeitos tanto sobre o crescimento quanto sobre a germinação da alface.

Alterações no comportamento germinativo da alface, bem como, nos parâmetros de germinação, indicam, segundo BEWLEY & BLACK (1978) e LABOURIAU (1983), interferências nas reações metabólicas que culminam na germinação dos aquênios. Geralmente, são constatadas inibições na germinação, sendo que, segundo INDERJIT (1996), estímulos nesse processo são de difícil observação, caso ocorra 100% de germinação nos controles.

Nos estudos alelopáticos, a germinabilidade é um parâmetro muito usado, embora não demonstre outros aspectos do processo de germinação, como atrasos, já que envolve apenas resultados finais, ignorando períodos de germinação inativa no decorrer do bioensaio (CHIAPUSO *et al.*, 1997). Muitas vezes, o que se observa são efeitos significativos de extratos sobre o tempo e a velocidade média de germinação e nenhuma diferença na germinabilidade em relação ao controle (FERREIRA & AQUILA, 2000). CHIAPUSO *et al.* (1997) demonstram a importância do uso de índices que revelem atrasos, tal como a velocidade de germinação, sendo que o emprego de mais de um índice é o mais indicado, além da representação da curva de germinação.

Analisando os bioensaios de maneira geral, os principais efeitos causados foram atrasos na germinação dos aquênios em contato com os extratos, demonstrados pelas curvas de comportamento germinativo e por aumentos no tempo médio e reduções na velocidade média de germinação. Além disso, os extratos provocaram aumentos na entropia informacional, causados por aquênios com germinação mais lenta. Um aumento neste índice indica uma perda de sincronia nas reações metabólicas da germinação, demonstrando uma heterogeneidade na fisiologia dos aquênios tratados (LABOURIAU & AGUDO, 1987).

Nos bioensaios de germinação com extratos de *E. argentinum*, não foram constatadas diferenças no comportamento germinativo dos aquênios tratados em relação ao controle (Fig. 10), entretanto, os parâmetros de germinação calculados apresentaram diferenças significativas (Tab. 8). Este tipo de resultado, provavelmente seja causado por pequenos picos de germinação ao final dos bioensaios, que acabam tendo uma maior contribuição no cálculo dos parâmetros de germinação.

Nos bioensaios de germinação com extratos de *L. divaricata* e *S. molle* (Fig. 12 e 26), por exemplo, a germinação da alface começou antes da primeira avaliação, apresentando percentuais bem elevados após as 12 h iniciais de incubação das placas. Provavelmente, possa ter ocorrido uma montagem mais rápida do experimento no dia anterior da primeira

contagem, propiciando um tempo adicional para os aquênios ficarem em contato com os extratos ou com a água, totalizando cerca de 13-14 h na primeira avaliação. Entretanto, em outros bioensaios, no qual o controle do tempo de montagem das placas e início da incubação foi mais rigoroso, como o da *M. guianensis* e da *R. brasiliensis* (Fig. 14 e 22), também foi observada uma germinação dentro das 12 h iniciais. Este tipo de resultado indica que os intervalos entre cada avaliação devem ser menores que 12 h, visando registrar o início da germinação.

Para a grande maioria dos bioensaios, uma pequena proporção dos aquênios, que foram submetidos aos extratos e não germinaram nas 96 h, estavam viáveis. Contudo, nos tratamentos com os extratos quentes de *D. viscosa* esta proporção foi mais alta, chegando a 17,5% para a concentração de 4%. Isto sugere a presença de substâncias tóxicas nos extratos dessa espécie, capazes de inibir a germinação destes aquênios.

De acordo com INDERJIT & DAKSHINI (1995), alguns autores sugerem que a germinação de sementes não é o processo principal para as interações alelopáticas, já que, em muitos estudos, são constatados efeitos apenas sobre o crescimento, além de já ter sido demonstrado que o número de sementes em relação ao volume de solução pode interferir nos resultados. Entretanto, a maioria dos testes de germinação realizados indica a importância destes bioensaios, já que demonstraram claramente possíveis efeitos alelopáticos sobre esse processo.

Deve-se ressaltar que os bioensaios de germinação devem ser analisados de forma mais abrangente, incluindo a apresentação da forma da curva de germinação e o cálculo de índices que avaliem o andamento da germinação (CHIAPUSO *et al.*, 1997). Os resultados obtidos, que mostram vários parâmetros de germinação sendo afetados, reforçam a sugestão dos autores de se usar mais de um índice, a fim de demonstrar o processo de germinação de forma mais acurada.

Em muitos estudos, o que se observa é um efeito alelopático mais pronunciado sobre o crescimento inicial de uma plântula alvo quando comparado à germinação, já que este último processo utiliza reservas da própria semente (MIRÓ *et al.*, 1998; JACOBI & FERREIRA, 1991; AQÜILA, 2000). Geralmente, nas pesquisas de alelopatia, se constata uma redução no tamanho do eixo hipocótilo-radícula da planta alvo (AQÜILA & AZAMBUJA, 1996; AQÜILA, 1999a; RODRIGUES, 2002), sendo que, muitas vezes, a radícula tem uma contribuição maior neste tipo de inibição. Na maioria dos bioensaios de crescimento realizados, este mesmo efeito foi observado, sendo a radícula, geralmente, reduzida.

Entretanto, os efeitos dos aleloquímicos podem ser variados quando se considera em qual órgão da planta eles estão atuando (AQÜILA *et al.*, 1999b).

Segundo CHUNG *et al.* (2001), o crescimento radicular é mais afetado, devido ao contato mais íntimo entre as radículas e o papel filtro tratado com aleloquímicos, usados em bioensaios com placas de Petri. Contudo, extratos de *C. pachystachya* e *S. glandulatum* provocaram uma inibição somente da radícula da alface (Fig. 5 e 25), enquanto que, extratos de *D. viscosa*, *O. puberula* e *P. leiocarpa* inibiram também o hipocótilo (Fig. 7, 17 e 21), tendo sido mais drástica a redução na radícula, o que suporta a idéia destes autores.

A sensibilidade diferenciada, observada entre hipocótilos e radículas, também pode ser um reflexo da fisiologia distinta destes órgãos. Extratos de *L. divaricata* e *S. molle*, por exemplo, além de inibir a radícula da alface, causaram um incremento no tamanho do hipocótilo, considerando-se uma mesma concentração de extração (Fig. 13 e 27).

Além da atuação distinta em diferentes órgãos, os aleloquímicos podem inibir, quando em altas concentrações, e promover o crescimento, quando em baixas concentrações (EVENARI, 1949; LOVETT, 1985). Este mesmo efeito foi constatado nos bioensaios de crescimento com extratos de *C. canjerana* e *T. micrantha* (Fig. 3 e 31).

Apesar de ser um resultado pouco freqüente, trabalhos anteriores já relataram casos de estímulos no crescimento, tanto em hipocótilos como em radículas de plântulas alvo. Contudo, explicações mais detalhadas deste efeito são escassas. Nos bioensaios com extratos de *E. contortisiliquum* e *R. brasiliensis*, o hipocótilo e a radícula da alface tiveram um estímulo no crescimento (Fig. 9 e 23).

RUTHERFORD & POWRIE (1993), citam que nutrientes naturalmente lixiviados do material vegetal podem mascarar efeitos negativos, neutros ou positivos. De acordo com os autores, geralmente os efeitos positivos são atribuídos aos nutrientes lixiviados. Para descartar essa hipótese, os autores sugerem a substituição da água usada no preparo dos extratos e nos controles por soluções balanceadas de nutrientes. Por outro lado, AQÜILA *et al.* (1999b), ao observarem um incremento no tamanho de plântulas de alface, causado por extratos de *Achyrocline satureioides*, sugeriram uma interferência dos aleloquímicos nos fitormônios.

Conforme já relatado, geralmente, o que se espera são promoções em baixas concentrações e inibições em altas quantidades de aleloquímicos, ou, ao menos, efeitos mais acentuados em concentrações mais altas, como ocorreu na maioria dos bioensaios realizados. Entretanto, no bioensaio com *E. contortisiliquum* (Fig. 9), apenas os extratos mais concentrados causaram um incremento no tamanho das radículas em relação ao controle, resultado que pode indicar um efeito do tipo “serra/dente” (Fig. 1B), citado por REIGOSA *et*

al. (1999). Além deste bioensaio, os testes de crescimento com extratos de *R. brasiliensis* (Fig. 23) também parecem refletir este tipo de efeito, visto que foram observadas promoções nas radículas das plântulas tanto em uma concentração baixa (frio 2%), quanto na concentração mais alta (quente 4%), sendo que ambos efeitos não diferem entre si. Outros bioensaios de crescimento, como o de *L. divaricata* e *P. leiocarpa* (Fig. 13 e 21), por exemplo, apresentaram efeitos de inibição mais acentuados nas radículas tratadas com extratos a 2%, novamente sugerindo o efeito em “serra/dente”. Contudo, os autores ressaltam que cada processo fisiológico afetado terá uma resposta diferente a certas concentrações de cada aleloquímico em particular.

Além das medidas de comprimento, a aparência das plântulas de alface em alguns tratamentos revelou a ocorrência de necroses e fragilidade nas radículas, danos que apontam a ação de substâncias tóxicas contidas nos extratos preparados. Este aspecto de necrose nas radículas também já foi observado em outros estudos de alelopatia (PELLISSIER, 1993; RODRIGUES, 2002). CRUZ-ORTEGA *et al.* (1998) relatam que o endurecimento e escurecimento dos ápices radiculares são evidências de alterações morfológicas e anatômicas causadas por fitotoxinas. INDERJIT (1996) cita que radículas tratadas com ácido ferúlico foram inibidas e ficaram mais delicadas e ramificadas.

De acordo com MIRÓ *et al.* (1998), plântulas de milho tratadas com extratos de frutos de *Ilex paraguariensis* apresentaram uma redução no tamanho das radículas, além de um menor número de pêlos absorventes. Contudo, nos bioensaios de crescimento com extratos de *C. pachystachya* e *T. micrantha*, foi visualizada uma maior densidade de pêlos nas radículas da alface tratada. Pode-se sugerir que essa aparência seja causada pelo menor tamanho das radículas nos tratamentos. Porém, cabe ressaltar a importância da realização de algum método de contagem, a fim de atestar alguma influência sobre os pêlos radiculares.

Segundo SOARES & VIEIRA (2000), o efeito tóxico causado em radículas de alface submetidas a extratos aquosos de algumas espécies de Gleicheniaceae, visualizado também pela redução de tamanho e necrose, é semelhante ao dano provocado por detergentes, tais como as saponinas. Considerando o processo de germinação, já foi sugerido que estas moléculas atuam reduzindo a taxa respiratória, devido a uma menor difusão do oxigênio através do tegumento das sementes, inibindo, conseqüentemente, a germinação (MARCHAIM *et al.*, 1974; RODRIGUES, 2002).

A maioria das espécies testadas apresentou resultados positivos para a presença de saponinas, taninos e flavonóides (Tab. 3). Além das reações de detecção, alguns estudos acerca da composição química das espécies teste também demonstram a presença de

metabólitos secundários que podem ser responsáveis por efeitos alelopáticos, caso tenham sido extraídos. Em alguns casos, mesmo que a composição fitoquímica das espécies não seja conhecida, o uso como medicinal ou inseticida, bem como relatos de toxidez, sugerem a presença de metabólitos secundários, que podem atuar também como aleloquímicos.

Diterpenos glicosilados, presentes em *Dicranopteris pedata* e *Gleichenia japonica*, podem atuar sobre o crescimento de plântulas de alface, promovendo o crescimento da parte aérea e/ou inibindo o crescimento radicular (MUNESADA, 1992; AOKI *et al.*, 1997). Apesar de serem comumente considerados como insolúveis em água, alguns terpenos podem estar presentes em soluções aquosas, visto que essas moléculas são ativas em concentrações muito abaixo da sua solubilidade máxima em água, podendo-se citar os monoterpenos, além dos ácidos diterpênicos (MANELAOU, 1993; WEINDENHAMER *et al.*, 1993; INDERJIT, 1998; ELAKOVICH, 1999), já detectados em algumas espécies testadas, como *D. viscosa*.

Dos metabólitos secundários já relatados como alelopáticos, os fenólicos se destacam, dada sua solubilidade em água. Em vista disso e considerando estudos anteriores de análise fitoquímica, já realizados com as espécies testadas, algumas substâncias pertencentes a este grupo de metabólitos secundários também podem ter sido extraídas, tendo uma participação nos efeitos observados sobre a germinação e o crescimento da alface.

RICE (1984) e CHOU (1999a) citam vários trabalhos que demonstram a atuação de metabólitos fenólicos sobre reguladores de crescimento, sendo capazes de reduzir a atividade da auxina e da giberelina, o que pode levar a inibições no crescimento das plantas alvo. Entre estes metabólitos, destacam-se os ácidos fenólicos, os taninos e os flavonóides, já detectados em algumas das espécies testadas, tais como *L. divaricata* e *S. bonplandii*. Segundo os autores, outros sítios de atuação primária, tais como a mitose, a respiração celular, a fotossíntese e atividades enzimáticas, são afetados por diversos flavonóides, taninos, quinonas e ácidos fenólicos.

Além dos metabólitos citados acima, os alcalóides também podem estar presentes nos extratos preparados, podendo-se citar como exemplo os de *P. leiocarpa*, que causaram forte inibição no crescimento da alface. De acordo com LOVETT & RYUNTYU (1992), alcalóides liberados por *Datura stramonium* e *Hordeum vulgare* inibem o crescimento inicial de outras plantas competidoras, provocando alterações celulares nas espécies alvo. Os autores citam que este efeito primário foi visualizado através da germinação prejudicada e crescimento inicial reduzido, efeitos também observados nos bioensaios com extratos de *P. leiocarpa* (Fig. 20 e 21).

Experimentos *in vitro* demonstram que, ao interagir com o DNA, ligando-se aos grupos fosfatados dos ácidos nucleicos, os alcalóides interferem na síntese protéica. Alguns alcalóides já foram testados sobre a germinação e crescimento de alface, sendo observados efeitos inibitórios nos dois processos em concentrações de 0,1%. Reduzindo-se a concentração para 0,01%, alguns alcalóides ainda causaram inibição no tamanho das plântulas de alface, entretanto, outros provocaram um aumento nas radículas e, principalmente, nos hipocótilos das plântulas alvo (WINK & TWARDOWSKI, 1992). Além de *P. leiocarpa*, *E. argentinum* e *O. puberula*, por exemplo, contém esses metabólitos nas folhas e causaram inibições no tamanho das plântulas mesmo nas concentrações mais baixas (Fig. 11 e 17).

Os efeitos secundários visualizados na germinação e crescimento de plantas alvo podem, contudo, ser resultado de alterações em mais de um processo fisiológico, mesmo que nenhum sítio de atuação primário seja severamente afetado (REIGOSA *et al.*, 1999). Além disso, FERREIRA & AQÜILA (2000) ressaltam que, mesmo que a alteração seja pontual, rotas metabólicas podem ser afetadas por inteiro, já que o metabolismo consiste em cadeias de reações com vários controles do tipo *feedback*, podendo causar as inibições e promoções demonstradas.

Entretanto, deve-se ressaltar que a mera presença destes candidatos a aleloquímicos nas espécies testadas não quer dizer que eles realmente atuem como tal. Além disso, nem todos metabólitos secundários são alelopaticamente importantes (INDERJIT & DAKSHINI, 1995; AQÜILA, 2000).

EINHELLIG (1999) afirma que a alelopatia raramente resulta da ação de uma única substância, sendo que os aleloquímicos geralmente exercem seus efeitos quando atuam em conjunto. Os extratos aquosos, preparados para os bioensaios, são misturas que podem conter substâncias de várias classes (terpenóides, fenólicos, alcalóides, aminoácidos não protéicos, etc.) e que apresentam, portanto, efeitos complexos sobre a planta alvo.

Neste caso, as substâncias contidas nos extratos podem exercer efeitos aditivos ou sinérgicos, o que torna importante a análise da ação de cada substância isoladamente (INDERJIT, 1996; EINHELLIG, 1999). Estes efeitos sinérgicos são importantes, visto que estas substâncias podem estar presentes nos extratos em concentrações inferiores ao limiar para atividade alelopática, principalmente naqueles em que se utilizou a extração a frio.

Nem sempre os dois processos fisiológicos avaliados, germinação e crescimento inicial, foram afetados significativamente pelos extratos da mesma espécie, como *M. guianensis* e *O. puberula* (Fig. 14 a 17). Nos bioensaios, foi possível constatar efeitos diversos, conforme a espécie testada. Sobre a germinação da alface, foi possível demonstrar a ausência de efeitos

alelopáticos, bem como inibições e atrasos neste processo. Quanto ao crescimento inicial, os bioensaios foram eficazes ao demonstrar inibições ou promoções no crescimento das plântulas, além de apresentar a ausência de efeitos em alguns casos.

A realização destes dois tipos de bioensaios permitiu, então, verificar em que processos possíveis aleloquímicos podem atuar, visto que nenhum teste isoladamente preenche todos os requisitos citados por WU *et al.* (2001), que incluem sensibilidade, rapidez, baixo custo, possibilidade de reprodução, entre outros. Contudo, a sensibilidade de demonstrar qualquer tipo de efeito dos bioensaios pode ser consequência da espécie alvo empregada. Ao se comparar alface com pepino (*Cucumis sativus*), rabanete (*Raphanus sativus*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*), espécies também usadas em bioensaios, foi observado que ela tem maior sensibilidade a extratos vegetais (ELAKOVICH, 1999). Nos bioensaios realizados com as 15 espécies avaliadas, a sensibilidade da planta alvo possibilitou a visualização de efeitos variados sobre a germinação e o crescimento, um aspecto positivo do uso de alface, apesar de ser contra-indicada.

No que diz respeito à temperatura da água no processo de extração, os resultados demonstraram, em sua maioria, efeitos mais acentuados nos tratamentos com extratos quentes em relação aos frios, indicando uma extração diferenciada. Altas temperaturas auxiliam na extração de substâncias mais internas, além de aumentar a solubilidade de qualquer substância, segundo FALKENBERG *et al.* (2003). Entretanto, altas temperaturas liberam substâncias que não ocorrem em condições naturais (INDERJIT & DAKSHINI, 1995), além de desestabilizar metabólitos secundários (FALKENBERG *et al.*, 2003), podendo introduzir artefatos de técnica nos bioensaios laboratoriais, mascarando os resultados. Contudo, em alguns resultados obtidos, não foram observadas diferenças significativas nos efeitos causados por extratos quentes e frios sobre a alface. Como exemplos, podem ser citados o bioensaio de germinação com extratos de *D. viscosa* (Fig. 6 e Tab. 6) e o bioensaio de crescimento com extratos de *L. divaricata* (Fig. 13).

Em contrapartida, a simulação de lixívia, usando-se técnicas de extração mais brandas como a imersão na água fria, apresenta um maior significado ecológico, pelo menos no que diz respeito ao modo de liberação dos aleloquímicos, já que a chegada até a planta alvo, em condições de campo, é influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos. Contudo, os resultados obtidos revelam que as substâncias inibidoras contidas nos extratos que simulam lixívia (frios) de algumas espécies avaliadas, ao alcançarem seu alvo, podem acarretar desvantagens para outras plantas.

Geralmente, os estudos de alelopátia têm origem na observação, a campo, de indícios da ocorrência desse fenômeno, tais como a formação de populações densas e dominantes e os sinais de inibição do desenvolvimento de outras espécies vegetais (CHENG, 1992; SOARES & VIEIRA, 2000). Entre as espécies avaliadas, *D. viscosa* apresenta populações bastante densas, caracterizando formações vegetais chamadas de “vassourais”, que apresentam baixa riqueza específica e grande homogeneidade, devido à dominância dessa espécie. Para as demais espécies, não foram visualizados indícios de atividade alelopática, isto é, a ocorrência de populações dominantes ou efeitos sobre plantas vizinhas.

Algumas espécies, porém, apresentam características que podem contribuir para a produção e/ou liberação de aleloquímicos no ambiente. Entre elas pode-se citar: decíduidade (*E. contortisiliquum*, e.g.), latescência (*S. glandulatum*, e.g.) e crescimento em ambientes com alta luminosidade (*T. micrantha*, e.g.). Além disso, deve-se ressaltar a capacidade de viver em ambientes com estresses ambientais (déficit hídrico, baixas temperaturas, salinidade moderada, solos com baixa fertilidade), fatores que geralmente elevam a produção de aleloquímicos (EINHELLIG, 1999). Contudo, os níveis de aleloquímicos nos tecidos e sua fitotoxicidade variam com mudanças sazonais e localização geográfica das plantas (JACOBI & FERREIRA, 1991; EINHELLIG, 1999).

Dentre as 15 espécies testadas, *C. pachystachya* e *S. molle* já foram testadas quanto ao potencial alelopático, apesar da ausência de indícios visuais de atividade alelopática. SCRIVANTI *et al.* (2003) demonstraram que óleos voláteis extraídos de *Schinus areira*, sinônimo de *S. molle*, apresentam forte inibição no crescimento de radículas de milho. Na busca de herbicidas naturais, PISTORI *et al.* (2002) testaram extratos de raízes de *C. pachystachya* sobre *Panicum maximum*, demonstrando um potencial alelopático inibitório sobre o crescimento da espécie alvo.

STOWE (1979) afirma que os clássicos bioensaios laboratoriais podem demonstrar efeitos alelopáticos inibitórios sobre a germinação e o crescimento de plantas alvo, embora a espécie avaliada não seja alelopática em condições naturais, o que parece ter acontecido com a maioria das espécies testadas. De acordo com INDERJIT (1996), certas substâncias presentes nas plantas podem mostrar efeitos inibitórios nas espécies alvo, quando testadas em condições experimentais, mas podem não ser lixiviadas ou exsudadas da planta doadora em condições naturais. Alguns estudos demonstram que extratos vegetais são muito tóxicos em bioensaios com placas de Petri, mas quando o material vegetal é misturado ao solo, apresenta baixos efeitos alelopáticos (HEISEY & DELWICHE, 1985; RODRIGUES, 2002). Neste

caso, em condições naturais, considera-se que a espécie apresenta baixa atividade alelopática (INDERJIT & DAKSHINI, 1995).

REIGOSA *et al.* (1999) sugerem que a coevolução das espécies, em ecossistemas naturais, pode ter tornado a alelopatia menos evidente, exceto quando as condições ambientais produzem um acúmulo de aleloquímicos. LOVETT (1985) colabora com esta idéia ao afirmar que a alelopatia é, geralmente, observada em ecossistemas agrícolas, caracterizados por serem ambientes perturbados e instáveis e com baixa diversidade de espécies. Nestes ambientes, as plantas invasoras estão aptas a expressar, em maior grau, sua capacidade de interferir com outras plantas, quando se compara a ambientes de maior riqueza, em comunidades mais estáveis, tais como formações florestais maduras.

As espécies nativas que habitam ecossistemas naturais apresentam diversos mecanismos de defesa, ao contrário de espécies cultivadas que acabaram perdendo suas defesas paralelamente ao melhoramento genético, realizado durante séculos de agricultura. A habilidade das plantas em suportar a presença de aleloquímicos no ambiente é chamada de tolerância alelopática (GRODZINSKI, 1991 *apud* SCHULZ & FRIEBE, 1999), sendo um mecanismo necessário para o desenvolvimento de comunidades vegetais. A tolerância alelopática inclui as adaptações morfológicas e anatômicas, que inibem ou previnem a absorção de substâncias químicas ativas, e os processos de detoxificação, que englobam mecanismos de oxidação e conjugação com carboidratos, bem como a compartimentalização e excreção de toxinas (SCHULZ & FRIEBE, 1999).

Em vista do exposto acima, a conclusão de que as espécies testadas sejam alelopáticas está atrelada a uma investigação ampla, que inclui diversos tipos de abordagens. Essa linha investigativa deve, então, abranger desde bioensaios laboratoriais até testes em condições naturais, sendo que os bioensaios em laboratório demonstram apenas um potencial alelopático.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitas críticas que são feitas sobre as pesquisas de alelopatia se baseiam na falta de correspondência entre o ambiente natural e os bioensaios de laboratório. Entretanto, os testes laboratoriais são amplamente usados nas etapas iniciais de investigação, servindo para indicar o rumo a ser seguido nas fases posteriores deste tipo de estudo.

Os bioensaios realizados com as 15 espécies teste foram capazes de mostrar os diversos efeitos que possíveis substâncias alelopáticas podem causar sobre espécies alvo. Sobre a germinação, foram constatadas alterações no comportamento germinativo da alface, aumentos no tempo médio e na entropia de germinação, bem como reduções na velocidade média de germinação dos aquênios tratados. Sobre o crescimento, os bioensaios demonstraram reduções e promoções no tamanho das plântulas, afetando tanto as radículas, como os hipocótilos. Nos dois tipos de bioensaio desenvolvidos, também foi demonstrada a ausência de efeitos possivelmente alelopáticos. Em vista disso, pode-se considerar que bioensaios de germinação e crescimento em placas de Petri são válidos para se demonstrar os efeitos que possíveis aleloquímicos presentes em extratos vegetais possam exercer.

Além do delineamento dos bioensaios, que pode influenciar nos resultados, o preparo dos extratos vegetais também deve considerar as condições do ambiente natural. Deve-se priorizar o uso de água para a extração, já que este é um solvente natural, além de evitar a trituração do material vegetal. Quanto à temperatura de extração, os resultados demonstraram efeitos mais acentuados por parte dos extratos a quente, sendo que a água em altas temperaturas (80°C) não é normal em condições a campo. Sendo assim, sugere-se o uso de água fria para o preparo dos extratos, visando maior relevância ecológica.

Outro aspecto importante é a avaliação do pH e do potencial osmótico, cujos efeitos devem ser descartados em estudos de alelopatia. Somando-se a estas características, o conhecimento da composição fitoquímica dos extratos vegetais é fundamental para a elucidação da alelopatia. As reações de detecção para taninos, saponinas e flavonóides realizadas são apenas ilustrativas e apontam a necessidade de uma análise mais detalhada, empregando-se técnicas refinadas e mais acuradas. O isolamento de possíveis aleloquímicos dos extratos permitiria uma análise mais profunda dos efeitos observados nos bioensaios.

Os extratos vegetais são misturas de várias substâncias (orgânicas e inorgânicas), sendo que os efeitos destas misturas nos processos de germinação e crescimento da alface ainda não são completamente compreendidos. É importante salientar que os efeitos podem resultar tanto

de candidatos aleloquímicos, como de outras substâncias não consideradas como tal que possam ter sido extraídas.

Portanto, a utilização dos extratos aquosos em bioensaios deve ser aliada a outras técnicas que empreguem o uso direto de material vegetal, bem como o uso de solo. Além disso, o uso de outras espécies alvo poderia fornecer maior suporte aos resultados obtidos em laboratório.

Deve-se salientar que, a maioria das espécies testadas não apresenta indícios visuais da ocorrência de alelopátia a campo e que todos os bioensaios demonstraram respostas positivas para potencial alelopático. Para confirmar se este potencial se expressa em condições naturais, outras abordagens são necessárias, sendo essenciais experimentos a campo, já que nestas condições os efeitos alelopáticos podem não ser tão evidentes, caso o fenômeno ocorra realmente.

Apesar disto, as respostas diversificadas obtidas nos bioensaios de germinação e crescimento, apontam a utilidade desta abordagem laboratorial, que deve ser empregada nas etapas preliminares de estudo, servindo para avaliar os efeitos alelopáticos, bem como para nortear as etapas futuras de investigação. Conclusões mais definitivas, contudo, só serão possíveis quando se tiver um maior número de espécies testadas.

Não existe um bioensaio perfeito, que irá preencher todos os requisitos para detectar a bioatividade de aleloquímicos. Sendo assim, uma combinação de diferentes bioensaios, repetidos com mais de uma espécie alvo, é, sem dúvida, a melhor abordagem para o início da investigação alelopática.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, P. L. C. A.; TOLEDO, R. E. B.; GUSMAN, A. B. 1999. Allelopathic potential of *Eucalyptus* spp. In: NARWALL, S. S. (Ed.) **Allelopathy Update**. Enfield: Science Pub. v. 2, p. 131-148.
- AMARAL-JR, A. 1980. Erithroxiláceas. In: REITZ, R. (Ed.) **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: HBR. 64 p.
- ANAYA, A. L. 1999. Allelopathy as a Tool in the Management of Biotic Resources in Agroecosystems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(6): 697-739.
- ANDERSON, R. C.; LOUCKS, O. L. 1966. Osmotic Pressure Influence in Germination Tests for Antibiosis. **Science**, Washington, 152: 771-773.
- AOKI, T.; OHRO, T.; HIRAGA, Y.; SUGA, T.; UNO, M.; OHTA, S. 1997. Biologically active clerodane-type diterpene glycosides from the root-stalks of *Dicranopteris pedata*. **Phytochemistry**, New York, 46 (5): 839-844.
- AQUILA, M. E. A. 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, 53: 51-66.
- _____ ; AZAMBUJA, F. J. 1996. Allelopathy in a natural brazilian woodland, evaluation of the *Cryosophilum gonocarpum* (Aguai). In: FIRST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, 1., 1996, Cadiz. **Book of Abstracts**. Cadiz: Int. Allelop. Soc. p. 57.
- _____ ; SILVA, L. P.; LAUFER, M. P. 1999a. Screening bioassay to detect allelopathy in a natural brazilian woodland: evaluation of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae). In: SECOND WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY. 2., 1999, Canada. **Book of Abstracts**. Canada: Int. Allelop. Soc. p. 52.
- _____ ; UNGARETTI, J. A. C.; MICHELIN, A. 1999b. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, Hague, 502: 383-388.
- ASTARITA, L. V.; FERREIRA, A. G.; BERGONCI, J. I. 1996. *Mimosa bimucronata*: allelopathy and osmotic stress. **Allelopathy Journal**, Hisar, 3(1): 43-50.
- BACKES, P.; IRGANG, B. E. 2002. **Árvores do sul: guia de identificação e interesse ecológico**. Rio de Janeiro: Instituto Souza Cruz-Clube da Árvore. 326 p.
- BAIS, H. P.; VEPACHEDU, R.; GILROY, S.; CALLAWAY, R. M.; VIVANCO, J. M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. **Science**, Washington, 301: 1377-1380.
- BARALLE, f.; SCHVARZB, N.; VERNENGO, M.; COMIN, J. 1972. Dehydrocoteine and didehydrocoteine from *Ocotea puberula*. **Experientia**, Basel, 28(8): 875-876.

- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. 1998. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press. 666 p.
- BERNHARD-REVERSAT, F. 1999. The leaching of eucalyptus hybrids and *Acacia auriculiformis* leaf litter: laboratory experiments on early decomposition and ecological implications in congolese tree plantations. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, 12: 251-261.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. 1978. **Physiology and biochemistry of seeds, in relation to germination**. Berlin: Springer-Verlag. v. 1, 306 p.
- BLUM, U.; SHAFER, S. R.; LEHMAN, M. E. 1999. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: concepts vs. an experimental model. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(5): 673-693.
- BRACK, P.; RODRIGUES, R. S.; SOBRAL, M.; LEITE, S. L. C. 1998. Árvores e arbustos na vegetação natural de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, 51(II): 139-166.
- BRAMLEY, P. M. 1997. Isoprenoid metabolism. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. D. (Eds) **Plant biochemistry**. San Diego: Academic Press. p. 417-437.
- BRASIL. 1980. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura - Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária - SNAD. Laboratório Nacional de Referência Vegetal - LANARV/91-106.
- BURKART, A. 1979. Leguminosas - Mimosoideas. In: REITZ, R. (Ed.) **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: HBR. 299 p.
- CALLE, J.; OLARTE, J.; PINZON, R.; OSPINA, L. F.; MENDOZA, M. C.; OROZCO, M. J. 2000. Alterations in the reproduction of mice induced by rapanone. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, 71: 521-525.
- CARRAL, E.; REIGOSA, M. J.; CARBALLEIRA, A. 1988. *Rumex obtusifolius* L.: release of allelochemical agents and their influence on small-scale spatial distribution of meadow species. **Journal of Chemical Ecology**, New York, 14(9): 1775-1786.
- CAZÓN, A.; VIANA, M.; GIANELLO, J. C. 2000. Identificación de un compuesto alelopático de *Baccharis boliviensis* (Asteraceae) y su efecto en la germinación de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae). **Revista Biología Tropical**, San José, 48(1): 47-51.
- CHAVES, C. G.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ZUANAZZI, J. A.; DIEHL, E.; SIQUEIRA, N. C. S.; HENRIQUES, A. T. 1988. *Erythroxylum argentinum*: assays for anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne. 22: 117-120.
- CHENG, H. H. 1992. A conceptual framework for assessing allelochemicals in the soil environment. In: RIZVI, S. J. H. & RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 21-29.

- CHIAPUSIO, G.; SÁNCHEZ, A. M.; REIGOSA, M. J.; GONZÁLEZ, L.; PELLISSIER, F. 1997. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? **Journal of Chemical Ecology**, New York, 23: 2445-2453.
- CHOU, C. H. 1986. The role of allelopathy in subtropical agroecosystems in Taiwan. In: PUTNAM, A. L.; TANG, C. S. (Ed.) **The science of allelopathy**. New York: John Wiley & Sons. p. 57-73.
- _____. 1999a. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(5): 609-636.
- _____. 1999b. Methodologies for allelopathic research: from fields to laboratory. In: MACIAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CUTLER, H. G. (Eds.) **Recent Advances in Allelopathy**. Cadiz: Serv. Pub. Univ. Cadiz. v. 1, p. 3-24.
- _____; YOUNG, C. C. 1974. Effects of osmotic concentration and pH on plant growth. **Taiwania**, Taipei, 19(2): 157-165.
- CHUNG, I. M.; AHN, J. K. & YUN, S. J. 2001. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, Guildford, 20: 921-928.
- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. 2000. Natural products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.) **Biochemistry & Molecular biology of plants**. Rockville: Am. Soc. Plant Physol. p. 1250-1318.
- CRUZ-ORTEGA, R.; ANAYA, A. L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B. E.; LAGUNA-HERNÁNDEZ, G. 1998. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* e *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, 24(12): 2039-2057.
- DE LUCA, V.; PIERRE, B. S. 2000. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. **Trends in Plant Science**, Oxford, 5(4): 168-173.
- DILLENBURG, C. R. 1978. **A tribo Psychotrieae no Rio Grande do Sul**. 112 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- EINHELLIG, F. A. 1999. An integrated view of allelochemicals amid multiple stresses. In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L. (Eds.) **Principles and Practices in Plant Ecology**. Boca Raton: CRC Press. p. 479-494.
- ELAKOVICH, S. D. 1999. Bioassays applied to allelopathic herbaceous vascular hydrophytes. In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L. (Eds.) **Principles and Practices in Plant Ecology**. Boca Raton: CRC Press. p. 45-56.
- ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; LEAL, M. B.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C. T.; VEROTTA, L. 1997. Merging ethnopharmacology with chemotaxonomy: an approach to

unveil bioactive natural products. The case of *Psychotria* alkaloids as potential analgesics. **Ciência e Cultura**, São Paulo, 49(5/6): 378-385.

EPSTEIN, M. 1975. **Nutrição das plantas - princípios e perspectivas**. Rio de Janeiro: EDUSP. 314 p.

EVENARI, M. 1949. Germinators inhibitors. **Botanical Review**, New York, 15(3): 153-194.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. 2003. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS. p. 229-245.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A.; JACOBI, U. S.; RIZVI, V. 1992. Allelopathy in Brazil. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 243-250.

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

_____; BORGHETTI, F.; SCHWAMBACK, L.; SILVEIRA, T. S. 1994. Efeito do substrato e pH no desenvolvimento inicial de plantas. **Caderno de Pesquisa Série Botânica**, Santa Cruz do Sul, 6(1): 13-23.

FLEIG, M. 1989. Anacardiáceas. In: REITZ, R. (Ed.) **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: HBR. 62 p.

FOY, C. L. 1999. How to make bioassays for allelopathy more relevant to field conditions with particular reference to cropland weeds. In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L. (Eds.) **Principles and Practices in Plant Ecology**. Boca Raton: CRC Press. p. 25-33.

FRAENKEL, G. S. 1959. The raison d'être of secondary plant substances. **Science**, Washington, 129: 1466-1470.

FRIEDMAN, J.; WALLER, G. R. 1985. Allelopathy and autotoxicity. **Trends in Biochemical Sciences**, Oxford, 10: 47-50.

FRIMEL, A. E.; PEIXOTO, J. L. B.; SARRAGIOTTO, H.; VIDOTTI, G. J. 2000. Vitexin, paprazine and terpenoids from *Trema micrantha*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Amsterdam, 28: 495-496.

FUERST, E. P.; PUTNAM, A. E. 1983. Separating the competitive and allelopathic components of interference: the theoretical principles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, 9: 937-944.

GOEL, U.; SAREEN, T. S. 1986. Allelopathic effect of trees on the understorey vegetation. **Acta Botanica Indica**, Meerut, 14: 162-166.

- GONÇALVES, V. L. C. 1995. **Estudo fitossociológico do estrato arbustivo de um “vassoural” na Reserva Biológica do Lami - Porto Alegre/RS**. 28 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- GONZALEZ, F. G.; PORTELA, T. Y.; STIPP, E. J.; DI STASI, L. C. 2001. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, 77: 41-47.
- GOSLEE, S. C.; PETERS, D. P. C.; BECK, K. G. 2001. Modeling invasive weeds in grasslands: the role of allelopathy in *Acroptilon repens* invasion. **Ecological Modelling**, Amsterdam, 139: 31-45.
- GOTO, Y.; KOJIMA, Y.; NAKAYAMA, T.; TERAZAWA, M. 2001. Allelopathic sesquiterpenoids from rhizomes of *Petasites japonicus* ssp. *giganteus* Kitam. **Phytochemistry**, New York, 57: 109-113.
- HADACEK, F. 2002. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 21(4): 273-322.
- HANO, Y.; YAMANAKA, J.; MOMOSE, Y.; NOMURA, T. 1995. Sorocerols C-F, four new isoprenylated phenols from the root bark of *Sorocea bonplandii* Baillon. **Heterocycles**, Sendai, 41(12): 2811-2821.
- HARBORNE, J. B. 1993. **Introduction to ecological biochemistry**. 4 ed. London: Academic Press. 318 p.
- _____. 1997. Plant secondary metabolism. In: CRAWLEY, M. J. (Ed.) **Plant Ecology**. 2 ed. Oxford: Blackwell Science. p. 132-155.
- HEISEY, R. M.; DELWICHE, C. C. 1985. Allelopathic effects of *Trichostema lanceolatum* (Labiatae) in the California annual grassland. **Journal of Ecology**, Oxford, 73: 729-742.
- HELDT, H. W. 1999. **Plant biochemistry & molecular biology**. Oxford: Oxford University Press. 522 p.
- HENRIQUES, A. T.; LOPES, S. O.; PARANHOS, J. T.; GREGIANINI, T. S.; VON POSER, G. L.; FETT-NETO, A. G.; SCHRIPSEMA, J. 2004. *N*, β -D-Glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa*. **Phytochemistry**, New York, 65(4): 449-454.
- HIRADATE, S.; YADA, H.; ISHII, T.; NAKAJIMA, N.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; SUGIE, H.; ZUNGSONTIPORN, S.; FUJII, Y. 1999. Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*. **Phytochemistry**, New York, 52: 1223-1228.
- INDERJIT. 1996. Plant phenolics in allelopathy. **Botanical Review**, New York, 62(2): 186-202.

- _____. 1998. Influence of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) on selected soil properties. **American Journal of Botany**, Columbus, 85(1): 64-69.
- _____; DAKSHINI, K. M. M. 1995. On laboratory bioassays in allelopathy. **Botanical Review**, New York, 61(1): 28-44.
- _____; DEL MORAL, R. 1997. Is separating resource competition from allelopathy realistic? **Botanical Review**, New York, 63(3): 221-230.
- _____; MALLIK, A. U. 1997. Effect of phenolic compounds on selected soil properties. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, 92: 11-18.
- _____; _____. 2002. Can *Kalmia angustifolia* interference to black spruce (*Picea mariana*) be explained by allelopathy? **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, 160: 75-84.
- JACOBI, U. S.; FERREIRA, A. G. 1991. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) Ok. sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 26(7): 935-943.
- JANUÁRIO, A. H.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. 1992. Dammarane and cycloartane triterpenoids from three *Rapanea* species. **Phytochemistry**, New York, 31(4): 1251-1253.
- JUNG-MENDAÇOLLI, S. L.; BERNACCI, L. C. 2001. Myrsinaceae da APA de Cairuçu, Parati (Rio de Janeiro, Brasil). **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, 52(81): 49-64.
- KLEIN, R. M. 1984. Meliáceas. In: REITZ, R. (Ed.) **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: HBR. 140 p.
- LABOURIAU, L. F. G. 1983. **A germinação das sementes**. Washington: Departamento de Assuntos Científicos e Tecnológicos da Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. Série Biologia, monografia n. 24. 174 p.
- _____; AGUDO, M. 1987. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperatura effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 59(1): 37-56.
- LANGE, B. M.; WILDUNG, M. R.; MCCASKILL, D.; CROTEAU, R. 1998. A family of transketolases that directs isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway. **Proceedings of The National Academy of Sciences of the USA**, Washington, 95: 2100-2104.
- LIMA, H. A. 1986. **Contribuição ao estudo da biologia floral, da fenologia e do sistema de reprodução de *Psychotria leiocarpa* Cham. et Schlecht. (Rubiaceae)**. 114 f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- LOPES, S. L. 1998. **Análise química e cultivo *in vitro* de *Psychotria leiocarpa* Cham. et Schlecht. e *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae)**. 177 f. Dissertação (Mestrado em

Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LOPES, E. C.; ZUANAZZI, J. A.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. 1989. Análise química e biológica de *Luehea divaricata*. In: Salão de Iniciação Científica, 1., 1989, Porto Alegre. **Resumos**. Porto Alegre: UFRGS. p. 96, r. 160.

LORENZI, H. 1998. **Árvores brasileiras**. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. v. 2. 368 p.

_____. 2000. **Árvores brasileiras**. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. v. 1. 368 p.

LOVETT, J. V. 1985. Defensive stratagems of plants, with special reference to allelopathy. **Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania**, Hobart, 119:31-37.

_____; RYUNTYU, M. 1992. Allelopathy: broadening the context. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 11-19.

MACHARIA, C.; PEFFLEY, E. B. 1995. Suppression of *Amaranthus spinosus* and *Kochia scoparia*: evidence of competition of allelopathy in *Allium fistulosum*. **Crop Protection**, Guildford, 14 (2): 155-158.

MANELAOU, M. A.; WEIDENHAMER, J. D.; WILLIAMSON, G. B.; FRONCZEK, F. R.; FISCHER, H. D.; QUIJANO, L.; FISCHER, N. H. 1993. Diterpenes from *Chrysoma pauciflosculosa*: effects on Florida sandhill species. **Phytochemistry**, New York, 34(1): 97-105.

MARCHAIM, U.; WERKER, E.; THOMAS, W. D. E. 1974. Changes in the anatomy of cotton seed coats caused by lucerne saponins. **Botanical Gazette**, Chicago, 135(2): 139-146.

MARCHIORI, J. N. C. 1997a. **Dendrologia das angiospermas: das magnoliáceas às flacurtiáceas**. Santa Maria: Ed. UFSM. 271 p.

_____. 1997b. **Dendrologia das angiospermas: leguminosas**. Santa Maria: Ed. UFSM. 199 p.

_____. 2000. **Dendrologia das angiospermas: das bixáceas às rosáceas**. Santa Maria: Ed. UFSM. 240 p.

- MELKANIA, N. P. 1992. Allelopathy in forest and agroecosystems in the himalayan region. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 371-388.
- MIMAKI, Y.; HARADA, H.; SAKUMA, C.; HARAGUCHI, M.; YUI, S.; KUDO, T.; YAMAZAKI, M.; SASHIDA, Y. 2003. Enterolosaponins A and B, novel triterpene bisdemosides from *Enterolobium contortisiliquum*, and evaluation of their macrophage-oriented cytotoxic activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, 13: 623-627.
- MIRÓ, C. P.; FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. 1998. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 33(8): 1261-1270.
- MIZUTANI, J. 1999. Selected Allelochemicals. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(5): 653-671.
- MULLER, C. H.; MULLER, W. H.; HAINES, B. 1964. Volatile growth inhibitors produced by aromatic shrubs. **Science**, Washington, 143: 471-473.
- MUNESADA, K. 1992. Biologically active labdane-type diterpene glycosides from the root-stalks of *Gleichenia japonica*. **Phytochemistry**, New York, 31(5): 1533-1536.
- NILSSON, M. C. 1994. Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. **Oecologia**, Berlin, 98: 1-7.
- NOBEL, P. S. 1991. **Physiological and environmental plant physiology**. San Diego: Academic Press. 635 p.
- NULTSCH, W. 2000. **Botânica geral**. 10 ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul. 489 p.
- OLESZEK, W.; JURZYSTA, M.; GÓRSKI, P. M. 1992. Alfafa saponins - the allelopathic agents. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 151-168.
- ORTEGA, A.; GARCÍA, P. E.; CÁRDENAS, J.; MANCERA, C.; MARQUINA, S.; GARDUÑO, M. L. C.; MALDONADO, E. 2001. Methyl dodonates, a new type of diterpenes with a modified clerodane skeleton from *Dodonaea viscosa*. **Tetrahedron**, Oxford, 57: 2981-2989.

- PARANHOS, J. T. 2003. **Produção de alcalóides bioativos em *Psychotria umbellata* Vell. e *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltdl.** 146 f. Tese (Doutorado em Botânica). Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PELLISSIER, F. 1993. Allelopathic inhibition of spruce germination. **Acta Oecologica**, Paris, 14(2): 211-218.
- PILLAR, V. D. 2001. **MULTIV, Software for Multivariate Exploratory Analysis and Randomization Testing.** Porto Alegre: Departamento de Ecologia, UFRGS. 34 p.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. 2001. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, Soropédica, 8(1): 130-136.
- PIRES, N. M.; PRATES, H. T.; FILHO, I. A. P.; OLIVEIRA, R. S.; FARIA, T. C. L. 2001. Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, 58(1): 61-65.
- PISTORI, G. R.; CASTRO, A. L.; MORAIS, S. A. L.; HERNANDEZ-TERRONES, M. G. 2002. Comportamento alelopático do extrato da raiz de embaúba no controle de capim-colônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., 2002, Gramado. **Resumos**. Gramado: SBCPD. p.51.
- POZZO-BALBI, T.; NOBILE, L.; SCAPINI, G.; CINI, M. 1978. The triterpenoid acids of *Schinus molle*. **Phytochemistry**, New York, 17(2): 2107-2110.
- PUTNAM, A. R.; DUKE, W. B. 1974. Biological Suppression of Weeds: Evidence for Allelopathy in Acession of Cucumber. **Science**, Washington, 185: 370-372.
- QASEM, J. R.; FOY, C. L. 2001. Weed allelopathy, its ecological impacts and future prospects: a review. In: KOHLI, R. K.; SINGH, H. P.; BATISH, D. R. (Eds.) **Allelopathy in agroecosystems**. New York: The Haworth Press. p. 43-120.
- RAMBO, B. 1962. Rubiaceae Riograndenses. **Pesquisas - Botânica**, São Leopoldo, 18(6): 5-74.
- REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(5): 577-608.
- RHODES, M. J. C. 1994. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, 24:1-20.

- RICE, E. L. 1984. **Allelopathy**. 2 ed. New York: Academic Press. 422 p.
- _____. 1992. Allelopathic effects on nitrogen cycling. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 31-58.
- RIZVI, S. J. H.; HAQUE, H.; SINGH, V. K.; RIZVI, V. 1992. A discipline called allelopathy. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 1-10.
- _____; TAHIR, M.; RIZVI, V.; KOHLI, R. K.; ANSARI, A. 1999. Allelopathic Interactions in Agroforestry Systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(6): 773-796.
- RODRIGUES, K. C. S. 2002. **Verificação da atividade alelopática de *Myrciaria cuspidata* Berg. (Camboim)**. 78 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- RUTHERFORD, M. C.; POWRIE, L. W. 1993. Allelochemic control of biomass allocation in interacting shrub species. **Journal of Chemical Ecology**, New York, 19(5): 893-906.
- SACHDEV, K.; KULSHRESHTHA, D. K. 1983. Flavonoids from *Dodonaea viscosa*. **Phytochemistry**, New York, 22(5): 1253-1256.
- _____; _____. 1986. Viscosol, a C-3' prenylated flavonoid from *Dodonaea viscosa*. **Phytochemistry**, New York, 25(8): 1967-1969.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. 1992. **Plant Physiology**. Belmont: Wadsworth. 748p.
- SANCHOTENE, M. C. C. 1985. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: Ed. FEPLAM. 311 P.
- SANTOS, D. Y. A. C. 2000. O uso de metabólitos secundários na taxonomia. **Tópicos Atuais em Botânica: Palestras convidadas do 51º Congresso Nacional de Botânica**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil. p. 13-16.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. 2003. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS. p. 615-656.
- SCHULZ, M.; FRIEBE, A. 1999. Detoxification of allelochemicals in higher plants and enzymes involved. . In: INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L. (Eds.) **Principles and Practices in Plant Ecology**. Boca Raton: CRC Press. p. 383-400.

- SCRIVANTI, L. R.; ZUNNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A. 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, 31: 563-572.
- SHIRLEY, B. W. 1998. Flavonoids in seeds and grains: physiological function, agronomic importance and the genetics of biosynthesis. **Seed Science Research**, Wallingford, 8: 415-422.
- SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A. SCHENCKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. 1998. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5 ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS. 173 p.
- SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. 1999. Autotoxicity: concept, organisms, and ecological significance. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 18(6): 757-772.
- _____; _____. 2001. Allelopathy in agroecosystems: an overview. In: KOHLI, R. K.; SINGH, H. P.; BATISH, D. R. (Eds.) **Allelopathy in agroecosystems**. New York: The Haworth Press. p. 1-42.
- SOARES, G. L. G.; VIEIRA, T. R. 2000. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. "Grand Rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, Soropédica, 7(1): 180-197.
- SOBRAL, M. 1987. *Erythroxyllum* (Erythroxyllaceae) no Rio Grande do Sul. **Pesquisas - Botânica**, São Leopoldo, 38: 7-42.
- SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. 2003. Desenvolvimento tecnológico de produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS. p. 289-326.
- STOWE, L. G. 1979. Allelopathy and its influence on the distribution of plants in an Illinois old-field. **Journal of Ecology**, Oxford, 67: 1065-1085.
- STRACK, D. 1997. Phenolic metabolism. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (Eds.) **Plant biochemistry**. London: Academic Press. p. 387-416.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 1998. **Plant physiology**. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates. 792 p.

- TANAKA, J. C. A.; VIDOTTI, G. J.; SILVA, C. C. 2003. A new tormentic acid derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, 14(3): 475-478.
- THIJS, H., SHANN, J.; WEIDENHAMER, J. D. 1994. The effect of phytotoxins on competitive outcome in a model system. **Ecology**, Tempe, 75(7): 1959-1964.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; DUTRA, I.; BRITO, I. S.; CHAGAS, B. R.; FRANÇA, T. N.; BRUST, L. A. G. 1999. Experiments in cattle with the pods of *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbouva* to determine photosensitive and abortive properties. **Pequisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, 19(1): 39-45.
- TRAVERSO, S. D.; COLODEL, E. M.; LORETTI, A. P.; CORREIA, A. M.; DRIEMEIER, D. 2003. Intoxicação natural por *Trema micrantha* em caprinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, 33(1): 133-136.
- UNGARETTI, J. A. C. 2000. **Atividade alelopática de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.** Porto Alegre: UFRGS. 199 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- VYVYAN, J. R. 2002. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, Oxford, 58: 1631-1646.
- WAGNER, H.; LUDWIG, C.; GROTHJAHN, L.; KHAN, M. S. Y. 1987. Biologically active saponins from *Dodonaea viscosa*. **Phytochemistry**, New York, 26(3): 697-701.
- WARDLE, D. A.; NICHOLSON, K. S.; RAHMAN, A. 1996. Use of a comparative approach to identify allelopathic potential and relationship between bioassays and competition experiments for ten grassland and plant species. **Journal of Chemical Ecology**, New York, 22(5): 933-948.
- WEIDENHAMER, J. D. 1996. Distinguishing Resource Competition and Chemical Interference: Overcoming the Methodological Impasse. **Agronomy Journal**, Madison, 88 (6): 866-875.
- _____ ; MACIAS, F. A.; FISCHER, N. K.; WILLIAMSON, G. B. 1993. Just how insoluble are monoterpenes? **Journal of Chemical Ecology**, New York, 19(8): 1799-1807.

_____ ; HARTNETT, D. C.; ROMEO, J. T. 1989. Density-dependent phytotoxicity: distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, 26: 613-624.

WEST, C. A. 1992. Terpene biosynthesis and metabolism. In: DENNIS, D. T.; TURPIN, D. H. (Eds.) **Plant physiology, biochemistry and molecular biology**. Essex: Longman. p. 353-369.

WHITTAKER, R. W.; FEENY, P. P. 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. **Science**, Washington, 171 (3973): 757-769.

WINK, M. 1997. Special nitrogen metabolism. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. D. (Eds.) **Plant biochemistry**. San Diego: Academic Press. p. 439-486.

WINK, M.; SCHMELLER, T.; LATZ-BRÜNING. 1998. Modes of action of allelochemical alkaloids: interaction with neuroreceptors, DNA, and other molecular targets. **Journal of Chemical Ecology**, New York, 24(11): 1881-1937.

_____ ; TWARDOWSKI, T. 1992. Allelochemical properties of alkaloids. Effects on plants, bacteria and protein biosynthesis. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall. p. 129-150.

WU, L.; GUO, X.; HARIVANDI, M. A. 1998. Allelopathic effects of phenolic acids detected in buffalograss (*Buchloe dactyloides*) clippings on growth of annual bluegrass (*Poa annua*) and buffalograss seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, 39: 159-167.

_____ ; PRATLEY, J.; LEMERLE, D.; HAIG, T.; AN, M. 2001. Screening methods for the evaluation of crop allelopathic potential. **Botanical Review**, New York, 67(3): 403-415.

ZUANAZZI, J. A. S.; RATES, S. M. K.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. 1990. *Erythroxylum argentinum*: novos alcalóides tropânicos e análise biológica. In: Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 11., 1990, João Pessoa. **Resumos**. João Pessoa: UFPB. p. 312.

_____ ; TREMEA, V.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. 2001. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, 29: 819-825.