



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



CRISTIANE BEZERRA DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ATIVIDADE ALELOPÁTICA
DA PARTE AÉREA E SUBTERRÂNEA DE *Hydrocotyle bonariensis*
LAM. (ARALIACEAE).**

**Orientador (a): Dr.^a Marize Terezinha Lopes
Pereira Peres**

**Co-orientador (a): Dr.^a Silvana de Paula Quintão
Scalon.**

**CAMPO GRANDE – MS
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



CRISTIANE BEZERRA DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ATIVIDADE ALELOPÁTICA
DA PARTE AÉREA E SUBTERRÂNEA DE *Hydrocotyle bonariensis*
LAM. (ARALIACEAE).**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal junto ao Departamento de Biologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

**CAMPO GRANDE – MS
2009**

Não é o desafio com que nos deparamos que determina quem somos e o que estamos nos tornando, mas a maneira como respondemos ao desafio. Somos combatentes idealistas, mas plenamente conscientes. Porque o ter consciência não nos obriga a ter teoria sobre as coisas; só nos obriga a sermos conscientes. Problemas para vencer, liberdade para provar. E enquanto acreditarmos no nosso sonho, nada é por acaso. (Henfil)

[...] nossas possibilidades de conhecimento são poucas e até, tragicamente pequenas. Sabemos pouquíssimo, e aquilo que sabemos sabemos-lo muitas vezes superficialmente, sem grande certeza. A maior parte de nosso conhecimento somente é provável. Existem certezas absolutas, incondicionais, mas estas são raras (Bochenski).

A DEUS, pela misericórdia e amor incondicional; Ao meu pai “*in memoriam*” pelo exemplo de força, coragem e perseverança. A minha mãe Geni e meus irmãos Cláudia e Paulo Henrique...

Por cada momento que estiveram ao meu lado, sem os quais este objetivo não seria alcançado... A vocês, DEDICO!!!!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu eterno amor... por sempre estar cuidando do meu futuro, para que eu chegasse até aqui e vencesse.....

A Professora **Marize T. L. P. Peres** pela paciência, humildade, exemplo de mulher forte, justa e guerreira, pela transparência, pelos ensinamentos transmitidos... por toda a admiração que eu sinto... desenvolver esta pesquisa sob sua orientação, não foi apenas enriquecedor cientificamente, me fez crescer como pessoa, porque ela não é apenas ética e inteligente, ela é maravilhosa...

A Professora **Sônia C. Hess** pela alegria constante e por toda a ajuda dispensada;

A Professora **Silvana de Paula Q. Scalon** e **Rosilda Mara Mussury**, pela amizade, ensinamentos e orientação durante o desenvolvimento do trabalho;

Ao **Euclésio Simionatto** pela amizade, humildade, conhecimentos transmitidos e ajuda em todos os momentos, e por acreditar que eu chegaria até aqui;

Ao Professor **Odival Faccenda** pelas análises estatísticas;

A Professora **Yara Chaim Jardim Rosa Brito**, por todo o auxílio e ajuda, pelo exemplo de força;

A Professora Maria do Carmo Vieira... porque me deu condições de estar nesta caminhada... pela amizade e humildade...

Aos amigos do laboratório de Pesticidas Naturais, sempre dispostos a ajudar, e que fazem desse um ambiente agradável de trabalho, em especial a **Margarida, Hélio, Reginaldo, Marina, Samuel, Rodrigo, Anyelli** e **Paula** pela alegria constante, pelas risadas, e assuntos... com certeza trabalhar com vocês foram momentos inesquecíveis;

A Prof^a Dr^a **Ângela L. B. Sartori**, pela amizade, humildade, alegria e convivência durante estes dois anos;

A minha mãe e irmãos **Cláudia e Paulo Henrique**, e meu Cunhado **Heleno**, pelo apoio incondicional, por não terem medido esforços para que eu pudesse chegar até aqui, obrigada por me ajudarem a crescer e me incentivar sempre;

A **Dona Cida**, pelas infindáveis histórias de cozinha, e por ser esse exemplo de força que é... enfim aos meus colegas no Mestrado, em especial **Aurora, Leila, Geciane, Ana Cristina, Esther, Fabio, Wellington**, pela amizade, compreensão, por terem me apoiado nos momentos mais difíceis e angustiosos da minha vida... Vocês foram a família que Deus permitiu- me escolher... nossos almoços, nossas risadas, nossas histórias...a nossa amizade foi o meu refúgio nos momentos tempestuosos....obrigada por serem parte da minha vida!

Aos amigos que conquistei em Campo Grande... **Roberto, Marcelo, Josimara, Rosa, Lucas, Rozângela, Vivian e Halysson**... pela alegria, sinceridade, por estarem comigo sempre...

Aos meus amigos de Dourados, **Andréia Sangalli, Taty, Elminha, Bel, Suzaninha, Marquinhos, Paulo Hidalgo, Camila Kissman, Hellen, Rose, Marichel, Oldy, Geula**, em especial **Fabiola e Thalyta**, pela amizade incondicional e apoio em todos os momentos...

A **Ana Carina**, porque essa menina merece um troféu! Não só pela amizade, ajuda e orientações nos momentos de dúvidas, mas pela paciência, e pelo exemplo de pessoa que é; sinceramente, sem sua ajuda eu não teria chegado até aqui;

Ao **Fundect/ Capes** pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa, que foi imprescindível para a execução deste trabalho....

Agradecer a todos e pagar por tudo o que me fizeram de bem não posso, mas guarda- los no meu coração e eternizá- los na minha memória, isso eu posso;

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial alelopático dos óleos essenciais das folhas, do EB e frações da parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* LAM. (Araliaceae), por meio de bioensaios de germinação/emergência e crescimento com o extrato etanólico bruto e as frações semipurificadas (hexânica, acetato de etila e etanol-água), em laboratório e em casa de vegetação. Os bioensaios em laboratório foram realizados com as sementes-alvo de eudicotiledôneas: *Lactuca sativa* L. (alface), *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate); e monocotiledôneas: *Allium cepa* L. (cebola) e *Triticum aestivum* L. (trigo), e as espécies *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola) em casa de vegetação. Para os testes com óleos essenciais foram utilizadas seis concentrações (0, 0,1%, 0,5%, 0,25%, 0,12%, 0,05%) e para os testes em laboratório e casa de vegetação, foram utilizadas quatro concentrações do extrato etanólico e frações (0, 250, 500, 1.000 mg.L⁻¹), com quatro repetições de 50 sementes em bioensaios em laboratório e oito repetições de oito sementes em casa de vegetação. Os bioensaios em laboratório revelaram que as frações semipurificadas atrasaram a germinação e reduziram a germinabilidade de alface, tomate, cebola e trigo. Nos bioensaios de crescimento, a FH e FAE inibiram o crescimento da raiz primária em eudicotiledôneas, enquanto que a FEA estimulou o crescimento. O EB e todas as frações inibiram o crescimento do hipocótilo e massa seca em eudicotiledôneas. Em relação as monocotiledôneas foi verificado que o EB e frações causaram redução no IVG, porcentagem de germinação e inibição na raiz e coleóptilo de cebola e trigo. A fração acetato de etila inibiu a raiz primária das plântulas-alvo e o hipocótilo/coleóptilo de tomate e cebola. A FEA da parte aérea estimulou a raiz primária de alface e tomate e inibiu a raiz primária e coleóptilo de cebola e trigo. Efeitos similares aos descritos para as frações semipurificadas na germinação e as frações hexânica e acetato de etila no crescimento, foram observados nos bioensaios com herbicidas comerciais. Nos bioensaios em casa de vegetação, verificou-se que o extrato etanólico bruto e as frações semipurificadas atrasaram a emergência e reduziram a porcentagem de plântulas emersas alface e cebola. Com relação ao crescimento, verificou-se uma inibição no comprimento da raiz de alface na maior concentração do EB e da FAE e, no comprimento da raiz de alface, pela FAE. A FEA estimulou o crescimento da raiz em alface e causou acúmulo de massa seca da parte aérea em alface e cebola nas maiores concentrações ensaiadas. O EB, FH e FAE diminuíram a massa seca da raiz em alface e cebola, sendo que a FEA aumentou o acúmulo de massa seca em cebola na menor concentração ensaiada. Com relação ao número de folhas foi verificado que o EB e frações causaram diminuição no número de folhas em alface e cebola. A menor concentração da FEA causou um aumento no número de folhas de alface. O EB e frações inibiram o teor de clorofila e a fluorescência média da clorofila em alface e cebola, sendo que valores maiores de inibição foram observados pela FAE da parte subterrânea. Análises químicas preliminares por cromatografia em camada delgada, realizadas com as frações semipurificadas revelaram a presença compostos fenólicos no EB e todas as frações, e alcalóides na FAE da parte subterrânea, sendo que a análise espectrofotométrica verificou-se que a fração acetato de etila apresenta o maior conteúdo total de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os resultados obtidos possibilitam concluir que a parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* possui potencial alelopático e pode ser útil como herbicida natural em programas de manejo de plantas invasoras.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the allelopathic potential of the essential oils of the leaves, EB and fractions of the aerial and underground part of *Hydrocotyle bonariensis* LAM. (Araliaceae), by means of bioassay of the germination/emergence and growth with the ethanolic gross extract and the fractions (hexane, ethyl acetate, ethanol-water) in laboratory and at greenhouse experiments. The bioassay in laboratory was accomplished with the objective-seeds of eudicots: *Lactuca sativa* L. (lettuce), *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomato); and the monocots: *Allium cepa* L. (onion) e *Triticum aestivum* L. (trigo), e as espécies *Lactuca sativa* L. (letucce) e *Allium cepa* L. (onion) at green house. For the tests with essential oils, six concentrations were used (0, 0,1%, 0,5%, 0,25%, 0,12%, 0,05%) and for the tests in laboratory and green house, four concentrations of the crude ethanolic and fractions were used (0, 250, 500, 1.000 mg.L⁻¹), with four repetitions of the 50 seeds in laboratory bioassay and 8 repetitions of 8 seeds in green house. The bioassay in laboratory revealed that the fractions put back the germination and reduced the germination of the lettuce, tomato, onion and wheat. In the growth bioassay, the hexane fraction (HF) and ethyl acetate (EAF) inhibited the growth of the primary root in eudicots, while the EAF stimulated the growth. The crude ethanolic (CE) and every fractions inhibited the growth of the hypocotyl and dry mass in eudicots. With monocots was observed that the CE and fractions reduced the IVG, germination percentage and inhibition in the root, onion and wheat coleóptile. The EAF inhibited the root primary of the tomato and onion. The EAF of the aerial part stimulated the root primary of the lettuce and tomato and inhibited the primary root and coleoptile of the onion and wheat. Similar effects were observed in the bioassays with commercial herbicidal. In the vegetation home bioassay, was observed that the EEB and the fractions delay the emergence and reduced the percentage of sprouted plants of lettuce and onion. With relationship to the growth, was observed an inhibition in the length of the root of lettuce in the largest concentration of the CE and EAF. The ethanol- water fraction (EWF) stimulated the growth of the lettuce root and it caused mass accumulation in aerial part of lettuce and onion, in the largest rehearsed concentrations. The CE, HF e EWF decreased the mass evaporates of root lettuce and onion and EAF increased the onion mass evaporates, in the smallest rehearsed concentration. With relationship to the number of leaves was observed that the CE and fractions caused decrease in the number of leaves in lettuce and onion. The smallest concentration of the EWF caused an increase in number of leaves of the lettuce. The CE and fractions inhibited the text and media fluorescence of the chlorophyll, in lettuce and onion, the larger values of inhibition were observed by the EAF of underground part. Preliminary chemical analysis by chromatography, revealed the presence of phenolic compounds in CE and fractions, alkaloids in EAF underground part. By spectrometric analysis, the FAE showed the largest antioxidant activity and content of total phenolic. By these results it is possible to conclude that the underground part of *Hydrocotyle bonariensis* processes allelopathic potential and it can be useful as natural herbicides in handling programs of the harmful plants.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1	15
Figura 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários. Fonte Santos, 2002.....	18
Figura 2. Estruturas químicas do 1,8 cineol e herbicida cinmetilina.....	20
Figura 3. <i>Hydrocotyle bonariensis</i> (Foto: C.B. Silva).....	29
Figura 4. <i>Hydrocotyle bonariensis</i> (Ilustração: A.C.M. Cristaldo).....	29
Figura 5. Representação esquemática dos diferentes tipos de cromatografia. Fonte: Collins <i>et al.</i> , 1993.....	31
Capítulo 2	41
Figura 1. Efeito das concentrações do óleo essencial obtido das folhas de <i>H. bonariensis</i> no crescimento da raiz e hipocótilo/coleóptilo e acúmulo de massa seca de alface (A) e cebola (B). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.....	68
Capítulo 3	69
Figura 1. Crescimento médio da raiz e hipocótilo e massa seca de plântulas de alface submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) e da fração alcaloídica (FA) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> e dos herbicidas glifosato (G), basagran (B) e atrazina (A). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.	101
Figura 2. Crescimento médio da raiz e hipocótilo e massa seca de plântulas de tomate submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> e dos herbicidas glifosato (G), basagran (B) e atrazina (A). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.	102
Figura 3. Crescimento médio da raiz e coleóptilo e massa seca de plântulas de cebola submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) e da fração alcaloídica (FA) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> e dos herbicidas glifosato (G), gesagard (GE) e poast (P). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.....	103
Figura 4. Crescimento médio da raiz e coleóptilo e massa seca de plântulas de trigo submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> e dos herbicidas glifosato (G), gesagard (GE) e poast (P). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.....	104
Figura 5. Atividade antioxidante das frações de <i>H. bonariensis</i> , frente ao DPPH. . A- EEB e frações da parte aérea, B- EEB e frações da parte subterrânea.....	105
Capítulo 4	106
Figura 1. Crescimento médio da raiz e acúmulo de massa seca da parte aérea e raiz de alface submetida a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> e dos herbicidas glifosato (G), basagran (B) e atrazina (A). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.....	129
Figura 2. Crescimento médio da raiz e acúmulo de massa seca da parte aérea e raiz de cebola submetida a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> e dos herbicidas glifosato (G), gesagard (GE) e poast (P). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.....	130
Figura 3. Número de folhas alface e cebola submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (A e C) e subterrânea (B e D) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> . (* valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).....	131
Figura 4. Teor de clorofila e fluorescência (FV/FM) das folhas de alface submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (A, C) e subterrânea (B, D) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> . (* valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).....	132
Figura 5. Teor de clorofila e fluorescência (FV/FM) das folhas de cebola submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (A, C) e subterrânea (B, D) de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> . (* valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).....	133
Figura 6. Teor de clorofila e fluorescência (FV/MF) das folhas de alface (A, C) e cebola (B, D) submetidas a diferentes concentrações dos herbicidas glifosato (G), basagran (B), atrazina (A), gesagard (GE) e poast (P). (* valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).....	134

Figura 7. Atividade antioxidante das frações de *H. bonariensis*, frente ao DPPH. **A-** EEB e frações da parte aérea, **B-** EEB e frações da parte subterrânea.....135

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2	41
Tabela 1. Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	65
Tabela 2. Efeito das concentrações do óleo essencial das folhas de <i>H. bonariensis</i> na porcentagem de germinação de alface e cebola.....	66
Tabela 3. Coeficiente de Correlação de Pearson da variável nas concentrações de óleo das folhas de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> na % de germinação de alface e cebola.....	67
Capítulo 3	69
Tabela 1. Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) das sementes de alface e tomate submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA) e fração alcaloídica (FA) da parte aérea e subterrânea de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	97
Tabela 2. Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) das sementes de cebola e trigo submetidas a diferentes concentrações extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA), e fração alcaloídica (FA) da parte aérea e subterrânea de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	98
Tabela 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) das sementes de alface, tomate, cebola e trigo submetidas a diferentes concentrações dos herbicidas comerciais glifosato (G), basagran (B), atrasina (A), gesagard (GE) e poast (P).....	99
Tabela 4. Teor Total de fenóis presentes nas frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de <i>H. bonariensis</i> ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ de frações).....	100
Capítulo 4	106
Tabela 1. Efeito das frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de <i>H. bonariensis</i> no índice de velocidade de emergência (IVE) de alface e cebola.....	125
Tabela 2. Efeito das frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de <i>H. bonariensis</i> na porcentagem de plântulas emersas de alface e cebola.....	126
Tabela 3. Efeito dos herbicidas comerciais no índice de velocidade de emergência (IVE) e na porcentagem de plântulas emersas de alface, e cebola.....	127
Tabela 4. Teor Total de fenóis presentes nas frações semipurificadas da parte aérea de <i>H. bonariensis</i> ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ de frações).....	128

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

DMSO – Dimetilsulfóxido

DPPH – 1,1-difenil-2-picril-hidrazil

EAG – Equivalente de Ácido Gálico

EEB – Extrato Etanólico Bruto

EQF-II – Eficiência quântica do fotossistema II

FH – Fração Hexânica

FAE – Fração Acetato de Etila

FEA – Fração Etanol-Água

Fv/Fm Fluorescência variável/ Fluorescência máxima

IVE – Índice de Velocidade de Emergência

IVG – Índice de Velocidade de Germinação

MES – Ácido 2-morfolinoetanosulfônico

MGDM⁻² – miligramas por decímetro quadrado.

pH – Potencial Hidrogeniônico

%G – Porcentagem de Germinação

ÍNDICE

Capítulo1.....	15
Introdução Geral.....	15
A – Alelopatia: Conceito e Histórico.....	16
B – Natureza e função dos compostos alelopáticos.....	17
C- Vias de liberação e fatores que afetam a produção de aleloquímicos.....	19
D- Mecanismos de ação dos compostos alelopáticos.....	19
E- Principais classes de agente alelopáticos.....	20
F- Produtos naturais com atividade herbicida.....	20
G- Herbicidas comerciais utilizados no controle de plantas daninhas.....	21
H- A Fluorescência variável/Fluorescência média (Fv/Fm) como biomarcador de exposição e efeito.....	23
I- Determinação da Fluorescência variável/Fluorescência média (Fv/Fm).....	23
J- Indução da fluorescência máxima da clorofila a.....	24
K- Metodologias empregadas em estudos com alelopatia.....	25
L- Óleos voláteis.....	26
M- Efeitos alelopáticos dos óleos voláteis.....	27
N- <i>Hydrocotyle bonariensis</i> LAM. (Araliaceae).....	28
O- Perfil dos metabólitos secundários no gênero <i>Hydrocotyle</i>	30
P- Análise química.....	30
Cromatografia.....	30
Cromatografia em Camada Delgada.....	31
Análises espectrofotométricas utilizadas para a quantificação total de fenóis.....	31
Avaliação da atividade antioxidante frente ao radical DPPH.....	32
Referências.....	33
Capítulo 2.....	41
Normas gerais para publicação de artigos na Revista Química Nova.....	47
Composição química e atividade alelopática dos óleos voláteis de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> LAM (Araliaceae).....	53
Abstract.....	54
Introdução.....	55
Resultados e Discussão.....	56
Conclusões.....	59
Parte experimental.....	59
Material Vegetal.....	59
Extração dos óleos voláteis.....	60
Análise química.....	60
Bioensaios em laboratório.....	61
Agradecimentos.....	62
Referências.....	63
Capítulo 3.....	69
Normas gerais para publicação de artigos na Revista Agropecuária Brasileira.....	70
Atividade alelopática de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam. (Araliaceae): bioensaios de germinação e crescimento em laboratório.....	80
Resumo.....	80
Abstract.....	81
Introdução.....	82
Material e métodos.....	83
Resultados e discussão.....	88
Conclusões.....	93
Referências.....	93
Capítulo4.....	106
Normas gerais para publicação na Revista Brazilian Journal of Plant Physiology.....	107
Avaliação do Potencial de Atividade alelopática de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> LAM. (Araliaceae): Bioensaios em casa de vegetação.....	113
Resumo.....	113
Abstract.....	113
Introdução.....	114
Material e Métodos.....	115
Resultados e discussão.....	120
Referências.....	122
Capítulo5.....	136
Considerações Finais.....	137

ANEXOS.....	138
Anexo 1	139
Figura 1. Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	139
Figura 2. Análise quiral do limoneno presente no óleo essencial extraído das folhas de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	140
Figura 3. Estrutura dos principais terpenos presentes no óleo de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	141
Figura 4. Formas isoméricas do terpeno limoneno (enântiômeros).....	141
Anexo 2.....	142
Figura 1. Curva analítica do ácido gálico.....	142

Capítulo 1

INTRODUÇÃO GERAL

A – Alelopatia: Conceito e Histórico.

Dentre os métodos de controle e prevenção de plantas daninhas, o uso de agroquímicos continua sendo o componente mais importante na hora de aumentar o rendimento das colheitas e reduzir o trabalho nas culturas. No entanto, o uso continuado de herbicidas em áreas de monocultivo tem levado ao crescente aparecimento, em nível mundial, de biotipos de plantas daninhas tolerantes e resistentes a esses herbicidas o que tem ocasionado um aumento significativo dos custos de produção e problemas graves de contaminação do ambiente (MACIAS *et al.*, 2000 a).

Nesse contexto, as milhares de substâncias químicas disponíveis na natureza, quer aquelas produzidas por plantas ou pelos microorganismos podem oferecer novas e excelentes oportunidades para diversificar o controle de endemias na agricultura, reduzindo ou eliminando a contaminação do ambiente, preservando os recursos naturais e garantindo a oferta de produtos agrícolas com alta qualidade, desprovidos de resíduos de agentes contaminantes (SOUZA-FILHO & ALVES, 2002).

O primeiro registro da influência que uma planta tem sobre a outra, interferindo no seu desenvolvimento, foi descrito por Theophrastus (300 A.C.), um discípulo de Aristóteles, que observou que plantas de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) não revigoravam o solo como outras plantas, ao contrário, o exauria, ao mesmo tempo que destruía as plantas invasoras (RICE, 1984).

Plínio (1 d.C) reporta que grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), ervilha (*Vicia ervilia* (L.) Willd) e a noqueira europeia, (provavelmente *Juglans regia* L.), foram a causa de muitas preocupações para o homem e injúrias para as plantas da vizinhança. Deixou também registrada a observação que, sob a copa das plantas do gênero *Pinus*, o capim morria (RICE, 1984).

De Candolle em 1932, afirmava que o cansaço das terras decorrente da monocultura durante anos seguidos, era ocasionado pelo acúmulo de algumas substâncias exsudadas pelas plantas a qual passava a afetar o próprio desenvolvimento (RICE, 1984).

Em 1937 o termo alelopatia foi proposto por Hans Molish, palavra derivada do latim *Allelon* = de um para o outro, *pathos* = prejuízo, para referir-se à interações bioquímicas entre todos os tipos de plantas e inclusive entre microorganismos. Anos depois, o mesmo autor redefiniu o termo alelopatia como sendo “qualquer efeito direto ou indireto danoso ou benéfico que uma planta (incluindo microorganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente” (RICE, 1984).

A Sociedade Internacional de Alelopatia, foi criada em 1996 e definiu o termo como a “ciência que estuda qualquer processo envolvendo, essencialmente, metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos, incluindo efeitos positivos e negativos” (MACIAS *et al.*, 2000 b).

A alelopatia é um importante mecanismo ecológico, que influencia a dominância e sucessão das plantas, cujas interações são responsáveis pelo estabelecimento e sobrevivência de espécies no ambiente. A inibição/estímulo resulta da interferência isolada ou coletiva nos processos fisiológicos, sendo por isso considerados como um recurso para o desenvolvimento de pesticidas naturais (GATTI *et al.*, 2004). Os procedimentos usados para avaliar o potencial de atividade alelopática são os bioensaios, nos quais podem ser avaliados parâmetros globais como germinação, crescimento e desenvolvimento das plântulas ou plantas adultas e parâmetros mais específicos como a atividade de alguns processos fisiológicos, como por exemplo fotossíntese, respiração, conteúdo de clorofila, etc (SOUZA-FILHO & ALVES, 2002).

Os efeitos alelopáticos dependem dos compostos químicos, que são liberados no ambiente pelas plantas doadoras. Dessa forma, a alelopatia distingue-se da competição, pois essa envolve a redução ou a retirada de algum fator do ambiente, necessário a outra planta no mesmo ecossistema, tal como água, luz e nutrientes (RICE, 1984) por ser um fenômeno que ocorre largamente em comunidades de plantas, a alelopatia é um dos mecanismos por meio dos quais determinadas plantas interferem no desenvolvimento de outras, alterando o padrão e a densidade (SMITH & MARTIN, 1994).

B – Natureza e função dos compostos alelopáticos.

As interações alelopáticas derivam de metabólitos secundários produzidos por plantas e microorganismos, que são conhecidos como aleloquímicos. Estes aleloquímicos são produtos naturais bioativos que conduzem à larga ordem de efeitos biológicos (MACIAS *et al.*, 2006). Essas substâncias estão presentes em todos os tecidos das plantas incluindo folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes (PUTNAN & TANG, 1986), e variam em quantidade e qualidade de espécie para espécie, até mesmo na quantidade do metabólito de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles possuem suas sínteses desencadeadas por eventuais vicissitudes a que as plantas estão expostas (FERREIRA & AQUILA, 2000).

Durante muito tempo não se sabia exatamente se as substâncias químicas do metabolismo secundário representavam o produto final do metabolismo celular, ou se eram sintetizadas pelas plantas com funções específicas. Alguns autores defendiam a primeira hipótese, baseados no fato de que essas substâncias encontram-se em maior quantidades nos vacúolos das células, onde seriam depositadas a fim de evitarem a própria autotoxicidade. Outros consideravam que a produção dessas substâncias é regida pelas leis da genética e que estão sendo constantemente sintetizadas pelas plantas, defendendo a segunda hipótese (MEDEIROS, 1990).

Atualmente, entretanto, sabe-se que muitas destas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio. De fato, já foram reconhecidas como funções de várias substâncias pertencentes a essa classe de metabólitos, por exemplo, a defesa contra herbívoros e microorganismos, a proteção contra raios UV, a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes e em alelopatia (SANTOS, 2002).

Dessa forma, os aleloquímicos são vistos como alternativas para agroquímicos sintéticos, objetivando o manejo sustentável e ecológico na produção agrícola. Muitas substâncias alelopáticas apresentam grande potencial para uso no controle biológico de plantas daninhas (CHUNG *et al.*, 2001), sendo parcial ou totalmente solúveis em água e ativas em baixas concentrações. Em contrapartida ao poder fitotóxico, os efeitos de promoção da germinação e do crescimento vegetal causados por aleloquímicos também são de interesse para o manejo agrícola (VYVYAN, 2002).

A síntese dos metabólitos secundários de plantas deriva, principalmente, do metabolismo da glicose via dois intermediários principais: ácido chiquímico e acetato (Figura 1).

A via do ácido chiquímico (chiquimato) produz três aminoácidos aromáticos: fenilalanina, triptofano e tirosina, que intermediam a biossíntese de numerosos produtos naturais aromáticos em plantas superiores (SCHMID & AMRHEIN, 1995) entre eles, os alcalóides, taninos, lignanas, ligninas e cumarinas. Os metabólitos secundários podem ser encontrados na forma livre, sendo denominados genericamente de agliconas ou estar ligado a uma ou mais unidades de açúcar formando o que se denomina heterosídeos (SANTOS, 2002).

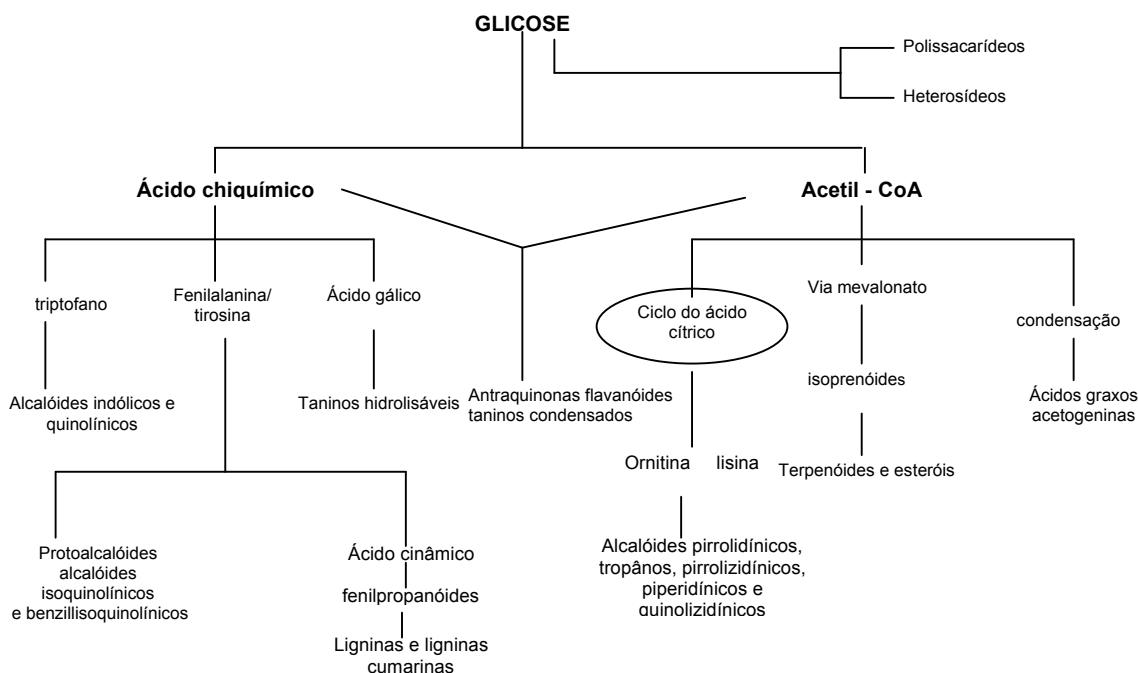


Figura 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários. Fonte Santos, 2002.

Metabólitos secundários às vezes agem como aleloquímicos, no entanto, o termo aleloquímico e metabólito secundário não devem ser usados como sinônimos. Um composto químico pode apresentar vários papéis na natureza, incluindo o de aleloquímico, dependendo do organismo e do parâmetro ambiental específico que afeta o organismo. Assim, um mesmo composto pode às vezes ser um aleloquímico, e outras vezes pode apresentar outros papéis (INDERJIT & DUKE, 2003).

C- Vias de liberação e fatores que afetam a produção de aleloquímicos.

Os compostos alelopáticos podem ser liberados das plantas por lixiviação a partir dos tecidos, volatilização, exsudação pelas raízes e decomposição de resíduos da planta, do seguinte modo:

- **lixiviação:** as toxinas solúveis em água são lixiviadas da parte aérea e das raízes ou, ainda, dos resíduos vegetais em decomposição (ALMEIDA, 1988). Pode-se citar, principalmente, a lixiviação dos ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos, substâncias pécnicas, terpenóides, alcalóides, compostos fenólicos e giberelina (SOUZA, 1988; RODRIGUES *et al.*, 1992);
- **volatilização:** compostos aromáticos são volatilizados das folhas, flores, caules e raízes e podem ser absorvidos por outras plantas. Nesse grupo, encontram-se compostos como o gás carbônico (CO₂), a amônia (NH₃), o etileno e os terpenóides. Esses últimos atuam sobre as plantas vizinhas por meio dos próprios vapores ou condensados no orvalho ou, ainda, alcançam o solo e são absorvidos pelas raízes (SOUZA, 1988; WEIDENHAMER, 1996).
- **Exsudação pelas raízes:** um grande número de compostos alelopáticos são liberados na rizosfera circundante e podem atuar direta ou indiretamente nas interações planta/planta e na ação de microrganismos (TUKEY JÚNIOR, 1969). Entre esses compostos, podem ser citados o ácido oxálico, a amidalina, a cumarina e o ácido transcinâmico (SILVA, 1978);
- **Decomposição de resíduos:** toxinas são liberadas pela decomposição das partes aéreas ou subterrâneas, direta ou indiretamente, pela ação de microrganismos. Perdas da integridade de membranas celulares permitem a liberação de um grande número de compostos que impõem toxicidade aos organismos vizinhos, tais como os glicosídeos cianogênicos (SOUZA, 1988), ácidos fenólicos, agropireno, cumarinas (SILVA, 1978) e flavonóides (RICE, 1984).

As substâncias alelopáticas ainda se mantêm nos tecidos das plantas mesmo depois de mortas, de onde são liberadas por volatilização, se forem produtos voláteis, ou por lixiviação, por meio do orvalho e chuva, se forem solúveis na água, sendo arrastadas para o solo, onde, ao atingirem a concentração necessária, podem influenciar no desenvolvimento dos microrganismos e das plantas que nele se encontram. Nesse sentido, o efeito alelopático pode se pronunciar tanto durante o ciclo de cultivo, quanto nos cultivos subseqüentes (TEXEIRA *et al.*, 2004).

D- Mecanismos de ação dos compostos alelopáticos.

Aleloquímicos alteram o crescimento e o desenvolvimento de plantas pela multiplicidade de ações sobre os processos fisiológicos. Há centenas de diferentes estruturas e muitos dos compostos químicos apresentam vários efeitos fitotóxicos (EINHELLIG, 2002).

Entretanto, os mecanismos de ação desses compostos ainda não estão completamente esclarecidos. Sabe-se que os mesmos afetam processos, tais como a germinação das sementes e o crescimento das plântulas, a assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteína, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular (DURIGAN & ALMEIDA, 1993; RODRIGUES *et al.*, 1992; EINHELLIG, 1996).

E- Principais classes de agentes alelopáticos.

RICE (1984) classifica os compostos aleloquímicos em 14 categorias, sendo elas: ácido cinâmico e seus derivados, cumarinas, fenóis simples, derivados do ácido benzóico e ácido gálico, flavonóides, taninos condensados e hidrolisados, terpenóides e esteróides, ácidos orgânicos solúveis em água, lactonas simples insaturadas, ácidos graxos de cadeia longa, naftoquinonas, antraquinonas e quinonas, aminoácidos e polipeptídeos, alcalóides e cianoidrinas, glicosídeos, purinas e nucleosídeos.

Sabe-se que uma mesma planta é capaz de produzir diversos aleloquímicos e que entre estes se desencadeiam diversas interações. Muitos compostos são volatilizados ou liberados pela exudação das raízes, sendo lixiviados para o solo a partir de plantas vivas ou mediante resíduos em decomposição. Alguns compostos que chegam no ambiente atuam diretamente na inibição de germinação ou crescimento das espécies receptoras porém, outros apresentam propriedades alelopáticas apenas após transformações químicas proporcionadas pelos microrganismos presentes no solo, demonstrando com isso que a atividade biológica pode ser potencializada por seus produtos de degradação (DUKE, 2002).

Ácidos fenólicos e flavonóides estão amplamente distribuídos nos tecidos vegetais e freqüentemente são associados a fenômenos alelopáticos. A maior parte dos estudos realizados tem tido como objetivo estabelecer os mecanismos de ação dessas duas classes de compostos. Ácidos fenólicos são mencionados como responsáveis pela redução de absorção de micro e macronutrientes em diversas espécies. Ácido ferúlico pode atuar na inibição da absorção de fosfato enquanto que ácido clorogênico pode alterar o balanço de nutrientes nas plantas. Os flavonóides naringenina, genisteína e canferol também interferem de maneira indireta (SANTOS & REZENDE, 2008).

F- Produtos naturais com atividade herbicida.

Estudos comparativos entre a ação de herbicidas sintéticos e de substâncias químicas isoladas a partir de plantas mostram haver alguma semelhança entre sítios e mecanismos de ação. Um exemplo de tal fato pôde ser observado entre cineol e o herbicida cinmetilina. O 1,8 cineol e seu análogo 1,4

cineol tem suas atividades fitotóxicas estudadas desde a década de 60, sendo capazes de inibir o crescimento de muitas plantas daninhas (ROMAGNI, *et al.*, 2000).

O herbicida comercial cinmetilina, um composto análogo ao cineol (2-benzil éter- substituído) é intensamente utilizado no controle de plantas daninhas (monocotiledôneas). Ambos os compostos (tanto o natural quanto o sintético) apresentam o mesmo mecanismo de ação, causando inibição da síntese da enzima asparagina. Entretanto, muitos outros sítios moleculares de ação e ou mecanismo de ação, os quais vêm sendo observados em certos compostos naturais, não foram observados nos herbicidas disponíveis no mercado (ROMAGNI *et al.*, 2000).

Tal constatação é de extrema importância uma vez que a resistência de plantas daninhas a herbicidas ocorre quando se utiliza um mesmo herbicida por muito tempo, ou herbicidas diferentes, porém, com o mesmo mecanismo de ação. Dessa forma se faz necessária a descoberta de compostos com diferentes sítios de ação quando comparados aos herbicidas tradicionais (DUKE *et al.*, 2000).

Com modificações químicas alguns metabólitos secundários de plantas com fitotoxicidade podem ser a base de novos herbicidas. Um dos primeiros e mais potentes fitotóxicos estudados em plantas é o 1,8-cineol. Esse composto produzido por muitas espécies de plantas tem sido reportado em alelopatia planta-planta. No entanto, é um composto volátil não sendo viável para ser usado efetivamente como herbicida. Modificações do 1,8-cineol levaram a cimetilina, um herbicida sintético desenvolvido, mas nunca comercializado (DUKE & ABBAS, 1996).

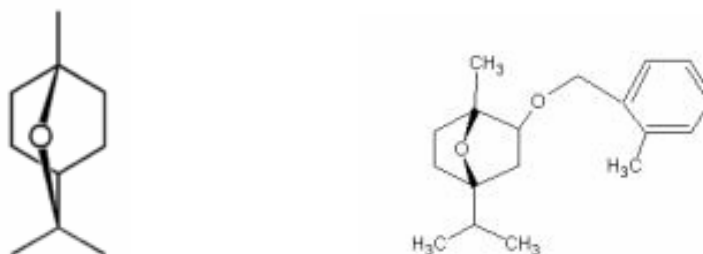


Figura 2. Estruturas químicas do 1,8 cineol e herbicida cinmetilina.

G- Herbicidas comerciais utilizados no controle de plantas daninhas.

A aplicação de herbicidas, dependendo do princípio ativo ou da formulação, da dose utilizada, dos microrganismos presentes e da sensibilidade destes aos diversos produtos (ROYUELA *et al.*, 1998), das condições climáticas e do tipo de solo (SILVA *et al.*, 2003), pode trazer conseqüências indesejáveis para a microbiota. Acredita-se que a maior interferência desses compostos ocorre quando eles agem sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns entre microrganismos e plantas.

A classificação dos mecanismos de ação de herbicidas depende do risco de desenvolvimento de resistência pelas espécies alvo. Os herbicidas, inibidores do Fotossistema II, apresentam elevado número de biótipos resistentes. Considerando que os produtos são comercializados há mais de 40 anos, seu mecanismo de ação tornou-se menos suscetível ao desenvolvimento de resistência, sendo classificados como risco médio (CHRISTOFFOLET *et al.*, 2004).

O glifosato é um herbicida comercial citado como pouco tóxico, mas há evidências de efeitos deletérios no ambiente, principalmente devido à resistência adquirida por algumas espécies de plantas daninhas, após o uso prolongado do herbicida. A utilização do glifosato altera diferentes processos bioquímicos vitais em plantas, como a biossíntese de aminoácidos aromáticos, proteínas e ácidos nucléicos (GLASS, 1984). O herbicida é absorvido pelo tecido vivo e translocado, via floema, através da planta para as raízes e rizomas. Sua atuação nos vegetais inibe a ação da enzima específica enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintase (EPSP), impedindo a síntese de aminoácidos aromáticos que são precursores de outras substâncias como alcalóides, flavonóides e lignina. As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em poucos dias ou semanas, e devido ao seu transporte por todo o sistema nenhuma parte da planta sobrevive. Por sua rápida adsorção no solo, não é facilmente lixiviado, sendo pouco provável a contaminação de águas subterrâneas. Em raras ocasiões, o pesticida tem sido detectado em amostras de águas mas, em geral, isto ocorre devido à dificuldade de separação do composto e também devido ao fato de não ser considerado um sério contaminante aquático (AMARANTE JUNIOR *et al.*, 2002).

A atrazina (2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina), herbicida pré e pós-emergente, é importante representante do grupo das triazinas. Tem sido utilizada no controle anual de plantas daninhas em grande variedade de culturas, incluindo as de milho, cana-de-açúcar, sorgo e pinus. Devido ao uso intenso, baixa reatividade e solubilidade, é comumente detectado no monitoramento de solos e águas subterrâneas. Seus resíduos e metabólitos podem ser encontrados nesses locais após longo tempo de aplicação (MELI *et al.*, 1992, citado por COUTINHO, 2006), pois seu tempo de vida médio varia de 20 até mais de 100 dias e seus resíduos também são encontrados em frutas e vegetais (ATRAZINE, 2008).

O herbicida basagran é utilizado apenas em pós-emergência, devido à absorção primariamente foliar e à pequena capacidade de translocação. Os efeitos de fitotoxicidade manifestam-se próximos ou nos locais pulverizados, sendo que as plantas são mais sensíveis quando mais tecidos tenros estão presentes. A dessecação do tecido foliar e perda da capacidade fotossintética leva à paralisação do crescimento e à morte (HEAP, 2008).

Gesagard caracteriza-se pela ação graminicida acentuada, notadamente sobre as espécies anuais, e algumas espécies de folhas largas. O ingrediente ativo prometrina é absorvido pelas radículas

das gramíneas e folhas largas e se transloca pelo xilema para o ponto de crescimento matando as plantas, através da inibição do processo de fotossíntese. Em aplicação na pós-emergência, o produto tem ação de contato sobre as plantas daninhas, assim como, se transloca pelo xilema inibindo o processo de fotossíntese causando a morte das plantas sensíveis (CIB, 2008).

Poast é um herbicida de espectro estreito registrado para o controle de gramíneas anuais e perenes. Ao contrário dos outros herbicidas mencionados acima, a setoxidina interfere na biossíntese de ácidos graxos, necessária para síntese e manutenção de membranas, e não na produção de aminoácidos. O herbicida é ativo contra a enzima acetil-CoA-carboxilase (ACCCase) (CIB, 2008).

H- A Fluorescência variável/Fluorescência máxima (Fv/Fm) como biomarcador de exposição e efeito.

Sabe-se que algumas macromoléculas do fotossistema II (FSII) ligam-se a alguns grupos de pesticidas, metais tóxicos e outras substâncias químicas que interferem na sua atividade. Utilizando o FSII como biomarcador é possível testar a inibição da reação de Hill e mudanças na fluorescência da clorofila a em células vegetais submetidas às mais diversas condições (GIARDI *et al.*, 2001).

Estudos tem demonstrado a sensibilidade deste parâmetro fisiológico em resposta a várias substâncias tóxicas como pesticidas e/ou herbicidas (HAYNES *et al.*, 2000; MACINNIS e RALPH, 2003; FRANKART *et al.*, 2003; GEOFFROY *et al.*, 2004), metais tóxicos (DANILOV & EKELUND, 2001; GIARDI *et al.*, 2001; NIKOOKAR *et al.*, 2005), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (BENNET *et al.*, 2000) e amostras de efluentes e sedimentos contaminados (THOMPSON, 1997).

I- Determinação da Fluorescência variável/Fluorescência máxima (Fv/Fm).

A partir da medida de eficiência da fluorescência da clorofila a, pode-se obter informações sobre as mudanças na eficiência fotoquímica e na dissipação pelo calor (MAXWELL & JOHNSON, 2000). A indução da fluorescência ou excitação da clorofila a pela luz é um processo que ocorre naturalmente durante a fase clara do processo fotossintético e foi observado pela primeira vez por KAUTSKY *et al.* (1960). Ao absorver a energia luminosa, as moléculas de clorofila a atingem um estado transitório de maior energia e repassam elétrons através da sequência de reações de oxi-redução do FSII em direção ao FSI, onde ocorre a conversão em energia fotoquímica. Após este nível máximo de fluorescência ser atingido, há um decaimento na fluorescência até esta atingir o nível basal, onde as moléculas de clorofila a estão menos energizadas e novamente aptas a absorver a energia luminosa. Este fenômeno é chamado de dissipação da energia de excitação (MAXWELL & JOHNSON, 2000).

Para realizar a medida dos níveis mínimo e máximo da fluorescência é necessário que o FSII esteja momentaneamente fora de atividade, garantindo que toda a fluorescência remanescente da

clorofila a, originária do processo fotossintético desenvolvido até então, tenha se dissipado e que os centros de reação estejam totalmente oxidados, ou seja, com potencial de realizar a máxima fotoquímica. Daí a necessidade da adaptação da amostra ao escuro (SCHREIBER *et al.* 2002).

A relação Fluorescência variável/ Fluorescência média (Fv/Fm) indica a eficiência em que a energia luminosa, captada pelo complexo antena e pelas moléculas de clorofila a do centro de reação P680, é encaminhada em direção ao restante do desenvolvimento do processo fotoquímico (MAXWELL & JOHNSON, 2000; SCHREIBER *et al.* 2002). De forma análoga à eficiência de uma máquina, a performance ou eficiência fotossintética é função da diferença entre o máximo (Fm) e o mínimo de energia (Fo) utilizada para realizar trabalho (SCHREIBER *et al.* 2002, LICHTENTHALER *et al.*, 2005).

J- Indução da fluorescência máxima da clorofila a.

Recentemente, a medida da fluorescência variável da clorofila a é realizada usando-se fluorímetros de pulso de amplitude modulada (PAM fluorometer). É cada vez mais freqüente a aplicação dos “métodos de pulso de saturação” em estudos sobre a fisiologia de organismos fotossintetizantes (OXBOROUGH & BAKER, 1997; SCHREIBER *et al.*, 2002; KÜSTER & ALTENBURGER, 2007; TUKAJ *et al.*, 2007). Tais métodos permitem a determinação de diversos parâmetros de fluorescência da clorofila a, de forma rápida e não invasiva, os quais podem ser usados com sucesso para detectar alterações metabólicas em diversas espécies (BAKER & ROSENQVIST, 2004).

O fluorímetro é atualmente utilizado em diversos estudos de monitoramento da produtividade primária em ecossistemas terrestres e aquáticos (JAKOB *et al.*, 2005; LUGOMELA *et al.*, 2005; MARCHETTI *et al.*, 2006) e de algas nocivas (SCHOFIELD *et al.*, 1998; EVENS *et al.*, 2001; WARNER e MADDEN, 2007). Existem no mercado vários tipos de fluorímetros de pulso de amplitude modulada, para uso em diferentes tipos de estudo (WALZ, 2006). Recentemente, desenvolveu-se um fluorímetro para uso em bioensaios toxicológicos com limite de detecção, para compostos com toxicidade similar à do herbicida diuron, menor do que $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (SCHREIBER *et al.*, 2002).

O fluorímetro PEA Plant (Efficiency Analyser) é equipado com um sensor que capta a fluorescência da clorofila a e uma lâmpada que emite um forte pulso de luz que ocasiona o bloqueio do FSII. No momento do pulso de luz ocorre a total saturação dos transportadores de elétrons do FSII ocasionando o seu bloqueio e, conseqüentemente, impedindo a ocorrência do processo fotoquímico e induzindo a máxima fluorescência da clorofila a (SCHREIBER *et al.*, 2002)

K- Metodologias empregadas em estudos de alelopatia.

Através do seu processo de evolução, as plantas superiores têm desenvolvido capacidade para sintetizar, acumular e excretar uma variedade de metabólitos secundários, os quais, segundo sua definição, não possuem uma função reconhecida no ciclo de vida da planta. A função dos metabólitos secundários foi por um longo tempo considerada somente como uma estratégia para as mesmas se defenderem de predadores e parasitas. Entretanto, com recentes avanços na química de produtos naturais de diferentes espécies de plantas, diferenças qualitativas e quantitativas dos metabólitos secundários existentes têm-se tornado evidentes e explicam a função destes nos processos ecológicos naturais e agrícolas (SIQUEIRA *et al.*, 1991).

A alelopatia implica na liberação de aleloquímicos, geralmente oriundos de plantas para o meio ambiente. Desta forma, modifica o comportamento germinativo e o desenvolvimento de outras espécies vegetais e influi na constituição dos ecossistemas naturais e das culturas (EINHELLIG *et al.*, 1985; PUTNAM & WESTON, 1986; SMITH & MARTIN, 1994). Atualmente, um dos aspectos mais estudados em alelopatia é o reconhecimento da resposta característica de um organismo em relação aos aleloquímicos, isto é, estimulação (vegetal) ou atração (animal) e baixas concentrações dos aleloquímicos e inibição (vegetal) ou repelência (animal) aos aumentos de concentração (AN *et al.*, 1993).

O estudo do comportamento germinativo de uma espécie vegetal sob a ação de aleloquímicos utiliza como ferramentas os bioensaios, que servem para avaliar o potencial alelopático das espécies em estudo e acompanhar a resposta biológica durante as fases de extração, fracionamento, purificação e identificação dos compostos (LEATHER e EINHELLIG, 1986).

O bioensaio mais utilizado é a germinação de sementes em placas de petri com papel filtro (LEATHER e EINHELLIG, 1986; MACIAS *et al.*, 2000 a), sendo recomendado para critério morfológico de germinação, como primeira abordagem, devendo ser seguido por testes de germinação em solo ou areia (FERREIRA & AQUILA, 2000).

Os testes de germinação, em geral, são menos sensíveis aos aleloquímicos do que aqueles que avaliam o desenvolvimento das plântulas, como por exemplo, comprimento ou massa seca da raiz primária ou parte aérea. Porém, a quantificação experimental é muito mais simples, pois para cada semente o processo é discreto, germina ou não germina. Nesse contexto, substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da raiz um dos sintomas mais comuns (FERREIRA & AQUILA, 2000).

A Massa seca da raiz ou parte aérea, bem como o comprimento das plântulas ou radículas, são os parâmetros mais usados para avaliar o efeito alelopático sobre o crescimento (JACOBI e FERREIRA, 1991; INDERJIT & DAKSHINI; 1995; PRATLEY *et al.*, 1999).

Geralmente, a espécie-alvo mais utilizada é a alface (*Lactuca sativa* L.), devido a sua alta taxa de germinação e sensibilidade. A utilização de espécies comerciais para os bioensaios tem como vantagem o fato dessas espécies serem geneticamente homogêneas, apresentarem germinação uniforme e estarem facilmente disponíveis; já as espécies silvestres são geneticamente mais heterogêneas que as cultivadas, e apresentam vários graus de sensibilidade para tratamento similar, além da germinação não ser uniforme (MACIAS *et al.*, 2000 a).

MACIAS *et al.*, (2000 a) propõem o uso de várias espécies como modelos para os bioensaios, representantes de ambas as classes taxonômicas, assim como eudicotiledôneas: *L. sativa* (Alface, Asteraceae), *Daucus carota* L. (cenoura, Apiaceae), *Lepidium sativum* L. (agrião, Brassicaceae), *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate, Solanaceae); e monocotiledôneas: *Allium cepa* L. (cebola, Liliaceae), *Hordeum vulgare* L. (cevada, Poaceae), *Triticum aestivum* L. (trigo, Poaceae) e *Zea mays* L. (milho, Poaceae).

Alguns parâmetros como o pH e o volume de solução usado nos bioensaios devem ser levados em consideração visto que podem interferir na resposta alelopática (LEATHER & EINHELLIG, 1986; FERREIRA & AQUILA, 2000; MACIAS *et al.*, 2000 a). MACIAS *et al.* (2000 a) recomendam o uso de pH 6,0 e um volume de solução de 0,2 mL por semente.

Para se estabelecer a sensibilidade das espécies alvos e comparar as respostas dos aleloquímicos com a dos herbicidas, MACIAS *et al.* (2000 a) recomendam o uso de bioensaios com herbicidas comerciais no intervalo de 10^{-2} a 10^{-9} M.

L- Óleos voláteis.

Os óleos voláteis são misturas complexas que podem conter cerca de 100 compostos. Seus constituintes podem pertencer às mais diversas classes de compostos, porém os terpenos e os fenilpropanóides são os mais comumente encontrados. Os terpenos são derivados da condensação de um número variável de unidades pentacarbonadas, denominadas unidades isoprênicas (SIMÕES & SPITZER 2003).

Os compostos terpênicos mais freqüentes nos óleos voláteis são os monoterpenos e os sesquiterpenos, sendo que os monoterpenos correspondem a aproximadamente 90% dos óleos voláteis. A volatilidade de alguns terpenos faz com que sejam facilmente perceptíveis no aroma das plantas e são extraídos pela destilação de órgãos vegetais. Em geral, os sesquiterpenos são menos voláteis que os monoterpenos, mas podem influenciar sensivelmente no odor dos óleos em que ocorrem (LOAYSA *et al.*, 1995).

Os constituintes dos óleos voláteis variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e

cumarinas, até compostos com enxofre. Na composição do óleo, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, sendo um deles o componente majoritário; outros aparecem com teores menores e alguns, em baixíssimas quantidades, apenas traços (SIMÕES & SPITZER 2003).

Os óleos voláteis são solúveis em solventes orgânicos apolares. Em água, a solubilidade é limitada, mas suficiente para aromatizar soluções aquosas. Outras características são: sabor (geralmente ácido e picante), cor (incolores ou ligeiramente amarelados) e baixa estabilidade principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais. A maioria dos óleos voláteis tem índice de refração específico e são opticamente ativos, propriedades estas usadas na identificação e no controle da qualidade (SIMÕES & SPITZER 2003).

M- Efeitos alelopáticos dos óleos voláteis.

Vários trabalhos tem relatado o potencial herbicida dos óleos voláteis. O efeito dos óleos voláteis na inibição da germinação e crescimento de sementes em laboratório é atribuído a ação individual ou conjunta dos componentes presentes (AN *et al.*, 1993).

Os efeitos alelopáticos de monoterpenos podem ser bastante seletivos. O 1,8^c cineol por exemplo, demonstrou ser extremamente tóxico contra gramíneas da espécie *Schizachyrium scoparium*, que ocorrem junto as comunidades de *Pinus*, porém para a espécie *Leptochloa dubia*, o mesmo terpenóide demonstrou ser inativo (FISCHER *et al.*, 1991).

VOKOU *et al.*, (2003), investigaram o potencial alelopático de 47 terpenóides de diferentes grupos a fim de examinar o efeito destes compostos na germinação e crescimento de *Lactuca sativa*, sendo que 24 compostos foram extremamente ativos na inibição do crescimento, em percentuais superiores a 85%, mas somente 5 compostos exibiram atividade na inibição da germinação de sementes.

Efeitos alelopáticos têm sido registrados para terpenos voláteis de *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, *Artemisia absinthium* L., *Artemisia Californica* Less., *Sassafras abdiium* Ness e *Salvia leucophylla* Greene (FLACH *et al.*, 2002).

Existem também evidências de que alguns insetos utilizam óleos voláteis seqüestrados de plantas para se defenderem de seus predadores. Certos himenópteros, por exemplo, seqüestram α e β -pineno entre outros componentes de *Pinus silvestris* L., como defesa contra predadores como as formigas (FISCHER *et al.*, 1991; HARBORNE *et al.*, 1993, citado por FERREIRA *et al.*, 2000).

A partir de estudos fitoquímicos, tem sido possível o descobrimento de novos representantes de mono e sesquiterpenos, que em muitos casos analisados, são compostos de óleos voláteis (FLACH *et al.*, 2002).

N- *Hydrocotyle bonariensis* LAM. (Araliaceae)

Segundo FIASCHI & PIRANI (2005) Araliaceae está incluída na ordem Apiales e compreende cerca de 40 gêneros e 1500 espécies no mundo. Os gêneros *Aralia*, *Dendropanax*, *Hydrocotyle*, *Oreopanax*, *Pentapanax* e *Schefflera*, compreendendo aproximadamente 50 espécies encontradas em território brasileiro (FIASCHI & PIRANI, 2005). Recentes estudos moleculares propõem a transferência do gênero *Hydrocotyle* de Apiaceae, para fazer parte de Araliaceae; o que foi sustentado por dados moleculares (HENWOOD & HART, 2001).

Os representantes desta família apresentam porte arbóreo ou arbustivo, raramente lianas lenhosas (*Hedera*) ou ervas perenes (*Hydrocotyle*) (FIASCHI & PIRANI, 2005).

O gênero *Hydrocotyle* foi classificado tradicionalmente na Família Apiaceae, subfamília Hydrocotyloideae, devido as suas flores pequenas, em umbelas compostas (Apoideae) ou simples (HENWOOD & HART, 2001). É representado por 16 espécies, sendo *H. bonariensis*, *H. leucocephala* e *H. ranunculoides* as mais difundidas no Brasil. Segundo HACKBART & CORDAZZO (2003) as espécies do gênero são aquáticas ou de lugares úmidos, sendo que *H. bonariensis* é uma das espécies mais abundantes existente na restinga litorânea do Rio Grande do Sul, se desenvolvendo em terrenos úmidos arenosos das dunas.

Hydrocotyle bonariensis Lam. (Figura 3), é uma planta nativa conhecida popularmente como erva de capitão ou acariçoba. A planta é nativa nas Américas, ocorrendo dos Estados Unidos até a Argentina e Chile, sendo mencionada como infestante em arroz no Perú. No Brasil, tem vasta distribuição, especialmente na região Costeira, sendo uma planta com facilidade de adaptação a climas variados, podendo ocorrer desde solos secos até na areia das restingas e praias da Costa Atlântica, onde é particularmente mais freqüente (KISSMAN, 1997).

Segundo MACIEL (2005) suas raízes são diuréticas, usadas em obstrução hepática, como aperientes, amargas e tônicas. Em altas doses são eméticas e as folhas só devem ser usadas externamente, para tirar manchas da pele. A planta também é utilizada no combate às afecções do baço, fígado e intestino, diarreia, reumatismo e sífilis (LORENZI, 2000).

Tabela 1. Enquadramento taxonômico de *Hydrocotyle bonariensis* LAM.

	Segundo Cronquist 1981	Segundo Engler (Joly, 1998)	APG II 2003
Divisão	Magnoliophyta	Angiospermae-Anthophyta	Eudicotiledoneas Core
Classe	Magnoliopsida	Dicoiledoneae	Asterideas
Subclasse	Aralianae	Sympetaleae (Gamopetaleae)	Euaserideas II
Ordem	Ariales	Campanulales (Synandreae)	Apiales
Família	Apiaceae	Umbelliferae	Araliaceae
Gênero	<i>Hydrocotyle</i>	<i>Hydrocotyle</i>	<i>Hydrocotyle</i>

Espécie	<i>Hydrocotyle bonariensis</i>	<i>Hydrocotyle bonariensis</i>	<i>Hydrocotyle bonariensis</i>
---------	--------------------------------	--------------------------------	--------------------------------



Figura 2. *H. bonariensis* (Foto: C.B. da Silva).

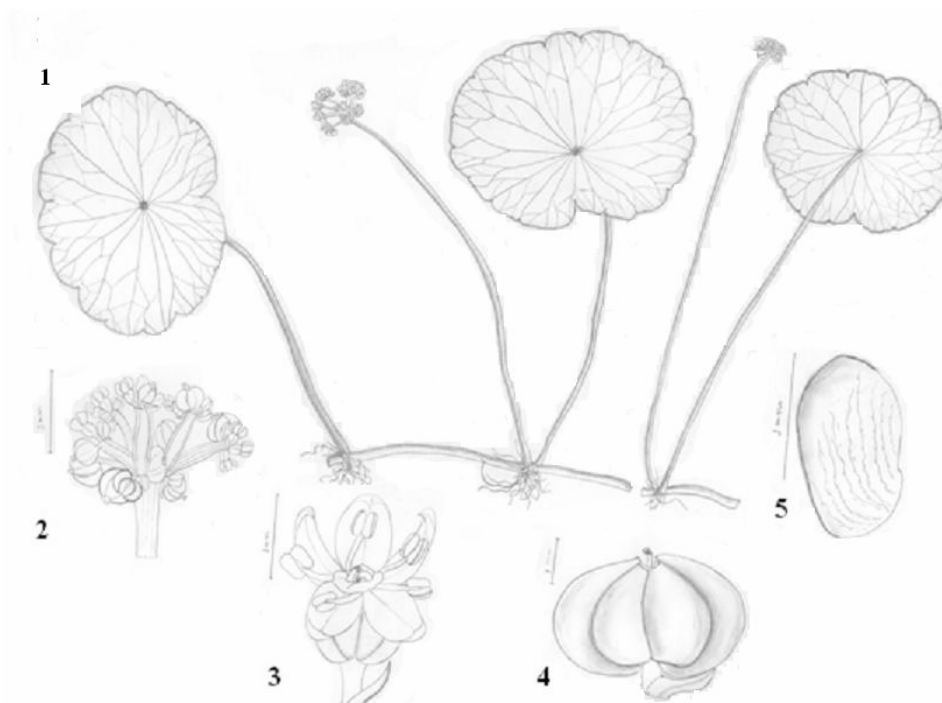


Figura 3. *Hydrocotyle bonariensis* – 1.Hábito, 2.inflorescência, 3.flor, 4.fruto, 5.semente (Ilustração: A.C.M. Cristaldo).

O- Perfil dos metabólitos secundários no gênero *Hydrocotyle*.

Estudos químicos com espécies do gênero *Hydrocotyle* revelaram uma grande diversidade de substâncias bioativas, com padrões moleculares variáveis. A literatura relata o isolamento de vários metabólitos secundários em espécies deste gênero, tais como flavonóides, flavonas (SHIGEMATSU *et al.*, 1982), saponinas (MATSUSHITA *et al.*, 2004), fenóis (JANARDHANAN & THOPPIL, 2002), e triterpenos (DELLA GRECA *et al.*, 1994). Na literatura, não foi encontrado registros sobre o perfil químico de metabólitos secundários em *H. bonariensis*.

P- Análise Química

Cromatografia

A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a *fase móvel* e a *fase estacionária*. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação (COLLINS *et al.*, 1993).

O termo cromatografia foi primeiramente empregado em 1906 e sua utilização é atribuída a um botânico russo ao descrever suas experiências na separação dos componentes de extratos de folhas sendo a técnica descrita conhecida como cromatografia (*chrom* = cor e *graphie* = escrita), podendo levar à errônea idéia de que o processo seja dependente da cor (LOUGH, 1995).

Apesar deste estudo e de outros anteriores, que também poderiam ser considerados precursores do uso dessa técnica, a cromatografia foi praticamente ignorada até a década de 30, quando foi redescoberta. A partir daí, diversos trabalhos na área possibilitaram seu aperfeiçoamento e, em conjunto com os avanços tecnológicos, levaram-na a um elevado grau de sofisticação, o qual resultou no seu grande potencial de aplicação em muitas áreas (COLLINS *et al.*, 1993).

Existe uma variedade de tipos de cromatografia (Figura 4), sendo sua classificação feita através da técnica utilizada (planar ou em coluna), do mecanismo de separação envolvido (adsorção, partição, troca iônica, bioafinidade ou exclusão), dos diferentes tipos de fases utilizadas (referente aos diversos tipos e estado físico das fases estacionária e móvel), além do método de introdução da amostra e seu subsequente desenvolvimento (eluição, deslocamento e análise frontal) (COLLINS *et al.*, 1993).

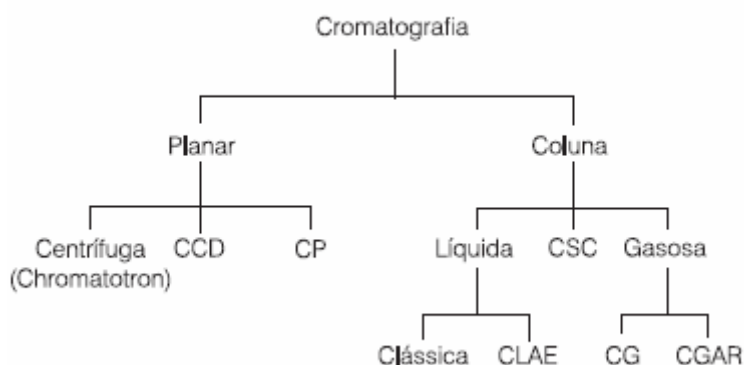


Figura 4. Representação esquemática dos diferentes tipos de cromatografia (Fonte: COLLINS *et al.*, 1993).

Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método rápido, eficiente, de baixo custo e largamente empregado em controle de qualidade de plantas medicinais, tanto em matéria-prima vegetal quanto em fitoterápicos derivados (JULIÃO *et al.*, 2003).

De modo geral, a sílica é empregada na separação de compostos lipofílicos como aldeídos, cetonas, fenóis, ácidos graxos, aminoácidos, alcalóides e esteróides (LOPES, 1990).

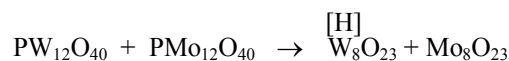
As cromatoplasas (placas com as substâncias separadas), após o desenvolvimento, são secas e reveladas. A revelação consiste em tornar visíveis as substâncias incolores presentes na amostra e pode ser realizada através de métodos físicos (luz ultravioleta), químicos (vapores de iodo, vanilina, tricloreto de antimônio etc.) e biológicos (através de reações enzimáticas ou bacterianas) (LOPES, 1990).

A CCD possui a vantagem de ser uma técnica de fácil compreensão, execução e baixo custo, além de conseguir separações em breve espaço de tempo.

Análises espectrofotométricas utilizadas para a quantificação total de fenóis.

O teor de fenóis totais pode ser determinado de acordo como o método de Folin-Ciocalteu. O procedimento baseia-se em uma reação de óxido-redução, na qual o íon fenolato é oxidado em meio alcalino, enquanto reduz o complexo fosfotúngstico-fosfomolibdico do reagente, para uma solução azul (o cromóforo) (esquema 1), que absorve fortemente em 760 nm. Este método, não faz medidas da quantidade de materiais fenólicos, mas é, na realidade, baseado na capacidade química de redução destes em relação a uma capacidade de redução equivalente do ácido gálico. Dessa forma, vários

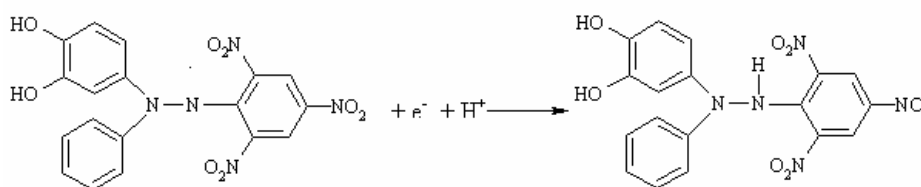
compostos fenólicos possuem diferentes respostas neste ensaio (FUNARI e FERRO, 2006; KATALINIC *et al.*, 2004).



Esquema 01 – Reação de Folin-Ciocalteu

Avaliação da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH.

Na presença de um antioxidante que possa doar um elétron, a cor púrpura, que é típica do radical livre estável 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) (**01**), diminui, e a mudança na cor pode ser visualizada tanto em placas cromatográficas contendo os materiais em análise, quanto por medidas da absorbância a 517 nm, em espectrofotômetro. A forma reduzida do DPPH (**02**) é indicada, em placas cromatográficas, pela formação de halos de cor amarelo claro nas posições onde há substâncias antioxidantes, ao mesmo tempo em que a cor púrpura permanece, no restante da placa (esquema 2).



(01) Púrpura

(02) Amarelo Claro

Esquema 2. Atividade antioxidante frente ao DPPH.

Este teste simples pode fornecer informações quanto à capacidade de um composto em doar um átomo de hidrogênio, quanto ao número de elétrons que uma certa molécula pode doar e quanto ao mecanismo de ação antioxidante. Quando a estrutura química do doador de elétrons não é conhecida (por exemplo, tratando-se de um extrato vegetal), este método pode fornecer dados relativos ao poder redutor da amostra sob análise (ZHUANG, *et al.*, 1999; POULLAIN, *et al.*, 2004; VAYA e AVIRAM, 2004).

Diante do exposto, o objetivo no presente trabalho foi avaliar a atividade antioxidante e o potencial de atividade alelopática da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis*, na germinação/emergência e crescimento de eudicotiledôneas e monocotiledôneas em bioensaios em laboratório e em casa de vegetação.

A partir do objetivo geral têm-se os seguintes objetivos específicos:

1. Obter os extratos bruto da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis* e as frações semipurificadas (fração hexânica, acetato de etila e etanol-água);
2. Obter os óleos voláteis das folhas de *H. bonariensis*;

3. Avaliar o efeito do extrato bruto e das frações semipurificadas (fração hexânica, acetato de etila e etanol-água) da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis* na germinação e no crescimento inicial da raiz primária e hipocótilo/coleótilo e massa seca das plântulas de eudicotiledôneas, alface, *Lactuca sativa* L. cv. Grand rapids (Asteraceae) e tomate, *Lycopersicon esculentum* Mill cv. Santa Clara (Solanaceae); e das monocotiledôneas, cebola, *Allium cepa* L. cv. Baia periforme (Liliaceae) e trigo, *Triticum aestivum* L. cv. RRS 220 (Poaceae), em laboratório;
4. Fazer um estudo preliminar da composição química e atividade alelopática dos óleos voláteis extraídos das folhas de *H. bonariensis*, na germinação e no crescimento inicial da raiz primária e hipocótilo/coleótilo e massa seca das plântulas de alface, *Lactuca sativa* L. cv. Grand rapids (Asteraceae) e cebola, *Allium cepa* L. cv. Baia periforme (Liliaceae) em laboratório;
5. Avaliar a sensibilidade das espécies alvo por meio de bioensaios com herbicidas comerciais nas concentrações de 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} M, e comparar os efeitos de herbicidas comerciais com as frações, em laboratório;
6. Avaliar o efeito do extrato etanólico bruto e das frações semipurificadas da parte aérea de *H. bonariensis* na emergência e no crescimento, número de folhas, teor de clorofila, fluorescência variável da clorofila a e massa seca da raiz e da parte aérea das eudicotiledôneas, alface, *L. sativa* cv. Grand rapids (Asteraceae) e tomate, *L. esculentum* cv. Santa Clara (Solanaceae); e das monocotiledôneas, cebola, *A. cepa* cv. Baia periforme (Liliaceae) e trigo, *T. aestivum* cv. RRS 220 (Poaceae), em casa de vegetação;
7. Realizar análises químicas de cromatografia em camada delgada para detecção das principais classes de compostos químicos presentes no extrato etanólico e frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis*;
8. Quantificar o teor total de fenóis presentes no extrato etanólico e frações semipurificadas da parte aérea de *H. bonariensis*.
9. Avaliar a atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH no extrato etanólico e frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. S. **Alelopatia e as plantas**. Londrina: IAPAR, 1988. 68 p.

AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n.4, p.589-593, 2002.

AN, M.; JOHNSON, I.R.; LOVETT, J.V. Mathematical modeling of allelopathy: biological response to allelochemicals and its interpretation. **Journal of Chemical Ecology**, v.19, n.10, p.2379-2388, 1993.

ATRAZINE. **Atrazine in Vermont: carcinogen & endocrine disruptor**. Disponível em: <http://www.sover.net/dogstar/atrazin2.html>. Acesso: 20/01/08.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**. v. 55, p. 1607-1621, 2004.

BENNETT, A.; BIANCHI, T. S.; MEANS, J. C. The Effects of PAH Contamination and Grazing on the Abundance and Composition of Microphytobenthos in Salt Marsh Sediments (Pass Fourchon, LA, U.S.A.): II: The Use of Plant Pigments as Biomarkers. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v. 50, n. 3, p. 425-439, 2000.

CIB. **Herbicide resistance**. Disponível em: www.cib.org.br/pdf/fbci03port.pdf. Acesso em: 25/01/08.

CHUNG, I.M.; A.H.N, J.K.; YUN, S.J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p.921-928, 2001.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 5 ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.

COUTINHO, C.; TANIMOTO, S.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.; TAKAYAMA, M.; DO AMARAL, R.; MAZO, L.; AVACA, L.; MACHADO, S. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.15, n.10, p. 61-72, 2006.

CHRISTOFFOLET, P.J.; OVEREJO, R.F.L.; CARVALHO, J. C. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 2. ed., Campinas: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas aos Herbicidas, 2004.

DANILOV, R.A.; EKELUND, N.G.A. Effects of Cu²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺ and pentachlorophenol on photosynthesis and motility in *Chlamydomonas reinhardtii* in short-term exposure experiments. **BMC Ecology**, v.1, p.1-10, 2001.

DELLA GRECA, M.; FIORENTINO, A.; MONACO, P.; PREVITERA, L. Polyoxygenated oleanane triterpenes from *Hydrocotyle ranunculoides*. **Phytochemistry**, v. 35, n.1, p. 201-204, 1994.

DUKE, S.O. & ABBAS, H.K. Natural products with potential use as herbicides. In: NARWAL, S.S. & TAURO, P. **Allelopathy in pest management for sustainable agriculture**. Scientific publisher. Jodhpur, India, 1996.

DUKE, O.S.; ROMAGNI,G.J.; DAYAN, E.F. Natural products as source for new mechanisms of herbicidal action. **Crop Protection**, v.19, p.583, 2000.

DUKE, S. O.; BAERSON, S.R.; DAYAN, F.E.; , KAGAN, I.A. Chemical from nature for weed management. **Weed Science**, v. 50,n. 2, p. 138-151, 2002.

DURIGAN, J. C.; ALMEIDA, F. S. **Noções sobre a alelopatia**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 1993. 28 p. Boletim.

EINHELLIG, F.A.; MUTH, M.S.; SCHON, M.K. Effects of allelochemicals on plant-water relationships. In: THOMPSON, A.C. (Ed.). **The Chemistry of allelopathy: Biochemical interaction among plants**. Washington, D.C: American Chemical Society, p.170-195, 1985.

EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.

EINHELLIG, F.A. The physiology of allelochemical action: Clues and views. In: REIGOSA, M. & PEDROL, N. **Allelopathy from Molecules to Ecosystems**. Vigo, Universidade de Vigo. p. 1-23, 2002.

EVENS, T. J.; KIRKPATRICK, G. J.; MILLIE, D. F. CHAPMAN, D. J.; SCHOFIELD, O. M. E. Photophysiological responses of the toxic red-tide dinoflagellate *Gymnodinium breve* (Dinophyceae) under natural sunlight. **Journal of Plankton Research**. v.23, n. 11, p. 1177- 1194, 2001.

FERREIRA, D.T.; ALVARES, P.S.M.; HOUGHTON, P.J.; BRAZ- FILHO, B. Constituintes químicos das raízes de *Pyrostegia Venusta* e considerações sobre a sua importância medicinal. **Química Nova**, v.23.n.1, p. 42-46, 2000.

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

FIASCHI, P.; PIRANI, J.R. Flora da Serra do Cipó. **Boletim Botânico Universitário**. v. 23, n. 2, p. 267-275. 2005.

FISCHER, N.H. Plant terpenoids as allelopathic agents. In: HARBORNE J.B., TOMAS-BARBERAN F.A. **Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids**, Clarendon Press, Oxford, p. 377-398, 1991.

FLACH A.; SIMIONATTO, E.; SILVA, U.F.; ZANATTA, N.; MOREL, A.F.; LINARES, C.E. **Planta medica**, v. 68, p. 136-142, 2002.

FRANKART, C.; EULLAFFROY, P.; VERNET, G. Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 49, p.159-168, 2003.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de Própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.26, n. 1, p. 171-178, 2006.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. Cr.; LIMA, J.G.A. SALGUEIRO. Allelopathic activity of aqueous extracts of *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze in the germination and growth of *Lactuca sativa* L. and *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasilica**, v.18, n.3, p.459-472 July/Sept. 2004.

GEOFFROY, L.; FRANKART, C.; EULLAFFROY, P. Comparison of different physiological parameter responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin. **Environmental Pollution**, v.131, p. 233-241, 2004.

GIARDI, M. T.; KOBLÍZEK, M. E MASOJÍDEK, J. Photosystem II-based biosensors for the detection of pollutants. **Biosensors e Bioelectronics**. v. 16, n. 9, p.1027–1033, 2001.

GLASS, R. L. Metal-complex formation by glyphosate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.32, n.6, p. 1249-1253,1984.

HACKBART, V.C.S.; CORDAZZO, C.V. Ecologia das sementes e estabelecimento das plântulas de *Hydrocotyle bonariensis* LAM. **Atlântica**, v. 25, n.1, p.61-65, 2003.

HAYNES, D.; RALPH, P.; PRANGES, J.; DENNINSON, B. The Impact of the Herbicide Diuron on Photosynthesis in Three Species of Tropical Seagrass. **Marine Pollution Bulletin**. v. 41, p. 288-293, 2000.

HEAP, I. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: www.weedscience.com. Acesso em: 21/01/08.

HENWOOD, M.J.; Hart, J.M. Towards an understanding of the phylogenetic relationships of australian Hydrocotyloideae (Apiaceae).Edinb. **Journal of Botany**, v. 02, n. 58, p. 269-289. 2001.

INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 61, p. 28-44, 1995.

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

JAKOB, T.; SCHREIBER, U.; KIRCHESCH, V.; LANGNER, U.; WILHELM, C. Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: performance and methodological limits. **Photosynthesis Research**. v. 93, n. 3, p. 343-361, 2005.

JANARDHANAN M; THOPPIL J. Chemical composition of two species of *Hydrocotyle* (Apiaceae). **Acta Pharmaceutica**, v. 52, p. 67-69, 2002.

JULIÃO LS, TAVARES ES, LAGE CLS, LEITÃO SG. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13(Supl. 1): p. 36-38, 2003.

KATALINIC, V.; MILOS M.; MODUN, D.; MUSIÉ I.; BOBAN, M. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. **Food Chemistry**, 593-600, 2004, 86 p.

KAUTSKY, H.; APPEL, W.; ANAMM, H. Chlorophyll fluorescens und kohlenzure assimilation. **Biochemische Zeitschrift**. v. 322, p. 277-292, 1960.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. Tomo III., BASF: São Paulo,1997, 824 p.

KUSTER, A.; ALTENBURGER, R. Development and validation of a new fluorescence based bioassay for aquatic macrophyte species. **Chemosphere**. v. 67, n. 1, p. 194-201, 2007.

LEATHER, G.R. & EINHELLIG, F.A. Bioassays in the study of allelopathy. IN: PUTNAN, A.R. & TANG, C.S. **The Science of Allelopathy**. John Wiley and sons, New York, NY, p. 133-145. 1986.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C., KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio Rfd of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica**. v. 43, n. 3, p. 379-393, 2005.

LOAYSA, I.; ABUJDER, D.; ARANDA, R.; JAKUPOVIC, J.; COLLIN, G.; DESLAURIES, H.; JEAN, F.I. Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *B. latilifolia* and *B. dracunculifolia*. **Phytochemistry** v. 38, n. 3, p. 381-389, 1995.

LOPES, J.L.C. Cromatografia em camada delgada. In: COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. Campinas: Editora da Unicamp, p. 45-58, 1990.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres e aquáticas, parasitas e tóxicas. 3.ed., Nova Odessa: Plantarum, 2000. 608 p.

LOUGH, W.J. e WAINER, I.W. **High Performance liquid chromatography: fundamental principles and practice**. London, Blackie Academic and Professional, Inprint Chapman and Hall, p. 1-14, 1995.

LUGOMELA, C.; SÖDERBÄCKB, E.;BJÖRK, M. Photosynthesis rates in cyanobacteria dominated sub-tidal biofilms near Zanzibar, Tanzania. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v. 63, n. 3, p.439-446, 2005.

MACIAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species . **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 48, n. 66, p. 2512-2521, 2000.

MACIAS, F.A., GALLINDO, J.C.G., MOLINILLO, J.M.G. Plant biocommunicators: Application of allelopathic studies. In: **2000 Years of Natural Products Research Past, Present and Future**, Ed Teus J.C. Luijendijk, Phytoconsult, p. 137-161, 2000b.

MACIAS, A.F.; FERNANDEZ, A.; VARELA, R.M.; MOLINILLO, J.M.G.; TORRES, A.; ALVES, P.L.C.A. Sesquiterpene lactones as allelochemicals. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 5, p. 795-800, 2006.

MACIEL, M.W. **Educação Ambiental como Instrumento na Busca de Soluções para os problemas sócio-ambientais na ilha dos Marinheiros** (2005). Disponível em <http://ibama2.ibama.gov.br/cnia2/edicoes/pubSeriadasmMeioAmbiente.html>. Acesso em: 13/ 8/ 2008.

MACINNIS, C. M. O; RALPH, P. J. Short-term response and recovery of *Zostera capricorni* photosynthesis after herbicide exposure. **Aquatic Botany**, v. 76, p.1-15, 2003.

MARCHETTI, A.; SHERRYB, N. D.; JUNEAC, P.; STRZEPEKD, R. F.; HARRISONE, P. J. Phytoplankton processes during a mesoscale iron enrichment in the NE subarctic Pacific: Part III — Primary productivity. **Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**. v. 53, n. 20, p. 2131-2151, 2006.

MATSUCHITA, A; SASAKI, Y; WARASHINA, T; MIYASE, T; NOGUCHI, H; VANDER V, D. Hydrocotylosides I-VII, New Oleanane Saponins from *Hydrocotyle sibthorpioides*. **Journal of Natural Products**. v.67, n.3, p.384-388. 2004.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia – importância e suas aplicações. **Horti Sul**. v.1, n. 3, p. 27-32, 1990.

NIKOOKAR, K.; MORADSHAHI, A.; HOSSEINI, L. Physiological responses of *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta* to copper toxicity. **Biomolecular Engineering**. v. 22, n. 4, p.141-146, 2005.

OXBOROUGH, K.; BAKER, N. R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components – calculation of qP and Fv'/Fm' without measuring Fo'. **Photosynthesis Research**. v. 54, p. 135–142, 1997.

POULLAIN, C.; GIRARD-VALENCIENNES, E.; SMADJA, J. Plants from reunion island: evaluation of their free radical scavenging and antioxidant activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 1, p. 19-26, 2004.

PRATLEY, J.E.; NA, M.; HAIG, T. Following a specific protocol establish allelopathy conclusively - an Australian case study. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. & CUTLER, H.G.(Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz,. v.1, p.63-70, 1999.

PUTNAM, A.R. & TANG, C.S. Allelopathy state of the science. In: PUTNAM, A.R. & TANG, C.S. **The science of allelopathy**. John Wiley & Sons: New York. p. 1-19. 1986.

PUTNAM, A.R.; WESTON, L.A. Adverse impacts of allelopathy in agricultural systems. In: PUTNAM, A.R.; TANG, C. (Eds.). **The science of allelopathy**. New York: A. Willey-Interscience Pub. v.3, p.43-56, 1986.

RICE, L. **Allelopathy**, Academic Press: Londres, 1984, 423 p.

RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D.; REIS, R. A. **Alelopatia em plantas forrageiras**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 18 p. Boletim, 1992.

ROYUELA, M. Imazethapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with pea. **Pesticide Science**, v. 52, p. 372-380, 1998.

ROMAGNI, J.G.; DIKE, S.O. DAYAN, F.E. Inhibition of *asparagine syntetase* by 1,4 cineol, the key to the mode of action of cinmethylin. **Plant Physiology**, v.123, p.725, 2000.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 4 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 333-364, 2002.

SANTOS, S., REZENDE, M.O.O. Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. **Revista Analytica**. v. 2, n. 32, 2008.

SCHMID, J.; AMRHEIN, N. Molecular organization of the shikimate pathway in higher plants. **Phytochemistry**, v. 39, n. 4, p. 737-749, 1995.

SCHOFIELD, O.; GRZYMSKI, J.; MOLINE, M. M. A.; JOVINE, R. V. M. Impact of temperature acclimation on photosynthesis in the toxic red-tide dinoflagellate *Alexandrium fundyense* (Ca28). **Journal of Plankton Research**. v. 20, n. 7, p.1241-1258, 1998.

SHIGEMATSU, N.; KOUNO, I.; KAWANO, N. Quercetin 3-(6''- caffeoylgalactoside) from *Hydrocotyle sibthorpioides*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 8, p. 2156- 2158, 1982.

SCHREIBER, U.; MULLER, J. F.; HAUGGL, A.; GADERMANN, R. New type of dual-channel PAM chlorophyll fluorometer for highly sensitive water toxicity biotests. **Photosynthesis Research**, v. 74, n. 317–330, 2002.

SILVA, Z. L. Alelopatia e defesa em plantas. **Boletim Geográfico**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 258-259, p. 90-96, 1978.

SILVA, A. A. **Controle de plantas daninhas**. Brasília: ABEAS, módulo 3, 2003, 260 p.

SIMÕES, C.M.O. & SPITZER, V. Óleos Voláteis. *In*: C.M.O. Simões, E.P., Schenkel, G., Gosmann, J.C.P., Mello, L.A., Mentz, P.R. & Petrovik (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFSC, pp. 467-495, 2003.

SMITH, A. F.; MARTIN, L. D. Allelopathic characteristics of three cool-season grass species in the forage ecosystem. **Agronomy Journal**, v. 86, n. 2, p. 243-246, 1994.

SIQUEIRA, J.O.; MURALEEDHARAN, N.G.; HAMMERSCHMIDT, R.; SAFIR, G.R. Significance of phenolic compounds in Plant-Soil-Microbial Systems. **Critical reviews in Plant Sciences**, v.10, n.1, p.63-121, 1991.

SOUZA, I. F. Alelopatia de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 13, n. 150, p. 75-78, 1988.

SOUZA -FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. Mecanismos de ação dos agentes alelopáticos. *In*: FILHO, A.P.S.S.; SÉRGIO,M.A. **Alelopatia: principios básicos e aspectos gerais**.1 ed. Embrapa. p.131-154. 2002.

TEXEIRA, C.M., ARAUJO, J.B.S., CARVALHO, G.J. Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de Picão-Preto (*Bidens pilosa* L.). **Ciência Agrotecnica**, v. 28, n. 3, p. 691-695, 2004.

THOMPSON, J. A. Cellular fluorescence capacity as an endpoint in algal toxicity testing. **Chemosphere**. v. 35, n. 9, p. 2027-2037, 1997.

TUKAJ, Z.; BASCIK-REMISIEWICZ, A.; SKOWRONSKI, T.; TUKAJ, C. Cadmium effect on the growth, photosynthesis, ultrastructure and phytochelatin content of green microalga *Scenedesmus armatus*: A study at low and elevated CO₂ concentration. **Environmental and Experimental Botany**., v. 60, p. 291-299, 2006.

TUKEY JÚNIOR, H. B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. **Botanical Review**, Bronx, v. 35, n. 1, p. 1-16, 1969.

VAYA, J.; AVIRAM, M. **Nutritional antioxidants: Mechanisms of action, analyses of activities and medical applications**. Disponível em <http://www.bentham.org/cmciema1-1/sample/cmciema1-1/vaya-ms.htm>, acesso em julho/2007.

VOKOU, D.; DOUVLI, P.; BLIONIS, G.J.; HALLEY, J.M. **Journal of Chemical Ecology**. v.29, p.2281-2294, 2003.

VYVYAN, J.R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**. v. 58, p.1631-1646, 2002.

ZHUANG, Q.; SCHOLZ, F.; PRAGST, F. The voltametric behaviour of solid 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) microparticles. **Electrochemistry Communications**, v. 1, p. 406-410, 1999.

WARNER, M. E. E MADDEN, M. L. The impact of shifts to elevated irradiance on the growth and photochemical activity of the harmful algae *Chattonella subsalsa* and *Prorocentrum minimum* from Delaware. **Harmful Algae**, v. 6, n. 3, p. 332-342, 2007.

WEIDENHAMER, J. D. Distinguishing resource competition and chemical interference: overcoming the methodological impasse. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 866-875, 1996.

Capítulo 2

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae)

Fw: [QN] - Submissão Temporária - tmp tmp_3804

From: <sbqedit@iq.usp.br>
To: <mperes@propp.ufms.br>
Sent: Thursday, December 11, 2008 8:04 PM
Subject: [QN] - Submissão Temporária - tmp tmp_3804
REF.: tmp tmp_3804

Prezado Prof. Peres, Marize

Obrigado por submeter seu manuscrito "COMPOSIÇÃO QUÍMICA E TIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (ARALIACEAE)" para publicação na Química Nova, QN.

O NÚMERO TEMPORÁRIO é: tmp_3804 tmp.

Assim que o seu arquivo PDF for verificado, o seu manuscrito será inserido no sistema, e você receberá um outro e-mail com o NÚMERO DE REFERÊNCIA, confirmando assim a submissão (este novo e-mail poderá demorar até 3 dias úteis para ser enviado).

Caso você tenha alguma outra dúvida a respeito desta submissão, por favor, entre em contato com a Gerente Editorial da QN no e-mail: sbqedit@iq.usp.br.

Atenciosamente,

Pricila Gil
SBQ - gerente editorial
Caixa Postal: 26037
05513-970 São Paulo - SP

Tel.: +55.11.30322299
Fax.: +55.11.38143602
web: <http://quimicanova.sbq.org.br>
e-mail : sbqedit@iq.usp.br

Fw: [QN] - Nova Submissão - Referência 678/08

From: <sbqedit@iq.usp.br>
To: <mperes@propp.ufms.br>
Sent: Monday, December 15, 2008 4:13 PM
Subject: [QN] - Nova Submissão - Referência 678/08

REF.: 678/08 Prof. Peres, Marize,

Obrigado por submeter seu manuscrito "COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (ARALIACEAE)" para publicação na Química Nova, QN. O NÚMERO DE REFERÊNCIA é: 678/08. A editoria solicita o envio de declaração assinada por todos os autores, concordando com a submissão do trabalho "COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (ARALIACEAE)" 678/08 e com a publicação futura, caso seja aceito. O envio deverá ser feito por e-mail ou por correio (preferencialmente SEDEX 10). Por favor, guarde e use sempre este número para tratar de qualquer assunto sobre seu manuscrito. Seu trabalho será apreciado o mais breve possível e entraremos em contato tão logo tenhamos o resultado da análise. Em qualquer momento, você pode checar o status de seu manuscrito no site da QN (quimicanova.s bq.org.br). Em caso de dúvidas, entre em contato com a gerente Editorial no e-mail sbqedit@iq.usp.br.

Agradecemos o seu interesse pela QN.

Atenciosamente;

Pricila Gil
SBQ - gerente editorial
Caixa Postal: 26037
05513-970 São Paulo – SP
Tel.: +55.11.30322299
Fax.: +55.11.38143602
web: <http://quimicanova.s bq.org.br>
e-mail : sbqedit@iq.usp.br

Fw: [QN] - Pedido de Revisão ao Autor - 678/08
Caixa de entradaX

From: <sbqedit@iq.usp.br>
To: <mperes@propp.ufms.br>
Sent: Tuesday, April 07, 2009 2:44 PM
Subject: [QN] - Pedido de Revisão ao Autor - 678/08

REF.: 678/08

Ilmo(a).Sr(a).
Prof(a). Peres, Marize
UFMS
Campo Grande, MS

Prezado(a) Prof(a). Peres, Marize,

Comunicamos a V.Sa. que seu manuscrito "COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (ARALIACEAE)" [REF.: 678/08] foi considerado para publicação em Química Nova, tendo recebido o seguinte parecer:

1. O artigo foi aceito para publicação.
2. O artigo poderá ser publicado, desde que atenda as sugestões do(s) assessor(es) em anexo e se enquadre nas normas da revista - ver em <http://quimicanova.sbq.org.br> - PRAZO MÁXIMO DE RETORNO - 30 DIAS
3. O artigo poderá ser reconsiderado para publicação desde que devidamente reformulado e se enquadre nas normas da revista - ver em <http://quimicanova.sbq.org.br> - PRAZO MÁXIMO DE RETORNO - 30 DIAS
4. Recusado.

[X] PARA PODER DAR CONTINUIDADE AO PROCESSO DE AVALIAÇÃO, a editoria solicita o envio de declaração assinada por todos os autores, concordando com a submissão do trabalho "COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (ARALIACEAE)" 678/08 e com a publicação futura, caso seja aceito. O envio deverá ser feito por e-mail (declaração assinada e escaneada) ou por correio (preferencialmente SEDEX 10).

Assessor 1 - Comentários:

(em anexo)

Assessor 1 - Report:

Recomendação Aceito desde que atenda as modificações sugeridas acima

---Guia de Avaliação

QUESTION: O manuscrito está bem redigido, organizado e apresentado?

ANSWER: Sim

QUESTION: O material contém dados inéditos suficientes para justificar a publicação?

ANSWER: Sim

QUESTION: Considera o abstract adequado e informativo?

ANSWER: Sim

QUESTION: As conclusões são justificadas pelos resultados apresentados?

ANSWER: Sim

QUESTION: A bibliografia é adequada e atual?

ANSWER: Sim

QUESTION: Todas as figuras e tabelas são necessárias?

ANSWER: Sim

QUESTION: A qualidade das figuras é adequada para publicação?

ANSWER: Sim

QUESTION: O manuscrito contém algum material que possa ser omitido sem perda de qualidade? Em caso afirmativo, indique nos comentários qual(is) deve(m) ser omitido(s)

ANSWER: Não

---Língua

QUESTION: Opine sobre a qualidade do inglês do abstract e/ou do manuscrito:

ANSWER: Bom

=====

Comentários do EDITOR:

Comentários e sugestões adicionais:

Reunir referências 1-4 em 1 (ver normas de QN)

Segundo parágrafo da introdução (pag. 3) e primeiro parágrafo da pag1 podem ser omitidos sem perda de conteúdo.

Os autores devem considerar que o termo óleo essencial só pode ser empregado quando o óleo é obtido sem extração com solventes. Não foi o caso do presente trabalho, portanto os autores devem utilizar o termo correto.

Instruções para envio de Versão Revisada e Carta Resposta:

Pede-se gentilmente que os seguintes itens sejam observados e que seja enviado:

1) CARTA RESPOSTA, DESTACANDO EM ITENS quais as mudanças feitas e como foi tratado cada comentário feito por cada um dos Assessores e também pelo Editor (se necessário).

2) ARQUIVO PDF COMPLETO da Versão Revisada do seu manuscrito (AS ALTERAÇÕES DEVEM SER MARCADAS EM CORES DIFERENCIADAS. ISTO É IMPORTANTE e DESEJÁVEL).

3) Para enviar estes 2 (dois) arquivos, entre no site da QN, vá para a sua Página do Autor e procure pelo item "Manuscritos aguardando Nova Versão (Clique no título)"

A nova versão do seu manuscrito deve ser retornada em, no máximo, 30 DIAS.

Agradecemos o seu interesse, cooperação e compreensão. Em caso de dúvidas, por favor, entre em contato.

Informações adicionais sobre formatação e estilo adotados pela QN, podem ser obtidos nas edições impressas mais recentes ou em <http://quimicanova.sbq.org.br>.

Atenciosamente,

Pricila Gil
SBQ - gerente editorial
Caixa Postal: 26037
05513-970 São Paulo - SP

Tel.: +55.11.30322299
Fax.: +55.11.38143602
web: <http://quimicanova.sbq.org.br>
e-mail : sbqedit@iq.usp.br

NORMAS GERAIS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS NA QUÍMICA NOVA

GERAL

Serão considerados para publicação na Revista Química Nova manuscritos que cubram as áreas tradicionais da Química bem como artigos sobre Ensino de Química, História da Química, Política Científica, etc, além de artigos de áreas afins, desde que tenham acentuado conteúdo químico. Os trabalhos devem se encaixar dentro de uma das modalidades abaixo: Artigos Originais (em português, inglês ou espanhol): refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo Introdução, Resultados e Discussão, Parte Experimental etc, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas. Artigos de Revisão destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

É imprescindível que, na referida área, o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, por e-mail, um resumo da revisão pretendida, acompanhado de uma carta explicativa da pertinência do trabalho. O material será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de QN, e só então será dado início ao processo de avaliação pelos assessores.

O Corpo Editorial de *QN* poderá, eventualmente, convidar pesquisadores qualificados para submeter artigo de revisão.

Artigos sobre Educação (em português ou espanhol): trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Notas Técnicas (em português, inglês ou espanhol): trabalhos de comunicação de métodos, validação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Assuntos Gerais (em português, inglês ou espanhol): abordagem de assuntos de interesse geral dos químicos, tais como política científica, programas de graduação e pós-graduação, história da

química. etc. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas etc. e todas as páginas deverão ser numeradas.

PREPARAÇÃO DE MANUSCRITOS

Todos os trabalhos deverão ser digitados em espaço duplo, utilizando somente Microsoft Word. A seguir, deve ser gerado um único arquivo no formato .pdf, do trabalho todo, para ser submetido através do sistema *on line* de *QN*. A revista não aceita mais a submissão de trabalhos por outra forma.

A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão vir imediatamente após o nome de cada autor. Os autores deverão ser agrupados por endereço. O autor para correspondência, que deverá ser o mesmo que submete o artigo *on line*, deverá ser indicado com asterisco (*) e seu e-mail colocado no rodapé da página (um só e-mail).

A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho em inglês (abstract), com no máximo 100 (cem) palavras, e a indicação de 3 palavras-chave (keywords), também em inglês. As figuras (gráficos, esquemas, etc) deverão ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). As figuras, tabelas, esquemas, etc deverão ser colocadas após as referências e devidamente identificadas pelo respectivo número. Se escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços). No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm) Figuras coloridas terão custo de publicação repassado aos autores, quando da publicação. Esse valor só poderá ser informado aos autores quando o trabalho estiver previsto para ser publicado, ocasião em que a gráfica fornece o orçamento.

Para figuras, gráficos, esquemas, tabelas, etc idênticos aos já publicados anteriormente na literatura, os autores deverão pedir permissão para publicação junto à empresa/sociedade científica que detenha os direitos autorais e enviá-la à editoria de *QN* junto com a versão final do manuscrito. As referências deverão ser numeradas consecutivamente no texto, na forma de expoentes, após a pontuação (se houver). A lista de referências deverá ser colocada no final do texto. As legendas das figuras, gráficos e esquemas deverão ser colocadas em uma única folha à parte, separadas das figuras. A seguir, deverão ser colocadas as figuras, os gráficos, os esquemas, as tabelas e os quadros. No texto, deverá ser indicada apenas indicar a inserção de cada um (a).

REFERÊNCIAS

Revistas:

Será utilizada a abreviatura da revista como definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/sent.html>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder se localizada e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* 1990, 67, 518.
2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue: Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved.; Khim. Khim. Tekhnol.* 1976, 19, 708. (CA 85:78051s).
3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar doi da seguinte maneira: Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* 2000, 147, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* 1996, 7, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* 2001, 24, 473.

Patentes:

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

4. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 79 73,771 1979. (CA 91:P193174v)
5. Kadin, S.B.; *US pat.* 4,730,004 1988. (CA 110:P23729y)
6. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T.; *Br PI* 9.604.468-3, 1999.

Livros:

7. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

8. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

9. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses: 10. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

11. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas Internet:

12. <http://jbcs.sbq.org.br>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

Os autores devem procurar seguir, naquilo que for possível, as normas recomendadas pela IUPAC, inclusive o Sistema Internacional de Unidades. Sobre a nomenclatura de compostos (orgânicos e inorgânicos) já há traduções para a língua portuguesa publicadas em Q.N. Quanto aos Símbolos e Terminologias, onde não há tradução, espera-se que adaptação seja feita pelos autores, criando então, paulatinamente, um conjunto de normas em português.

SUBMISSÃO DOS ARTIGOS - A *QN* oferece aos autores a submissão *on line*, que pode ser acessada através do registro de Login e Senha. É possível registrar-se em nossa home page (<http://quimicanova.sbq.org.br>) usando a opção Novo Usuário. Usuários da plataforma do JBCS, já estão cadastrados na base (pois ela é comum às duas revistas), devendo utilizar o mesmo Login e Senha. Após estar cadastrado no sistema, o autor pode facilmente seguir as instruções fornecidas na tela. Será solicitada a submissão de um único arquivo do manuscrito completo, em formato PDF. Está disponível uma ferramenta para gerar o arquivo .pdf, a partir de arquivo .doc ou .rtf, com envio automático para o e-mail do autor. Tão logo seja completada a submissão, o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que este seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail com o número de referência do trabalho. Se não for recebido o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão. O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, a situação de seu manuscrito. Ao fazer a submissão, solicita-se uma

carta de apresentação, que deverá ser digitada no local indicado, sendo obrigatória a apresentação dos e-mails de todos os autores. Além disso, devem ser enviados também os nomes e e-mails de três ou quatro possíveis assessores, que não podem pertencer à (s) mesma (s) instituição (ões) dos autores.

Material Suplementar - Esta modalidade foi criada para que na versão impressa da revista apareça o número estritamente necessário de figuras e tabelas (6 a 7 figuras simples). Ressalta-se que, como este material ficará disponível apenas na versão *on line*, figuras, tabelas e ilustrações coloridas apresentadas na forma de material suplementar não terão custo repassado aos autores, nem limite de páginas. Porém, devem ter boa qualidade gráfica.

O material suplementar deverá ser colocado no final do trabalho, com indicação clara. Deverá ser submetido um único documento pdf, incluindo o material suplementar.

Os Editores poderão solicitar aos autores, em qualquer fase da tramitação, a separação de Material Suplementar.

MANUSCRITOS REVISADOS - Manuscritos enviados aos autores para revisão deverão retornar à Editoria dentro de prazo máximo de três meses ou serão considerados retirados, sendo que o sistema encerra o processo, não permitindo que seja reaberto. Vencido o prazo, deverá ser feita nova submissão, dando início a um novo processo.

A submissão do manuscrito revisado deverá ser feita pelo mesmo autor, usando o Login e a Senha registrados anteriormente. O autor deve seguir as instruções fornecidas na tela, para envio do documento .pdf completo da versão revisada e das respostas aos assessores, detalhando as alterações feitas na nova versão e justificando as alterações sugeridas nos pareceres e que não foram aceitas pelos autores. Esses dois arquivos devem ser enviados através da seção Envio de Nova Versão, na Página do Autor, no sistema de submissão *on line* de *QN*.

Tão logo seja completada a submissão o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que ele seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail contendo o número de referência do trabalho.

Se não receber o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão. O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, o status de seu manuscrito.

VERSÃO FINAL - Quando for solicitada a versão final, o autor receberá instruções específicas quanto a programas para envio de arquivos (texto, figuras, tabelas, etc). Arquivos em formato pdf não são mais solicitados nessa fase.

Se as Figuras forem escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços) com extensão tif ou jpg, desde que nas dimensões especificadas pelos Editores. As fotos ou desenhos com cor (300 dpi/grayscale) deverão ser enviadas com extensão tif/jpg, com largura máxima total de 8,5 cm para não haver problemas ao aplicá-las no padrão da Revista. Outras extensões possíveis: cdr, eps, cdx ou opj. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente.

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho será atestada por dois consultores, indicados pela Editoria.

Copyright © 2008 Sociedade Brasileira de Química

Para publicação, requer-se que os manuscritos submetidos a esta revista não tenham sido publicados anteriormente e não sejam submetidos ou publicados simultaneamente em outro periódico. Ao submeter o manuscrito, os autores concordam que o copyright de seu artigo seja transferido à Sociedade Brasileira de Química (SBQ), se e quando o artigo for aceito para publicação. O copyright abrange direitos exclusivos de reprodução e distribuição dos artigos, inclusive separatas, reproduções fotográficas, microfilmes ou quaisquer outras reproduções de natureza similar, inclusive traduções. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, armazenada em bancos de dados ou transmitida sob qualquer forma ou meio, seja eletrônico, eletrostático, mecânico, por fotocópia, gravação, mídia magnética ou algum outro modo, sem permissão por escrito da detentora do copyright. Embora todo esforço seja feito pela SBQ, Editores e Conselho Editorial para garantir que nenhum dado, opinião ou afirmativa errada ou enganosa apareçam nesta revista, deixa-se claro que o conteúdo dos artigos e propagandas aqui publicados são de responsabilidade, única e exclusiva, dos respectivos autores e anunciantes envolvidos. Conseqüentemente, a SBQ, o Conselho Editorial, os Editores e respectivos funcionários, diretores e agentes isentam-se, totalmente, de qualquer responsabilidade pelas conseqüências de quaisquer tais dados, opiniões ou afirmativas erradas ou enganosas.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Hydrocotyle bonariensis Lam (ARALIACEAE).

Cristiane B. da Silva

Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande- MS, Brasil.

Euclésio Simionatto, Sônia C. Hess e Marize T. L. P. Peres*

Departamento de Hidráulica e Transportes, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande- MS, Brasil

Edésio L. Simionatto e Alberto W. Júnior

Departamento de Química, Fundação Universidade Regional de Blumenau, Cep, 89010- 904, Blumenau-SC, Brasil.

Nilva R. Poppi

Departamento de Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande- MS, Brasil.

Odival Faccenda

Departamento de Ciências da Computação, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 79804-970, Dourados-MS, Brasil.

Ana C. da Silva Cândido e Silvana de P. Q. Scalon.

Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, 79804-970, Dourados- MS, Brasil.

CHEMICAL COMPOSITION AND ALLELOPATHIC ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM *Hydrocotyle bonariensis* Lam (ARALIACEAE)

The essential oil obtained from the leaves of *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae) was analyzed by GC, Chiral-GC and GC-MS. It was identified 14 compounds and the monoterpene (+)-limonene (53.6%) and sesquiterpene γ -muurolene (10.5%) were the main components. The allelopathic effects of the oil were evaluated against two seeds, *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. The results show that the oil exhibited inhibition effects in the germination and seedling growth of plants species relative to the control.

Keywords: Araliaceae, (+)-limonene, allelopathic effects.

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são líquidos aromáticos obtidos de materiais vegetais (flores, folhas, ramos, sementes, ervas, madeira, frutos, raízes e cascas), sendo constituídos por misturas complexas de terpenóides que podem conter até 100 ou mais compostos orgânicos. Os terpenos encontrados com maior frequência nos óleos essenciais são os monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides e com menor frequência os diterpenos. Seus constituintes terpênicos podem apresentar diversas funções orgânicas, como, álcoois, cetonas, éteres, ésteres e aldeídos. Os terpenos possuem também, diversas funções nas plantas atuando como fitoalexinas, repelentes de insetos, agentes de atração polínica, agentes de defesa contra herbívoros, feromônios, hormônios vegetais, moléculas de sinalização e aleloquímicos.¹⁻⁴

Efeitos alelopáticos foram registrados para terpenos voláteis de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus camaldulensis*, atuando especialmente como inibidores de germinação,³ e atualmente considera-se que existam funções ecológicas para os óleos voláteis, especialmente como inibidores de germinação e crescimento de raízes, entre outras propriedades.^{4,5} A presença de terpenos em *Artemisia absinthium* L., *Artemisia californica* Less. e *Salvia leucophylla* Greene, provoca um efeito inibitório intenso nas espécies da vizinhança devido à volatilização dos óleos essenciais, de modo que outras plantas são totalmente inibidas em um raio de 1 a 2 metros, gerando zonas de solo nu ao redor dos arbustos destas espécies.⁵ A redução da densidade de vegetação herbácea que se verifica debaixo das copas de *Eucalyptus microtheca* é decorrente, não somente da alteração da umidade do solo, nutrientes ou sombreamento, mas, principalmente, devido a ação de substâncias alelopáticas liberadas pelas folhas. Os monoterpenos α -pineno, canfeno, cineol, borneol citronellol, nerol, terpinen-4-ol, 1,8-cineol e cânfora são alguns compostos com atividade alelopática já descrita.⁶⁻⁸

A ação alelopática pode afetar toda a fisiologia da planta, bem como a composição e a quantidade de enzimas específicas que funcionam como catalisadores durante o metabolismo, influenciando nos estágios de desenvolvimento e crescimento, e estes estágios podem estar associados a outros fatores como estresses abióticos, salinidade do solo, umidade e temperatura.⁹ Um grande

número de plantas desenvolvem um sistema de defesa para proteção contra herbívoros, e quando atacadas, emitem substâncias voláteis, que podem ser constituídas por mono e/ ou sesquiterpenos.¹⁰

A família Araliaceae distribui-se em todo o território brasileiro, com 40 gêneros e 1500 espécies.¹¹ O gênero *Hydrocotyle* é representado por 16 espécies, sendo a maioria dos representantes aquáticos ou de lugares úmidos.¹² *Hydrocotyle bonariensis* LAM., é conhecida popularmente como erva-de-capitão ou acariçoba. A planta é nativa nas Américas, ocorrendo dos Estados Unidos até a Argentina e Chile, sendo mencionada como infestante em arroz no Peru. No Brasil, tem vasta distribuição, especialmente na região costeira, sendo uma planta infestante com facilidade de adaptação a climas variados, espalhando-se rapidamente, podendo ocorrer desde solos secos até na areia das restingas e praias da Costa Atlântica, onde é particularmente mais freqüente.¹³ Suas raízes são diuréticas, usadas em obstrução hepática, como aperientes, amargas e tônicas e em altas doses são eméticas e as folhas são usadas externamente, para tirar manchas da pele. A planta toda também é utilizada no combate às afecções do baço, fígado, intestino, diarreia, reumatismo e sífilis.¹⁴

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a composição química dos óleos essenciais extraídos das folhas de *H. bonariensis*, e avaliar o potencial de atividade alelopática, por meio de bioensaios de germinação e crescimento de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola), em laboratório.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo volátil das folhas de *H. bonariensis*, obtido através do processo de hidrodestilação teve um rendimento de 0,6%, sendo aqui, sua composição química descrita pela primeira vez. Os componentes químicos identificados no óleo de *H. bonariensis*, incluindo seus respectivos índices de retenção e porcentagens, estão sumarizados na Tabela 1. Foi possível identificar 14 compostos, representando 77,1% da composição química total do óleo, o qual é constituído principalmente por monoterpenos (58,1%) seguidos de sesquiterpenos (19%). Os compostos majoritários presentes no óleo volátil de *H. bonariensis* foram o monoterpeno limoneno, com concentração de 53,6%, seguido

do sesquiterpeno γ -muuroleno com 10,5%, o que corresponde a 64,1% do total. Outros componentes identificados em teores significativos foram *E*-cariofileno (2,7%), sabineno (1,9%), α -copaeno (1,8%), δ -cadineno (1,4%) e γ -terpineol (0,9%).

Devido ao fato de ser o monoterpeno quiral limoneno, o principal componente do óleo volátil de *H. bonariensis*, torna-se necessário a investigação de sua estereoquímica. O limoneno de ocorrência natural pode ser encontrado nas formas enantiomericamente puras (+) e (-), em misturas racêmicas, como também nas formas enriquecidas de seus enantiômeros.^{15, 16} No óleo de *H. bonariensis*, o limoneno foi analisado quanto a sua composição enantiomérica, utilizando uma coluna capilar empacotada com a fase quiral 2,6-Me-3-Pe- β -CD, padrões racêmicos e enantiomericamente puros. Após estas análises constatou-se que no óleo volátil de *H. bonariensis*, o limoneno possui o isômero de configuração (+) na forma enantiomericamente pura, ou seja, com excesso enantiomérico de 100% do (+)-limoneno.

Os monoterpenóides estão presentes na composição da maioria dos óleos essenciais de plantas e são, dentro desse grupo, os que têm sido identificados com maior potencialidade alelopática, influenciando na germinação de sementes e na inibição do crescimento da raiz.¹⁷

Em relação ao processo germinativo, foi verificado que todas as concentrações do óleo volátil de *H. bonariensis* reduziram significativamente a porcentagem de germinação em *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola), sendo as reduções de 54% em *Lactuca sativa* e 34% em *Allium cepa*, em relação ao controle, para a maior concentração ensaiada (1%) (Tabela 2).

Os dados referentes a correlação de Pearson indicaram que existe uma forte correlação negativa para todos os parâmetros avaliados, e observa-se que à medida em que ocorre um aumento na concentração de óleo ocorre uma diminuição nas variáveis observadas, sendo estas a germinação, crescimento da raiz e hipocótilo/coleótilo e massa seca (Tabela 3). Entre as espécies e variáveis avaliadas, foi verificado que os óleos voláteis causaram maior efeito sobre a germinação de cebola (-0,905), e no peso seco de alface (-0,865), evidenciando que existe uma relação dose-dependente para

todos os parâmetros avaliados, sendo, portanto maiores para a germinação de *Allium cepa* e o peso seco de *Lactuca sativa*.

No crescimento radicial das plântulas avaliadas foi verificado uma inibição significativa no crescimento da raiz de *Lactuca sativa* e *Allium cepa* em todas as concentrações ensaiadas, sendo que na menor concentração em *Allium cepa* não foi constatada diferença significativa. Na maior concentração (1,0%), foi observada inibição de 40% na raiz primária de *Lactuca sativa* e 56% em *Allium cepa*, em relação ao controle. No crescimento do hipocótilo em *Lactuca sativa*, as menores concentrações (0,12% e 0,25%) estimularam o alongamento do hipocótilo entre 4% e 7%, respectivamente, e as maiores concentrações (1,0%) inibiram o crescimento do hipocótilo de *Lactuca sativa* (20%). Em *Allium cepa*, foi verificada inibição no crescimento do coleótilo, em todas as concentrações ensaiadas, e observa-se uma relação dose-dependente, sendo a inibição de 45% na concentração de 1,0%, em relação ao controle (Figura 1).

Em relação a massa seca (Figura 1), houve redução no acúmulo de massa das plântulas de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, em todas as concentrações ensaiadas, em $\pm 45\%$ em *Lactuca sativa* e $\pm 50\%$ em *Allium cepa*, em relação ao controle, na concentração de 1,0%. Os resultados obtidos sugerem que os óleos essenciais das folhas de *H. bonariensis* contêm substâncias químicas, que agem em processos fisiológicos reduzindo o acúmulo de massa seca das plântulas ensaiadas. Durante a condução dos experimentos, foi observado que nos casos de estímulo, no crescimento das raízes, estas apresentaram-se mais finas e levemente oxidadas, enquanto que na inibição, foi verificado o engrossamento das raízes, além da ausência de pêlos absorventes.

A atividade alelopática raramente é resultado de uma única substância, sendo mais comum um conjunto de substâncias apresentando tal atividade. O entendimento das inter-relações complica-se pelo fato de um mesmo composto influenciar várias funções biológicas e a mesma função poder ser influenciada por mais de um composto. Por exemplo, monoterpenos como α -pineno e limoneno inibem o ciclo de nitrogênio; e os ácidos ferúlico e γ -cumárico influenciam a germinação de *Brassica napus* L. pela redução da mobilização lipídica.¹⁸

CONCLUSÕES

A constituição química do óleo essencial das folhas de *H. bonariensis* revelou ser rica em monoterpenos (58,1%), sendo que o (+) limoneno, por ser o constituinte majoritário (56,3%) aqui identificado, pode estar atuando de modo isolado ou sinérgico, com os outros monoterpenos e sesquiterpenos do óleo, provocando alterações na germinação e no crescimento das espécies-alvo em estudo.

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios de germinação das espécies em estudo, pode-se supor que os compostos químicos presentes no óleo volátil de *H. bonariensis* afetam algum processo fisiológico durante a germinação de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, sendo a maior alteração observada na inibição de *Lactuca sativa*. Em *Allium cepa* foi verificado que o efeito alelopático foi mais evidente no crescimento radicial das plântulas do que na porcentagem final de sementes germinadas, fato também observado por Periotto *et al.*, em estudos com extratos de *Andira humilis* Mart. ex Benth sobre *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L.¹⁹

Comparando-se o crescimento da raiz e da parte aérea (hipocótilo/coleótilo), observa-se que os efeitos alelopáticos foram mais evidentes no crescimento da raiz do que no da parte aérea. Este fenômeno pode ter ocorrido devido a absorção e, conseqüentemente, a concentração de fitotoxinas nos tecidos radiculares ser favorecida pelo contato físico da raiz com o papel filtro. Desta forma a bioatividade dos compostos voláteis está condicionada à capacidade de absorção, translocação e mecanismo de ação dos seus compostos potencialmente alelopáticos.²⁰ Constata-se desta forma que o óleo volátil de *H. bonariensis* apresenta potencialidades alelopáticas, as quais provavelmente têm relação com o aspecto dominante de populações desta espécie.

PARTE EXPERIMENTAL

Material Vegetal: As folhas de *H. bonariensis* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da UFGD, Dourados- MS. A identificação da planta foi determinada pelo Prof. Dr. Alan Sciamarelli, do

Departamento de Biologia da UFGD. Uma exsicata da planta encontra-se depositada no Herbário DDMS da Universidade Federal da Grande Dourados sob nº de registro 2190.

Extração do óleo volátil: As folhas frescas de *H. Bonariensis* foram submetidas a vários processos de hidrodestilação por quatro horas em aparelho do tipo Clevenger modificado, seguido pela extração exaustiva do destilado com hexano. Após a remoção do solvente, o rendimento do óleo bruto foi de 0,6% em relação ao material fresco.

Análise química: As análises em cromatografia gasosa foram realizadas em um aparelho Varian CP-3800, equipado com coluna capilar de sílica fundida ZB-5 (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano) [30m x 0,25mm, espessura do filme 0,2 (μm)], obtida da Phenomenex (Torrance, CA, USA). As condições de injeção foram: hidrogênio como gás carreador (1 mL/min); injetor split/splitless à 220° C; detector FID (detector de ionização em chama) à 280 °C; temperatura do forno foi de 50 °C à 250 °C com rampa de aquecimento de 4 °C/min. As análises em CG-EM foram realizadas em um sistema Varian GC-MS-MS, equipado com um cromatógrafo gasoso Varian – 3900, equipado com coluna capilar ZB-5, um injetor 1077, um injetor automático CP-8410, acoplado a um espectrômetro de massas Varian Saturn 2100, operando com impacto de elétrons de 70 e V, nas mesmas condições da análise em CG/FID. A identificação dos componentes do óleo foi baseada em comparações dos tempos de retenções, pela determinação e comparação dos índices retenção de Kovats, e espectros de massas da biblioteca NBS/NIST com os índices descritos por Adams.²¹ Uma série homologa de n-alcenos ($\text{C}_8\text{-C}_{32}$) foi utilizada para o cálculo dos índices de retenção de Kovats. A análise quiral do limoneno foi realizada em um aparelho Varian CP-3800, com coluna empacotada com a fase quiral 2,6-Me-3-Pe- β -CD, com o programa de temperatura de 40-180 °C, e rampa de 3 °C/min. A determinação da configuração absoluta do limoneno foi baseada em injeções e co-injeções com a mistura racêmica e padrões enantioméricamente puros de (+) e (-)-limoneno.

Bioensaios em Laboratório: Os bioensaios de germinação e crescimento foram realizados no Laboratório de Pesticidas Naturais - UFMS. Para o preparo das soluções 0,250 mg do óleo essencial foi emulsionado com Tween 80, na proporção 1:1 (v/v) e dissolvido em água destilada, obtendo-se a solução estoque na concentração de 1%. As demais concentrações (0,5, 0,25, 0,12 e 0,05%) foram preparadas por diluição. Como controle, foi utilizada uma solução de Tween 80 a 1,0% v/v.²²

Para os bioensaios de germinação, as placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro Whatman nº 1, receberam 5,0 mL de água destilada. Em seguida, foi semeado aleatoriamente sobre cada disco de papel filtro, 50 diásporos da espécie alvo (alface e cebola) distribuídas aleatoriamente, com quatro repetições para cada solução.²³ Após a semeadura, 3,0 mL da solução de cada concentração dos óleos voláteis foi distribuído em dois papéis filtro, colados na tampa da placa, evitando o contato direto com as sementes.²² Como controle procedimento similar foi utilizado, porém com ausência das soluções contendo os óleos voláteis.

As placas de Petri contendo os diásporos foram fechadas e envolvidas com filme plástico e levadas a uma câmara de germinação, com condições de luz (160 W), umidade relativa ($\pm 80\%$) e temperatura constantes, adequadas a espécie alvo (alface, 25°C com luz interna constante e cebola, 15°C e fotoperíodo de 12 h).²⁴ Após quatro dias de incubação para alface e cinco dias para cebola foi determinada a porcentagem de germinação, tendo como critério a protrusão radicular com no mínimo 2,0 mm de comprimento.²⁵

Para os bioensaios de crescimento, as sementes foram inicialmente germinadas em placas de Petri contendo papel filtro umedecidas com 5,0 mL de água destilada. Após a germinação, tendo como critério a protrusão radicular de no mínimo 2,0 mm de comprimento, foram selecionadas 80 plântulas (quatro repetições de 20), para cada tratamento, sendo então transferidas para as placas de Petri contendo as soluções tratamento, utilizando-se procedimento similar ao descrito nos bioensaios de germinação.²⁵ A leitura foi feita após quatro dias da incubação, com a medida do alongamento da raiz primária e do hipocótilo/coleótilo (dez plântulas por placa) utilizando – se papel milimetrado.

Posteriormente essas plântulas foram levadas a uma estufa a 60 °C até peso constante, para a obtenção da massa seca.

Os dados foram submetidos a análise de variância e quando os efeitos dos tratamentos foram significativos, ($p < 0,05$), em relação a testemunha, as médias foram comparadas pelo teste de Dunnet. Quando uma das pressuposições exigidas pelo modelo paramétrico não foi atendida utilizaram-se os testes estatísticos não paramétricos, Kruskal-Wallis como alternativa para a análise de variância e o Mann-Whitney como alternativa para o teste de Dunnet. Todos os resultados foram analisados considerando o nível de significância $\alpha = 5\%$.

A germinabilidade (%G) foi calculada segundo a metodologia descrita por Labouriau (1983).²⁴ O coeficiente de Correlação de Pearson bilateral foi utilizado para verificar o grau de associação das concentrações do óleo, com as variáveis investigadas, sendo estas a germinação, crescimento da raiz primária, hipocótilo/ coleótilo e massa seca.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Alan Sciamarelli, pela identificação botânica. A PROPP/UFMS e FUNDECT/CAPES, pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

1. Burt, S.; *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, *94*, 223.
2. Robbers, J. E.; Speedie, M. K.; Tyler, V. E.; *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, Willians & Wilkins: Baltimore-USA, 1997.
3. Castro, H. G.; Oliveira, L. O.; Barbosa, L. C. A.; Ferreira, F. A.; Silva, D. J. H.; Mosquim, P. R.; Nascimento, E. A.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 1.
4. Harborne, J. B.; *Ecological biochemistry*. 4.ed. London Academic: London, 1993.
5. Sangwan, N. S.; Farooqui, A. H. A.; Shabih, F.; Sangwan, R. S.; *Plant Growth Regul.* **2001**, *34*, 3.
6. Kordali, S.; Cakir, A.; Sutay, S.; *Z. Naturforsch. C*, **2007**, *62*, 207.
7. Nishida, N.; Tamotsu, S.; Nagata, N.; Saito, C.; Sakai, A.; *J. Chem. Ecol.* **2005**, *31*, 1187.
8. Angelini, L. G.; Carpanese, G.; Cioni, P. L.; Morelli, I.; Macchia, M.; Flamini, G.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6158.
9. Ferreira, A.G.; Áquila, M. E. A.; *Rev. Bras. Fis. Veg.*, **2000**, *12*, 175.
10. Pinto, C. A.; Silva, D. H. S.; Bolzani, V. S.; Lopes, N. P.; Epifanio, R. A.; *Quim. Nova*, **2002**, *25*, 45.
11. Henwood, M. J.; Hart, J. M.; *Edinb.. J. Bot.* **2001**, *58*, 269.
12. Fiaschi, P.; Pirani, J. R.; *Bol. Bot. Univ. S. Paulo*, **2005**, *23*, 267.
13. Kissmann, K. G.; *Plantas infestantes e nocivas*. 2. ed. Tomo III., BASF: São Paulo, 1997.
14. Lorenzi, H.; *Plantas daninhas do Brasil: terrestres e aquáticas, parasitas e tóxicas*. 3. ed., Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2000.
15. Simionatto, E.; Porto, C.; Dalcol, I. I.; da Silva, U. F.; Morel, A. F.; *Planta Med.* **2005**, *71*, 759.
16. Simionatto, E.; Porto, C.; da Silva, U. F.; Squizani, A. M.; Dalcol, I. I.; Morel, A. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1458.
17. Vickery, M. L.; Vickery, B.; *Secondary Plant Metabolism*, 2 ed., The Macmillan Press Ltda: Hong Kong, 1981.

18. Malheiros, A.; Peres, M. T. L. P.; Em *Alelopatia: interações químicas entre espécies*. Yunes, R. A.; Calixto, J.B., eds.; Moderna: Chapecó, 2001.
19. Periotto, F.; Perez, S. C. J. G. A.; Lima, M. I. S.; *Acta Bot. Bras.* **2004**, *18*, 3.
20. Correia, N. M.; Centurion, M. A. P. C.; Alves, P. L. C. A.; *Cienc. Rural* **2005**, *35*, 498.
21. Adams, R. P.; *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Illinois Allured - USA: Publishing, 1995.
22. Alves, M. C. S.; Medeiros-Filho, S.; Inneco, R.; Torres, S. B.; *Pesq. Agrop. Bras.* **2004**, *11*, 1083.
23. Brasil. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para a Análise de Sementes*, SNDA/DNDU/CLU, Brasília. 1992.
24. Laboriau, L. G.; *A Germinação das Sementes*. Secretaria geral da organização dos Estados Americanos. Washington D.C, Estados Unidos. 1983.
25. Ferreira, A. G.; Áquila, M. E. A.; *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* **2000**, *12*, 175.

Tabela 1. Composição química dos óleos voláteis das folhas de *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae).

Compostos ^a	%	RI ^{b,c}
01 α -tujeno	0,5	930
02 sabineno	1,9	973
03 β -pineno	0,4	983
04 (+)-limoneno	53,6	1030
05 linalool	0,8	1102
06 γ -terpineol	0,9	1198
07 α -copaeno	1,8	1377
08 α -cubebeno	0,5	1389
09 Ni ^d	0,6	1398
10 <i>E</i> -cariofileno	2,7	1421
11 α -trans-bergamoteno	0,7	1434
12 α -humuleno	0,6	1457
13 β -santaleno	0,8	1461
14 Ni ^{d,e}	8,9	1465
15 γ -muuroleno	10,5	1482
16 Ni ^d	1,2	1489
17 δ -cadineno	1,4	1520
<i>Monoterpenos id.</i>	58,1	
<i>Sesquiterpenos id.</i>	19,0	
TOTAL	87,9	

^aCompostos listados em ordem de eluição na coluna ZB-5; ^bIR índices de retenção; ^c Índices obtidos por temperatura programada e determinados na coluna apolar ZB-5 (50-250 °C; 3 °C/ min); ^dN.i. : substância não identificada por IR e pelas bibliotecas consultadas; ^eFragmentação observada *m/z* (%): 204 [M^+ (1%)], 189 (3%), 161 (18%), 137 (100%), 121 (11%), 105 (11%), 95 (33%), 81 (16%), 67 (18%).

Tabela 2. Efeito das concentrações do óleo essencial das folhas de *H. bonariensis* na porcentagem de germinação de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola).

		Porcentagem de germinação*					
		Controle	0,05%	0,12%	0,25%	0,5%	1%
<i>Lactuca</i>		96,5 ± 2,5 a	70,0 ± 1,6 b	62,0 ± 1,6 b	54,0 ± 2,3 b	53,0 ± 2,0 b	43,5 ± 2,5 b
<i>sativa</i>							
<i>Allium</i>		96,5 ± 2,5 a	88,0 ± 2,3 b	79,0 ± 2,5b	76,5 ± 1,9 b	70,0 ± 1,6 b	65,5 ± 1,9 b
<i>cepa</i>							

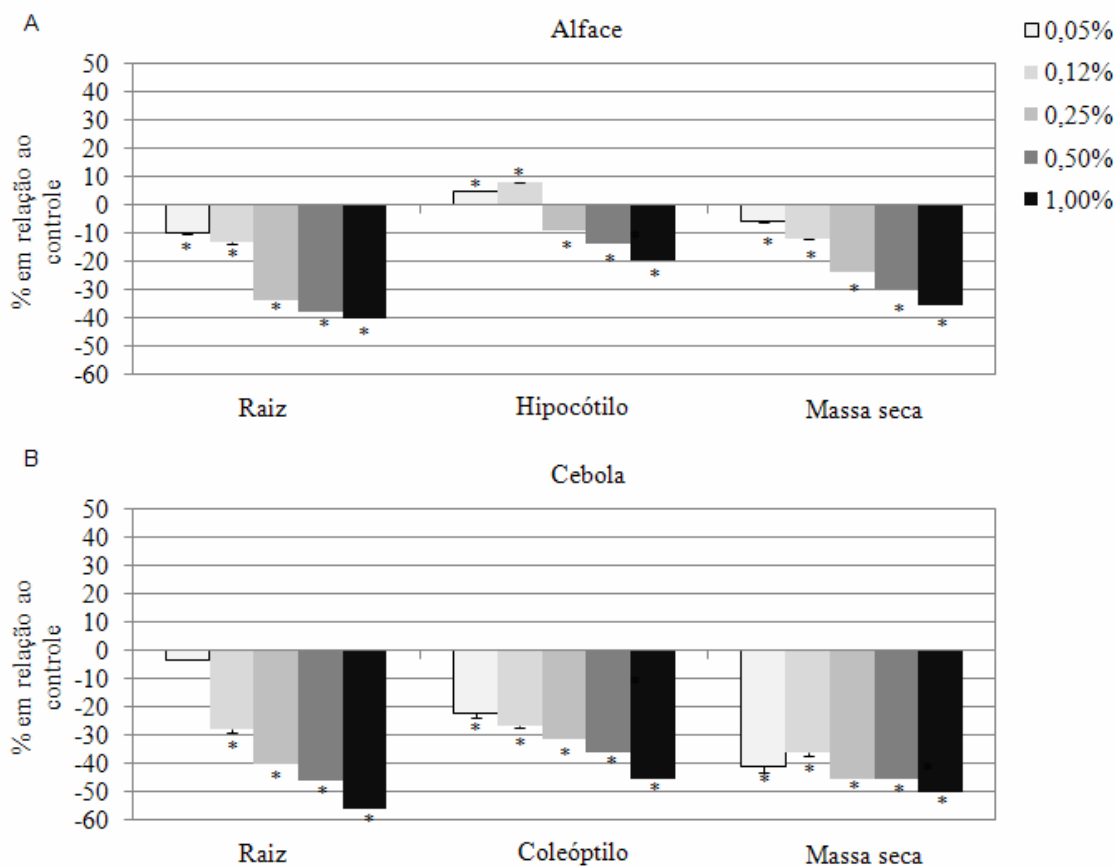
¹Médias seguidas de mesma letra do controle não diferem entre si pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade. * Média ± Desvio padrão.

Tabela 3. Coeficiente de correlação de Pearson das variáveis nas concentrações do óleo de *H. bonariensis* na porcentagem de germinação de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola).

Variáveis	Alface	Cebola
Germinação	-0,758**	-0,905**
Crescimento da raiz	-0,825**	-0,848**
Crescimento do hipocótilo/coleóptilo	-0,863**	-0,786**
Massa seca	-0,865**	-0,581**

** Correlação significativa ao nível 0,01 (bilateral).

Figura 1. Efeito das concentrações do óleo essencial de *H. bonariensis* no crescimento da raiz e hipocótilo/coleótilo e acúmulo de massa seca de alface (A) e cebola (B). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.



Capítulo 3

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae): BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO

Escopo e política editorial

A revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)** é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas, Novas Cultivares e Revisões a convite do Editor.

Forma e preparação de manuscritos

Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos e não podem ter sido encaminhados a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas, Novas Cultivares e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor. Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções. Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito. Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário. Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos. As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente. O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente. Devem ser agrupados pelo endereço da instituição. Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão. Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos. Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão. Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas. O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial. Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.

Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras. Não devem conter palavras que componham o título. Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.

Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus (http://www.fao.org/aims/ag_intro.htm) ou no Índice de Assuntos da base SCIELO (<http://www.scielo.br>).

Introdução

A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito. Deve ocupar, no máximo, duas páginas. Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais. Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica. Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.

Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis. Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas. Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento. Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente. Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados. Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial. Deve ocupar quatro páginas, no máximo. Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos. As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente. Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores. Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados. Dados não apresentados não podem ser discutidos. Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados. As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada. Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras. As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial. Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo. Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho. Não podem consistir no resumo dos resultados. Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa. Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial. Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições). Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial. Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos. Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração. Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra. Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito. Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação. Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada. Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

Teses

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste**: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: <<http://www.cpa0.embrapa.br/publicacoes/ficha.php?tipo=DOC&num=66&ano=2004>>. Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. A autocitação deve ser evitada. Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

Redação das citações dentro de parênteses

Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação. Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.

Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula. Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada. Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

Redação das citações fora de parênteses

Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências. Devem ser auto-explicativas.

Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis. Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas. O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes. No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.

Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.

Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo. Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.

Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.

Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais. As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

Notas de rodapé das tabelas

Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências. Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São

apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto. Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.

Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos. O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito. Devem ser auto-explicativas.

A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título. Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses. Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas. O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados. Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios). Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante. As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico. Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura. Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções. Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura. No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis). Não usar negrito nas figuras. As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto. Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Notas Científicas

Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras. As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos: Resumo com 100 palavras, no máximo. Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras. Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

Novas Cultivares

Novas Cultivares são breves comunicações de cultivares que, depois de testadas e avaliadas pelo Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA), foram superiores às já utilizadas e serão incluídas na recomendação oficial.

Apresentação de Novas Cultivares

Deve conter: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, título em inglês, Abstract, Introdução, Características da Cultivar, Referências, tabelas e figuras. As normas de apresentação de Novas Cultivares são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

Resumo com 100 palavras, no máximo. Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.

Deve apresentar, no máximo, 15 referências e quatro ilustrações (tabelas e figuras). A introdução deve apresentar breve histórico do melhoramento da cultura, indicando as instituições envolvidas e as técnicas de cultivo desenvolvidas para superar determinado problema. A expressão Características da Cultivar deve ser digitada em negrito, no centro da página. Características da Cultivar deve conter os seguintes dados: características da planta, reação a doenças, produtividade de vagens e sementes, rendimento de grãos, classificação comercial, qualidade nutricional e qualidade industrial, sempre comparado com as cultivares testemunhas.

Outras informações

Não há cobrança de taxa de publicação. Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas. O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação. São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da **PAB**.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231 e 3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: pab@sct.embrapa.br ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica
Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB
Caixa Postal 040315CEP 70770 901 Brasília, DF

1 **Atividade alelopática de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae): bioensaios de germinação e**
2 **crescimento em laboratório.**

3

4 Cristiane Bezerra da Silva ⁽¹⁾, Ana Carina da Silva Cândido ⁽²⁾, Euclésio Simionatto ⁽³⁾, Odival
5 Faccenda ⁽⁴⁾ Sonia Corina Hess ⁽³⁾ Silvana de Paula Quintão Scalon ⁽²⁾ e Marize Teresinha Lopes
6 Pereira Peres ^{(3)*}.

7 ⁽¹⁾ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Departamento de Ciências Biológicas e da
8 Saúde, Avenida Costa e Silva, S/n Caixa Postal 549, CEP 79070-900 Campo Grande, MS. E-mail:
9 cris.mpj@gmail.com.

10 ⁽²⁾ Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Departamento de Ciências Agrárias, Rodovia
11 Dourados Ithaum, Km 12, Caixa Postal 322, CEP 79.825-070, Dourados, MS. E-mail:
12 carinacandido@yahoo.com.br; sscalon@ufgd.edu.br.

13 ⁽³⁾ (UFMS) Departamento de Hidráulica e transportes. E-mail: eusimionatto@yahoo.com.br,
14 schess@ufms.nin.br, marizeperes@hotmail.com*.

15 ⁽⁴⁾ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Departamento de Ciências da Computação,
16 Rodovia Dourados Ithaum, Km 12, Caixa Postal 351, CEP 79804-970, E-mail: fac@uems.br.

17

18 **Resumo** – O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de atividade alelopática de *Hydrocotyle*
19 *bonariensis*, por meio de bioensaios de germinação e crescimento em laboratório. A bioatividade das
20 frações semipurificadas (hexânica, acetato de etila e etanol-água) obtidas do extrato etanólico das
21 partes aérea e subterrânea e a fração alcaloidica da parte subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis*,
22 foram avaliadas em bioensaios de germinação e de crescimento de *Lactuca sativa* (alface),
23 *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Allium cepa* (cebola) e *Triticum aestivum* (trigo), em laboratório.
24 Utilizou-se quatro concentrações de cada tratamento (0, 250, 500, 1.000 mg.L⁻¹), com quatro
25 repetições de 50 sementes. Os resultados dos bioensaios de germinação revelaram que todas as frações
26 atrasaram a germinação de alface, tomate, cebola, e trigo, sendo que a FAE da parte subterrânea na

27 maior concentração causou inibição de até 68% em eudicotiledôneas e em até 74% em
28 monocotiledôneas. Nos bioensaios de crescimento, a FAE causou inibição da raiz primária, enquanto
29 que a FEA causou estímulo em eudicotiledôneas. A mesma fração inibiu o crescimento da raiz das
30 monocotiledôneas. A fração alcaloídica inibiu o crescimento da raiz primária e do hipocótilo/
31 coleótilo de alface e cebola. Nos bioensaios com herbicidas comerciais foram observados efeitos
32 semelhantes àqueles obtidos na germinação nas frações analisadas e no crescimento nas frações
33 acetato de etila e alcaloídica. Nos testes químicos qualitativos foi detectada a presença de composto
34 fenólicos, alcalóides e atividade antioxidante no EEB e todas as frações, e na análise
35 espectrofotométrica verificou-se que a FAE apresenta o maior conteúdo de fenóis totais e atividade
36 antioxidante.

37 Termos para indexação: aleloquímicos, herbicidas naturais, plantas infestantes.

38

39 Abstract - The objective of this work was to evaluate the potential allelopathic of *Hydrocotyle*
40 *bonariensis*), by means of bioassay of the germination and growth in laboratory. The bio-activity of
41 fractions (hexane, ethyl acetate, ethanol-water) obtained from crude ethanolic of underground and
42 aerial parts and the alkaloid fraction from underground part *Hydrocotyle bonariensis*, were evaluate by
43 growth bioassays with seeds of *Lactuca sativa* (alface), *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Allium*
44 *cepa* (cebola) e *Triticum aestivum* (trigo), in laboratory. Were used four concentrations for each
45 treatment (0, 250, 500, 1.000 mg.L⁻¹), with four repetitions of 50 seeds. The germination results
46 revealed that all the fractions put back the lettuce germination, tomato, onion and wheat. The ethyl
47 acetate fraction (EAF) from underground part, in the largest concentration it caused inhibition of up to
48 68% in eudicots and in up to 74% in monocots. In the growth bioassays, the EAF caused inhibition of
49 the primary root, while ethanol-water fraction (EWF) stimulated the growth of the primary root of
50 monocots. The same fraction inhibited the growth of the root of the monocots. The alkaloidic fraction
51 inhibited the growth of the primary root and of the hypocotyl/coleoptile of lettuce and onion. In the
52 bioassays with commercial herbicides similar effects were observed with relation to obtained in the

53 germination, for the analyzed fractions and in the growth for the fractions EAF and alkaloidic. In the
54 qualitative chemical tests the presence of phenolic compound and alkaloids was detected. The
55 antioxidant activity of CE and fractions was evaluated by DPPH test. The EAF presents the largest
56 content of total phenols and antioxidant activity.

57 Index terms: Allelochemicals, natural, natural herbicides, infestant plants

58

59

Introdução

60 As plantas podem favoravelmente ou desfavoravelmente afetar outras plantas através de compostos
61 químicos liberados no ambiente, denominados aleloquímicos (Bhowmik e Inderjit, 2003). Os
62 aleloquímicos são provenientes do metabolismo secundário e são capazes de alterar a germinação e o
63 crescimento e o desenvolvimento de plantas pela multiplicidade de ações em processos fisiológicos
64 (Rice, 1984; Einhellig, 2002).

65 Os compostos alelopáticos pertencem a diferentes classes de compostos químicos, tais como
66 fenóis, terpenos, alcalóides, poliacetilenos, ácidos graxos, peptídeos, entre outros (Einhellig 2002).

67 Em termos de aplicação prática e comercial, um dos alvos mais importante dos estudos alelopáticos
68 é a descoberta de herbicidas naturais, que são ambientalmente e toxicologicamente mais seguros que
69 os herbicidas sintéticos usados atualmente na agricultura (Macias *et al.*, 2000; Duke *et al.*, 2002).

70 As milhares de substâncias do metabolismo secundário de plantas fornecem uma diversidade de
71 estruturas químicas que podem ser usadas tanto no estado natural como na forma modificada como
72 herbicidas (Duke *et al.*, 2001; Souza-Filho, 2002). Durante os últimos 30 anos, grandes esforços têm
73 sido dedicados à descoberta de novos aleloquímicos com potencial aplicação no manejo de plantas
74 daninhas. Os herbicidas desenvolvidos de compostos químicos naturais apresentam importantes
75 vantagens sobre os herbicidas sintéticos usados na agricultura, pois apresentam novos mecanismos de
76 ação, alta biodegradabilidade e baixo impacto no ambiente (Macias *et al.*, 2006).

77 A família Araliaceae distribui-se em todo o território brasileiro, com 40 gêneros e 1500
78 espécies. O gênero *Hydrocotyle* é representado por 16 espécies, sendo a maioria dos representantes
79 aquáticas ou de lugares úmidos (Fiaschi e Pirani, 2005).

80 *Hydrocotyle bonariensis* LAM., é conhecida popularmente como erva-de-capitão ou acariçoba.
81 A planta é nativa nas Américas, ocorrendo dos Estados Unidos até a Argentina e Chile, sendo
82 mencionada como infestante em arroz no Peru. No Brasil, tem vasta distribuição, especialmente na
83 região costeira, sendo uma planta infestante com facilidade de adaptação a climas variados,
84 espalhando-se rapidamente por várias regiões do planeta, podendo ocorrer desde solos secos até na
85 areia das restingas e praias da Costa Atlântica, onde é particularmente mais freqüente (Kissman,
86 1997).

87 Suas raízes são diuréticas, usadas em obstrução hepática, como aperientes, amargas e tônicas e
88 em altas doses são eméticas e as folhas só devem ser usadas externamente, para tirar manchas da pele.
89 A planta toda também é utilizada no combate às afecções do baço, fígado e intestino, diarreia,
90 reumatismo e sífilis (Lorenzi, 2000)

91 O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial de atividade alelopática do
92 extrato etanólico bruto e frações semipurificadas (hexânica, acetato de etila e etanol-água) obtidas da
93 parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis*, e fração alcaloídica extraída do extrato etanólico bruto da
94 parte subterrânea de *H. bonariensis*, através de bioensaios de germinação e crescimento com as
95 eudicotiledôneas, alface, *Lactuca sativa* L. cv. Grand rapids (Asteraceae) e tomate, *Lycopersicon*
96 *esculentum* Mill. cv. Santa Clara (Solanaceae); e as monocotiledôneas, cebola, *Allium cepa* L. cv. Baía
97 periforme (Liliaceae) e trigo, *Triticum aestivum* (L.) Thell cv.RRS 220 (Poaceae), em laboratório.

98

99 **Material e Métodos**

100 Preparo dos extratos etanólico bruto e frações semipurificadas - *Hydrocotyle bonariensis*, foi coletada
101 em meados de dezembro de 2006, no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal da Grande
102 Dourados – UFGD, nas coordenadas geográficas 71° 28' 65" S e 75° 44'74" W, com 438 m de

103 altitude. Uma exsicata da espécie foi incorporada aos acervos dos Herbários DDMS da Universidade
104 Federal da Grande Dourados (UFGD) em Dourados (MS), e CGMS da Universidade Federal de Mato
105 Grosso do Sul, sob os números: **2190**, e **23467**, respectivamente.

106 Após a coleta, as partes aérea e subterrânea foram separadas e reduzidas a pequenos
107 fragmentos. A massa da matéria fresca foi registrada e acondicionada em saco plástico em freezer
108 (0,800 g da parte aérea, 33,5% de umidade e 1,2 Kg da parte subterrânea, 26,2 % de umidade).
109 Posteriormente as partes aérea (folhas e ramos) e subterrânea (caule subterrâneo e raízes) de *H.*
110 *bonariensis* foram submetidas à extração através de maceração com etanol (m/v, 1:2), em temperatura
111 ambiente. Após sete dias, foi feita a filtração e o material sólido descartado, sendo posteriormente o
112 solvente evaporado ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) sob vácuo em evaporador rotativo para a obtenção do extrato etanólico
113 bruto (EEB) da parte aérea (55,8 g) e subterrânea (78,5 g) de *H. bonariensis*.

114 Para a obtenção das frações semipurificadas parte do EEB da parte aérea (38,6 g) e parte
115 subterrânea (36,5 g) foi fracionado através de partição líquido-líquido com solventes de diferentes
116 graus de polaridade, hexano e acetato de etila, em funil de decantação, obtendo-se as frações: hexânica
117 (FH) (rendimento de 13,4 g para a parte aérea e 11,1 g para a parte subterrânea), acetato de etila (FAE)
118 (rendimento de 10,8 g, para a parte aérea e 9,3 g para a parte subterrânea) e etanol-água (FEA)
119 (rendimento de 14,1 g para a parte aérea e 15,8 g para a parte subterrânea). Para a obtenção da fração
120 alcaloídica (FA), foi realizada uma extração para alcalóide do EEB da parte subterrânea de *H.*
121 *bonariensis*. Primeiramente 28,0 g do EEB foram dissolvidas em 20 mL de água destilada e
122 acidificada com HCl 2,0 N até pH 1,5 e, após a acidificação do extrato foram realizadas várias
123 extrações com éter etílico. A solução aquosa remanescente foi alcalinizada com hidróxido de amônio
124 (NH_4OH) até pH 9,0 e, extraída com éter etílico, respectivamente. Após a eliminação dos solventes em
125 evaporador rotativo, foi obtida a fração alcaloídica (1,52 g).

126 O teor de água do EEB e frações foi determinado a partir de uma alíquota dos mesmos,
127 submetidas à secagem (100°C) por dez horas, até que a massa fosse constante, para calcular a massa de
128 água.

129 Bioensaios de germinação e crescimento - Para o preparo das soluções o EEB e as frações (FH, FAE,
130 FEA e FA) foram pesadas em balança analítica, levando-se em consideração o teor de água. As
131 soluções estoque (1.000 mg.L^{-1}) foram preparadas a partir da massa calculada para cada EEB e
132 frações, as quais foram dissolvidas em DMSO (Dimetilsulfóxido) a 0,1% (Dayan *et al.*, 2000), sendo
133 as concentrações de 500 e 250 mg.L^{-1} preparadas por diluição. Após o preparo da solução estoque da
134 FH, retirou-se a porção não solúvel. As soluções foram tamponadas com solução de MES (Ácido 2-
135 morfolinoetanosulfônico) 10 mM, e o pH foi ajustado para 6,0 (Macias *et al.*, 2000) com solução de
136 KOH 0,1 N, utilizando-se pHmetro.

137 O EEB e as frações (FH, FAE, FEA) da parte aérea e subterrânea foram ensaiadas com as
138 eudicotiledôneas: alface (*Lactuca sativa* L. cv. Grand rapids) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill
139 cv. Santa Clara), e as monocotiledôneas: cebola (*Allium cepa* L. cv. Baia Periforme) e trigo (*Triticum*
140 *aestivum* L. cv. RRS 220); e a FA da parte subterrânea foi ensaiada com alface e cebola.

141 Para os bioensaios de germinação, aplicou-se a metodologia de Macias *et al.*, (2000). As placas
142 de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro Whatman nº. 1,0, previamente autoclavados a
143 120°C por 20 minutos, receberam 5,0 mL da solução dos tratamentos, preparadas nas concentrações de
144 250 mg.L^{-1} , 500 mg.L^{-1} e 1.000 mg.L^{-1} . Em seguida, foram semeadas aleatoriamente sobre cada disco
145 de papel filtro, 50 diásporos da espécie alvo (alface, tomate, cebola, trigo), distribuídos aleatoriamente,
146 com quatro repetições para cada solução, conforme Brasil (1992). Como controle procedimento
147 similar foi utilizado, porém com ausência dos extratos e frações. As sementes de trigo foram tratadas
148 com fungicida Benlate 500 PM, na concentração de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ (Araújo & Araújo 2006).

149 As placas de Petri contendo os diásporos foram levadas a uma câmara de germinação (BOD),
150 com condições de luz (160 W), umidade relativa ($\pm 80\%$) e temperatura constantes, adequadas a cada
151 espécie alvo, conforme Brasil (1992) (alface, 25°C com luz interna constante; tomate, 25°C e
152 fotoperíodo de 12 h; cebola, 15°C e fotoperíodo de 12 h; e trigo 15°C , no escuro; $\pm 2^{\circ}\text{C}$). A contagem
153 para avaliar a germinação foi realizada diariamente (sendo que para alface a cada 12 horas), tendo

154 como critério a protrusão radicular com no mínimo 2,0 mm de comprimento. O experimento foi
155 considerado concluído quando a germinação foi nula por três dias consecutivos.

156 Para os bioensaios de crescimento utilizou-se a metodologia descrita por Barnes *et al.*, (1987) e
157 Macias *et al.*, (2000). Primeiramente as sementes foram germinadas em placas de Petri contendo papel
158 filtro umedecidas com 5,0 mL de água destilada. Após a germinação, tendo como critério a protrusão
159 radicular com no mínimo 2,0 mm de comprimento, foram selecionadas 80 plântulas (quatro repetições
160 de 20), para cada tratamento, e transferidas para placas de Petri contendo as soluções tratamento,
161 utilizando-se procedimento similar ao descrito nos bioensaios de germinação. Após três dias da
162 protrusão radicular, mediu-se o alongamento da raiz e do hipocótilo/coleóptilo (dez plântulas por
163 placa) utilizando papel milimetrado. Posteriormente essas plântulas foram levadas para secar em uma
164 estufa a 60°C até peso constante para a obtenção da massa seca.

165 A fim de verificar se o EEB e FS da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis* podem atuar
166 como modelos de herbicidas no controle de plantas daninhas, foram realizados bioensaios de
167 emergência e crescimento com herbicidas comerciais. Os herbicidas foram adquiridos no comércio
168 local, sendo esses, para as eudicotiledôneas: Glifosato 480 Agripec (Pós-emergente), Basagran 600
169 (Pós-emergente) e Atrazina Nortox 500 SC (misto); e para as monocotiledôneas: Glifosato 480
170 Agripec (Pós-emergente), Gesagard 500 SC (Pré-emergente), e Poast (pós-emergente). Todos os
171 herbicidas foram aplicados em concentrações equivalentes de composto ativo (10^{-3} M, 10^{-4} M e 10^{-5}
172 M) (Macias *et al.* 2000). Para os bioensaios com herbicidas, procedimento similar ao descrito com as
173 frações foi utilizado.

174 No presente trabalho o delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado
175 envolvendo nove ensaios simples, EEB, FH, FAE e FEA da parte aérea e subterrânea de *H.*
176 *bonariensis* e a FA da parte subterrânea, com quatro tratamentos (0, 250, 500 e 1.000 mg.L⁻¹), e três
177 ensaios com herbicidas com quatro tratamentos (0, 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} M), em quatro repetições. Cada
178 parcela constituiu-se de 50 diásporos para germinação e dez para o crescimento da raiz e do
179 hipocótilo/coleóptilo. A germinabilidade (%G) foi calculada segundo a metodologia descrita por

180 Labouriau (1983) e o índice de velocidade de germinação (IVG) segundo Maguire (1962) citado por
181 Ferreira & Borghetti (2004).

182 Os dados foram submetidos a análise de variância e quando os efeitos dos tratamentos foram
183 significativos, ($p < 0,05$), em relação a testemunha, as médias foram comparadas pelo teste de Dunnet.
184 Quando uma das pressuposições exigidas pelo modelo paramétrico não foi atendida utilizaram-se os
185 testes estatísticos não paramétricos, Kruskal-Wallis como alternativa para a análise de variância e o
186 Mann-Whitney como alternativa para o teste de Dunnet. Todos os resultados foram analisados
187 considerando o nível de significância $\alpha = 5\%$.

188 Testes químicos preliminares foram realizados para a detecção de classes de compostos. Foram
189 utilizadas placas cromatográficas (cromatofolhas AL TLC 20x20cm, silicagel 60F₂₅₄ - Merk), para
190 detectar a presença das principais classes de compostos secundários no EEB e nas FS. Nestes testes
191 foram utilizados como reagente indicador, uma solução de cloreto férrico 1,0%, reativa na presença de
192 compostos fenólicos.

193 O teor de fenóis totais do EEB e FS foi determinado pelo método Folin-Ciocalteau (Meda *et al*,
194 2005; Lin e Tang, 2007). O ácido gálico foi utilizado como substância referência. Para a construção da
195 curva padrão utilizou-se concentrações que variaram de 25 a 600 μg de ácido gálico. Para a
196 determinação do teor de fenóis nas amostras, 5,0 mg de cada amostra, foi dissolvida em 5,0 mL de
197 água destilada. Posteriormente, alíquotas de 1,0 mL dessa solução foram transferidas para balões de 50
198 mL, sendo acrescentado 30,0 mL de água destilada, 2,0 mL do reagente Folin Ciocalteau e após seis
199 minutos 6,0 mL de uma solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 20%. Completou-se o volume do
200 balão com água destilada. O branco do sistema foi preparado da mesma forma, contendo todos os
201 reagentes exceto as amostras do EEB e FS. As soluções foram deixadas em repouso à temperatura
202 ambiente e após 1 hora e 30 minutos, fez-se a leitura no espectrofotômetro modelo DR/2010-HACH,
203 com possibilidade de leitura na faixa de 400 a 900 nm, sendo que a leitura foi realizada a 760 nm.

204 Para a detecção da atividade antioxidante, cinquenta microlitros de soluções com várias
205 concentrações dos extratos e frações (as concentrações variaram de 0,3 a 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ conforme a

206 atividade do extrato e da fração testada) em metanol foram adicionados a 5 mL de uma solução
207 metanólica de DPPH a 0,004%. Após um período de incubação de 30 minutos a temperatura ambiente
208 fez-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a frente a um branco a 517 nm (Katalinic *et al.*,
209 2004).

210 **Resultados e Discussão**

211 Bioensaios de germinação e crescimento com eudicotiledôneas – Em relação ao processo germinativo
212 (Tabela 1) verifica-se que o extrato etanólico bruto (EEB) e todas as frações semipurificadas da parte
213 aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* reduziram significativamente o índice de velocidade
214 de germinação (IVG) e a porcentagem de germinação de alface e tomate, em todas as concentrações
215 ensaiadas, observando-se nos resultados uma relação dose-dependente.

216 Nas reduções no IVG de alface e tomate foi verificado que a maior concentração da FAE da
217 parte subterrânea causou redução de 89% em alface e de 83% em tomate, em comparação ao controle
218 (Tabela 1). Na germinabilidade, também foi observado que os maiores efeitos fitotóxicos foram
219 provocados pela FAE da parte aérea e subterrânea (Tabela 1). Sendo essas reduções superiores a 50%
220 em relação ao controle em alface, e foi verificado que a concentração de 1000 mg.L⁻¹ da FAE da parte
221 aérea inibiu a germinação de alface em 53% e tomate em 51%.

222 Com esses resultados, foi verificado o potencial de atividade alelopática de *H. bonariensis*
223 sobre a germinação de alface e tomate, podendo-se inferir que a FAE apresenta a maior concentração
224 do composto (s) que estão agindo de modo isolado ou sinérgico sobre algum processo fisiológico
225 durante a germinação dessas espécies, atrasando e inibindo sua germinação.

226 No crescimento radicial das plântulas de alface (Figura 1) foi observado que a fração hexânica
227 (FH) e a fração etanol-água (FEA) da parte aérea estimularam o crescimento da raiz de alface,
228 enquanto que o EEB e a FAE inibiram o crescimento da raiz. Em tomate (Fig. 2), o estímulo no
229 crescimento da raiz foi verificado na menor concentração do EEB e em todas as concentrações da FEA
230 da parte aérea. Inibição no crescimento da raiz de tomate foi observado nas maiores concentrações do

231 EBB e todas as concentrações da FH e FAE da parte aérea, sendo essa inibição de 39% na
232 concentração de 1.000 mg.L⁻¹ da FAE.

233 O EBB e frações da parte subterrânea inibiram o crescimento da raiz de alface e tomate em
234 todas as concentrações ensaiadas. Os maiores efeitos fitotóxicos no crescimento da raiz foram
235 verificados em alface quando submetido a FAE e fração alcaloídica (FA) da parte subterrânea, sendo
236 que a FA causou inibição no crescimento de 61% e 74%, na concentração de 500 mg.L⁻¹ e 1000 mg.L⁻¹,
237 respectivamente, em relação ao controle.

238 Em relação ao crescimento do hipocótilo (Figura 1 e 2), o EBB e todas as frações da parte
239 aérea inibiram significativamente o crescimento do hipocótilo em alface (Figura 1), nas maiores
240 concentrações ensaiadas, sendo que a FA da parte subterrânea causou inibição de 75% em relação ao
241 controle (1000 mg.L⁻¹).

242 Em tomate, as maiores concentrações do EBB e todas as concentrações da FH e FAE da parte
243 aérea provocaram redução no crescimento do hipocótilo. O EBB e frações da parte subterrânea
244 inibiram o crescimento do hipocótilo, em todas as concentrações ensaiadas, sendo que a FAE foi quem
245 provocou maior efeito com inibição de 44% e 53%, nas concentrações de 500 mg.L⁻¹ e 1.000 mg.L⁻¹.

246 Melos *et al.* (2007), observaram efeitos semelhantes aos verificados na FAE em estudo, para a
247 FAE de *Adiantum tetraphyllum*, que inibiu o crescimento do hipocótilo em alface, na concentração de
248 1.000 mg.L⁻¹.

249 Em trabalhos realizados com alcalóides glicolisados, Alves *et al.* (2003), observaram que os
250 mesmos provocaram uma redução significativa na porcentagem de plântulas normais a partir da menor
251 concentração testada, e que estes efeitos inibitórios foram revelados através da visível redução do
252 comprimento da raiz que foi proporcional ao aumento da concentração avaliada.

253 Com relação a massa seca, foi verificado que a FEA da parte aérea causou redução em alface
254 de 26% para a maior concentração ensaiada. Em tomate, foi verificado que o EB e todas as frações
255 causaram diminuição na massa seca, sendo que a FEA da parte subterrânea causou redução de 47%.

256 Bioensaios de germinação e crescimento com monocotiledôneas - Por meio da análise dos
257 dados de germinação foi constatado que o EBB e frações em todas as concentrações avaliadas da parte
258 aérea e subterrânea reduziram significativamente o IVG e a porcentagem de germinação de cebola e
259 trigo (Tabela 2). Em cebola, foi verificado que as maiores reduções no IVG foram de 65% e $\pm 73\%$ na
260 maior concentração do EBB e FAE da parte subterrânea, respectivamente. Na germinabilidade (Tabela
261 2) foi verificado que a maior redução ocorreu na FAE da parte subterrânea, que reduziu a porcentagem
262 de germinação 55% na concentração de 1.000 mg.L^{-1} em relação ao controle. Em trigo, a FAE da parte
263 subterrânea foi a que mais afetou o processo germinativo, inibindo a germinação em 60% na maior
264 concentração ensaiada em relação ao controle (Tabela 2).

265 Em relação ao crescimento radicial (Figura 3), o EBB e todas as frações da parte aérea inibiram
266 significativamente o crescimento da raiz de cebola. A FAE, FEA e FA, da parte subterrânea, também
267 causaram inibição da raiz primária em cebola, sendo que na concentração de 1.000 mg.L^{-1} , foi
268 verificada inibição de 55%, 45% e 58%, respectivamente. Em trigo, foi verificado que o EBB e todas
269 as frações da parte aérea e subterrânea inibiram o crescimento da raiz em todas as concentrações
270 ensaiadas (Figura 4). Os maiores efeitos fitotóxicos foram verificados pela FAE da parte subterrânea
271 que causou inibição no crescimento da raiz de trigo em $\pm 70\%$ e $\pm 76\%$, em relação ao controle, para as
272 concentrações de 500 mg.L^{-1} e 1.000 mg.L^{-1} respectivamente.

273 A concentração de 1000 mg.L^{-1} do EBB, FH e todas as concentrações da FAE e FEA da parte
274 aérea, e o EBB, FAE e FA da parte subterrânea, inibiram significativamente o crescimento do
275 coleóptilo de cebola, sendo que os maiores valores foram observados na FAE e FA da parte
276 subterrânea, que causaram inibição no crescimento do coleóptilo em $\pm 69\%$ e 70% para a concentração
277 de 1.000 mg.L^{-1} , quando comparadas ao controle. A FH e FEA da parte subterrânea estimularam o
278 crescimento do coleóptilo em cebola em todas as concentrações ensaiadas (Figura 3). Em trigo, o
279 efeito inibitório no crescimento do coleóptilo foi significativo em todas as frações e na maior
280 concentração para o EBB da parte aérea, sendo que para a concentração de 1.000 mg.L^{-1} , o EBB, FAE
281 e FEA da parte subterrânea inibiram o crescimento do coleóptilo em todas as concentrações ensaiadas,

282 sendo que a FAE inibiu causou inibição de 46% para a concentração de 1.000 mg.L⁻¹. A FH estimulou
283 o crescimento do coleóptilo em todas as concentrações ensaiadas (Figura 4).

284 Para a massa seca foi observado que as frações FAE e FEA da parte aérea causaram redução
285 entre 39% e 38% em cebola, para a maior concentração ensaiada respectivamente. Em trigo foi
286 verificado que as frações FH e FAE da parte aérea diminuíram a massa seca das plântulas em 40% e
287 41% na maior concentração testada, quando comparado ao controle.

288 Chavasiri *et al.*, (2005) em trabalhos realizados com *Hydrocotyle umbellata* (Araliaceae)
289 verificaram que a substância Metil oleanolato 3-O-(β-D-glucopyranosyl) isoladas dessa planta, inibiu
290 em 100% a germinação de *Mimosa pigra* L, e provocou inibição de 87% na radícula e em 80% para o
291 hipocótilo na maior concentração ensaiada.

292 Muitos compostos do metabolismo secundário de plantas agem como herbicidas, afetando
293 processos bioquímicos –chaves, responsáveis por seus efeitos no crescimento das plantas. (Coutinho *et*
294 *al.*, 2005). Bioensaios com herbicidas foram realizados para se comparar os efeitos dos herbicidas
295 comerciais com os resultados dos extratos vegetais. Nos resultados foi verificado que os herbicidas
296 avaliados nas concentrações ensaiadas no presentes estudo atrasaram a germinação e inibiram a
297 porcentagem de sementes germinadas (Tabela 3). No crescimento, o herbicida glifosato inibiu o
298 desenvolvimento de todas as plântulas avaliadas (Figura 1 a 4). A FAE de *H. bonariensis* apresentou
299 efeitos semelhantes nos parâmetros avaliados ao herbicida glifosato, sendo verificado que a mesma
300 atrasou e inibiu a germinação das sementes, e foi observado o mesmo padrão de inibição no
301 crescimento.

302 Nos bioensaios foi verificado que os herbicidas basagran, atrasina, gesagard e poast foram
303 fitotóxicos na germinação e crescimento. Verifica-se nos resultados que a FAE e a FA da parte
304 subterrânea apresentaram fitotoxicidade semelhante a esses herbicidas.

305 Baseado nesses resultados conclui-se que a FAE da parte subterrânea de *H. bonariensis*
306 apresentam compostos químicos que agem de modo similar aos herbicidas comerciais, afetando o

307 processo germinativo tanto de eudicotiledôneas como de monocotiledôneas, não apresentando
308 especificidade para as espécies alvo avaliadas no presente estudo.

309 Comparando-se o crescimento da raiz e da parte aérea, observa-se que os efeitos fitotóxicos
310 foram mais evidentes no crescimento da raiz do que na parte aérea (hipocótilo/coleótilo), isso pode
311 ter ocorrido devido a absorção e, conseqüentemente, a concentração de fitotoxinas nos tecidos
312 radiculares ser favorecida pelo contato físico da raiz com o papel filtro, o qual contém as frações.

313 Jacobi e Ferreira (1991), também observaram em seus experimentos que a parte aérea e as
314 raízes apresentaram respostas diferentes ao aleloquímicos, demonstrando que os mesmos afetam mais
315 o desenvolvimento e/ou crescimento do que a germinação.

316 Desta forma a bioatividade das frações está condicionada à capacidade de absorção,
317 translocação e mecanismo de ação dos seus compostos potencialmente alelopáticos (Correia *et al.*
318 2005).

319 Nos testes químicos preliminares foi verificada a presença de compostos fenólicos no EEB e
320 frações, sendo também detectada a presença de alcalóides na FAE da PS. Já foram reportados na
321 literatura a atividade alelopática de terpenos e alcalóides (Einhellig, 2002).

322 Na Tabela 4 são apresentados os teores de fenóis totais e na figura 5 a atividade antioxidante
323 obtidos para o EEB de *H.bonariensis* e as frações oriundas deste. A FAE da parte subterrânea,
324 apresentou atividade diferente do EEB, FH e FAE pelo fato de apresentar o maior teor de fenóis totais
325 ($501,92 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$) e atividade antioxidante (84,5%).

326 A literatura relata o isolamento de alguns compostos em espécies deste gênero distribuídas em
327 regiões tropicais e subtropicais de várias partes do mundo. Estudos químicos evidenciaram a
328 ocorrência de substâncias de várias classes de compostos, sendo os terpenos, e saponinas os
329 constituintes mais freqüentes na maioria das espécies relatadas na literatura (Janardhanan e Thoppil,
330 2002).

331 Vários compostos pertencentes às classes dos alcalóides, terpenos, e compostos fenólicos já
332 foram identificados como aleloquímicos em outras plantas. Esses compostos podem ser responsáveis,

333 de modo isolado ou sinérgico, pela interferência nos processos fisiológicos durante a fase de
334 emergência e crescimento das espécies-alvo de eudicotiledôneas e monocotiledôneas em estudo
335 (Einhellig, 2002).

336

337

Conclusões

338 A investigação do potencial alelopático da parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle*
339 *bonariensis* em laboratório evidencia que essa espécie apresenta compostos químicos com atividade
340 fitotóxica na germinação e crescimento das espécies alvo avaliadas, observando-se que FAE e a FA da
341 parte subterrânea apresenta a maior fitotoxicidade na germinação e no crescimento da raiz e
342 hipocótilo/coleótilo nas espécies-alvo avaliadas, apresentando efeitos semelhantes aos herbicidas
343 comerciais.

344 De acordo com os resultados, pode-se concluir que a FAE e FA da parte subterrânea de *H.*
345 *bonariensis* contém substâncias químicas responsáveis pela interferência nos processos fisiológicos de
346 eudicotiledôneas e monocotiledôneas em estudo, sendo necessários estudos posteriores para
347 isolamento e identificação do (s) composto (s) químicos com atividade fitotóxica presente nessas
348 frações.

349

350

Agradecimentos

351 Ao Prof. Dr. Alan Sciamarelli, pela identificação botânica. A PROPP/UFMS e
352 FUNDECT/CAPES, pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa.

353

354

355

Referências

356 ALVES, C.C.F.; ALVES, J.M.; SILVA, T.M.S.; CARVALHO, M.G.; NETO, J.J. Atividade
357 alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e ambiente**, v. 10, n.1, p.93
358 - 97, 2003.

- 359 ARAUJO, A.S.F.; ARAUJO, R.S. Sobrevivência e nodulação de *Rhizobium tropici* em sementes de
360 feijão tratadas com fungicidas. **Ciência Rural** v. 36, n.3, p. 973-976, 2006.
- 361 BARNES, J.P.; Putnan, A.R.; Burke, B.A. & Aasen, A.J. Isolation and characterization of
362 allelochemicals in rye herbage. **Phytochemistry**, v. 26 n. 5, p.1385-1390, 1987.
- 363 BHOWMIK, P.C.; INDERJIT. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural
364 weed management. **Crop Protection**, v.22, n.8, p.661-671, 2003.
- 365 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para a Análise de Sementes**,
366 SNDA/DNDU/CLU, Brasília, 1992.
- 367 CHAVASIRI, W; PRUKCHAREON, W.; SAWADEE,P.; ZUNGSONTIPORN, S. Allelochemicals
368 from *Hydrocotyle umbellata* Linn. In: **Annals (or Proceedings/Abstracts) of The Fourth World
369 Congress on Allelopathy**.University in Wagga, NSW, p. 15-18, 2005.
- 370 CORREIA, N.M.; CENTURION, M.A.P.C. & ALVES, P.L.C.A. Influência de extratos aquosos sobre
371 a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, n.35 v.3, p.498-503, 2005.
- 372 COUTINHO, C.F.B.; TANIMOTO, S.T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.S.; TAKAIAMA, M.; DO
373 AMARAL, R.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. Pesticidas: Mecanismos de ação,
374 degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15 n.02, p. 65-72,
375 2005.
- 376 DAYAN, F.E.; ROMAGNI, J.G & DUKE, S.O. Investigating the mode of action of natural
377 phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v.26 n. 9, p.2079-2093, 2000.
- 378 DUKE, S.O., SCHEFFLER, B.E., DAYAN, F.E. Allelochemicals as herbicides. **First European
379 Allelopathy Symposium**. Vigo, Spain. p. 47-59, 2001.
- 380 DUKE, S.O., RIMANDO, A.M., BAERSON, S.R., SCHEFFLER, B.E., OTA, E. Strategies for the use
381 of Natural Products for Weed Management. **Journal of Pesticide Science**. v. 27, p. 298-306, 2002.
- 382 EINHELLIG, F.A. The physiology of allelochemical action: Clues and Viewa. In: REIGOSA, M. &
383 PEDROL, N. (Ed.). **Allelopathy from Molecules to Ecosystems**. Vigo: Universidade de Vigo, p.1-
384 23, 2002.

- 385 FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. Interpretação de resultados de germinação In: Ferreira, A.G. &
386 Borghetti, F. (eds). **Germinação do Básico ao Aplicado**. Porto Alegre, Ed. Artmed, 2004, p. 209-222.
- 387 FIASCHI, P.; PIRANI, J.R. Flora da Serra do Cipó. **Boletim Botânico Universitário**, v.23, n.2, p. 78-
388 81, 2005.
- 389 JACOBI, U.S.; FERREIRA, A.G. Efeito alelopático de *Mimosa bimucronata* sobre espécies
390 cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.16, n.7, p.935-943, 1991.
- 391 JANARDHANAN, M.; THOPPIL, E.J. Chemical composition of two species of *Hydrocotyle*
392 (Apiaceae). **Acta Pharmaceutica**, v. 52, n 10, p. 67–69, 2002.
- 393 KATALINIC, V.; MILOS M.; MODUN, D.; MUSIĆ I.; BOBAN, M. Antioxidant effectiveness of
394 selected wines in comparison with (+)-catechin. **Food Chemistry**, v.86, p. 593-600, 2004.
- 395 KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. Tomo III., BASF: São Paulo,1997. 616 p.
- 396 LIN, J.Y.; TANG, C.Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and
397 vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. **Food Chemistry**,
398 v.101, p.140-147, 2007.
- 399 LABORIAU, L.G. **A Germinação das Sementes**. Secretaria geral da organização dos Estados
400 Americanos. Washington D.C, Estados Unidos. 1983. 174p.
- 401 LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres e aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3. ed., Nova
402 Odessa: Plantarum, 2000. 430 p.
- 403 MACIAS, F.A., CASTELLANO, D., MOLINILLO, J.M.G. Search for a standart phytotoxic bioassay
404 for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal Agricultural and Food Chemistry**.
405 v. 48, n. 6, p. 2512-2521, 2000.
- 406 MACIAS, A.F.; FERNANDEZ, A.; VARELA, R.M.; MOLINILLO, J.M.G.; TORRES, A. & ALVES,
407 P.L.C.A. Sesquiterpene lactones as allelochemicals. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 5, p. 795-
408 800, 2006.
- 409 MAGUIRE, J.D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and
410 vigor. **Crop Science**, v. 1, p.176-177, 1962.

- 411 MEDA, A.; LAMIEN, C.E.; BEECHER, G.R. Determination of the total phenolic, flavonoid and
412 praline contents in Burkina faso honey, as well as their radical scavenging activity. **Food**
413 **Chemistry**. v.91, p.571-577, 2005.
- 414 MELOS, L.R.; SILVA, L.B.; PERES, M.T.L.P.; MAPELI, A.M.; FACCENDA, O.; ANJOS, H.H.;
415 TORRES, T.G.; TIVIROLI, S.C.; BATISTA, A.L.; ALMEIDA, F.G.N.; FLAUZINO, N.S.; TIBANA,
416 L.A.; HESS, S.C.; HONDA, N.K. Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de
417 *Adiantum tetraphyllum* HUMB.& BONPL. EX WILLD (PTERIDACEAE). **Química Nova**, v. 30 n. 2,
418 p 292-297, 2007.
- 419 MOREL, A.F., MALDANER, G., ILHA, V., MISSAU, F., SILVA, U.F., DACOL, I.I. Cyclopeptide
420 alkaloids from *Scutia buxifolia* Reiss and their antimicrobial activity. *Phytochemistry*, v. 66, n. 3:
421 2571-2576, 2005.
- 422 RICE, L. **Allelopathy**, Academic Press: Londres, 1984. 423p.
- 423 SOUZA FILHO, A.P.S. Alelopatia em Agroecossistemas. In: SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M
424 (Ed.). **Alelopatia: Princípios Básicos e Aspectos Gerais**. Belém: Embrapa. 2002. p.155-204.

425 **Tabela 1.** Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) das
 426 sementes de alface e tomate submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB),
 427 fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA) e fração alcaloídica
 428 (FA) da parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis*.

	IVG				%G			
	Controle	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000mg.L ⁻¹	Controle	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000mg.L ⁻¹
Parte aérea								
ALFACE								
EEB ²	25,0 a	18,7 b	16,6 b	14,6 b	99,5 a	81,0 b	70,5 b	65,5 b
FH ²	25,0 a	14,6 b	12,8 b	10,3 b	99,5 a	64,5 b	59,5 b	47,0 b
FAE ¹	25,0 a	6,2 b	4,9 b	3,9 b	99,5 a	53,0 b	41,0 b	31,5 b
FEA ²	25,0 a	12,5 b	6,7 b	5,4 b	99,5 a	81,0 b	49,0 b	37,0 b
TOMATE								
EBB ¹	13,5 a	6,6 b	5,3 b	5,2 b	93,0 a	73,0 b	67,0 b	56,5 b
FH ¹	13,5 a	7,3 b	6,5 b	5,5 b	93,0 a	81,0 b	70,0 b	62,0 b
FAE ²	13,5 a	7,8 b	6,6 b	5,1 b	93,0 a	83,5 b	66,5 b	54,0 b
FEA ¹	13,5 a	8,2 b	6,7 b	6,4 b	93,0 a	87,5 b	71,0 b	65,0 b
Parte subterrânea								
ALFACE								
EEB ²	24,7 a	15,7 b	13,6 b	12,6 b	100,0 a	67,0 b	61,0 b	57,0 b
FH ²	24,7 a	9,3 b	6,2 b	4,5 b	100,0 a	85,0 b	75,0 b	70,0 b
FAE ²	24,7 a	5,0 b	2,8 b	2,7 b	100,0 a	61,0 b	51,0 b	47,0 b
FEA ²	24,7 a	7,8 b	5,5 b	4,4 b	100,0 a	65,0 b	55,0 b	53,0 b
FA ¹	24,8 a	18,1 b	17,6 b	10,9 b	99,0 a	91,0 b	87,0 b	77,0 b
TOMATE								
EEB ²	14,7 a	5,7 b	4,2 b	3,1 b	95,0 a	71,0 b	62,0 b	51,0 b
FH ¹	14,7 a	8,3 b	7,5 b	6,4 b	95,0 a	79,0 b	71,0 b	63,0 b
FAE ¹	14,7 a	5,1 b	3,8 b	2,4 b	95,0 a	63,0 b	53,0 b	49,0 b
FEA ¹	14,7 a	7,1 b	5,6 b	4,4 b	95,0 a	71,0 b	67,0 b	63,0 b

429 ¹Médias seguidas de mesma letra do controle não difere entre si pelo teste de Dunnet e ² Kruskal-
 430 Wallis a 5% de probabilidade.

431 **Tabela 2.** Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) das
 432 sementes de cebola e trigo submetidas a diferentes concentrações extrato etanólico bruto (EEB), fração
 433 hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA), e fração alcaloídica (FA) da
 434 parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis*.

	IVG				%G			
	Controle	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000mg.L ⁻¹	Controle	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000mg.L ⁻¹
Parte aérea								
CEBOLA								
EBB ²	11,3 a	6,0 b	4,9 b	4,1 b	97,5 a	78,5 b	65,0 b	58,0 b
FH ²	11,3 a	6,8 b	5,9 b	4,9 b	97,5 a	91,5 b	81,0 b	75,0 b
FAE ²	11,3 a	5,5 b	4,5 b	3,8 b	97,5 a	73,5 b	67,0 b	57,0 b
FEA ²	11,3 a	6,0 b	4,9 b	4,1 b	97,5 a	83,0 b	76,5 b	70,5 b
TRIGO								
EBB ²	23,4 a	20,5 b	15,4 b	14,1 b	99,5 a	85,5 b	69,0 b	73,0 b
FH ¹	23,4 a	15,2 b	11,4 b	11,2 b	99,5 a	82,0 b	70,5 b	61,0 b
FAE ¹	23,4 a	8,9 b	7,2 b	5,7 b	99,5 a	65,0 b	55,0 b	47,0 b
FEA ¹	23,4 a	14,6 b	12,4 b	8,7 b	99,5 a	73,0 b	67,0 b	61,0 b
Parte subterrânea								
CEBOLA								
EBB ²	10,6 a	5,6 b	4,8 b	3,7 b	98,0 a	77,0 b	63,0 b	57,0 b
FH ²	10,6 a	8,3 b	7,5 b	6,8 b	98,0 a	85,0 b	78,0 b	69,0 b
FAE ²	10,6 a	3,3 b	3,6 b	2,8 b	98,0 a	62,0 b	55,0 b	45,0 b
FEA ²	9,5 a	9,8 b	7,4 b	7,0 b	98,0 a	75,0 b	67,0 b	60,0 b
FA ¹	10,6 a	5,6 b	4,8 b	3,7 b	95,0 a	88,0 b	77,0 b	73,0 b
TRIGO								
EBB ²	24,3 a	16,5 b	11,2 b	10,4 b	100,0 a	79,0 b	71,0 b	67,0 b
FH ¹	24,3 a	18,3 b	16,5 b	14,5 b	100,0 a	80,0 b	71,0 b	64,0 b
FAE ¹	24,3 a	6,8 b	5,2 b	4,7 b	100,0 a	59,0 b	50,0 b	40,0 b
FEA ¹	24,3 a	12,5 b	10,4 b	9,6 b	100,0 a	72,0 b	61,0 b	55,0 b

435 ¹Médias seguidas de mesma letra do controle não difere entre si pelo teste de Dunnet e ² Kruskal-
 436 Wallis a 5% de probabilidade.

437 **Tabela 3.** Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) das
 438 sementes de alface, tomate, cebola e trigo submetidas a diferentes concentrações dos herbicidas
 439 comerciais glifosato (G), basagran (B), atrasina (A), gesagard (GE) e poast (P).

440

	IVG				%G			
	Controle	10 ⁻⁴ M	10 ⁻³ M	10 ⁻² M	Controle	10 ⁻⁴ M	10 ⁻³ M	10 ⁻² M
ALFACE								
G ²	25,0 a	12,3 b	11,3 b	6,7 b	100,0 a	57,0 b	54,0 b	51,0 b
B ²	25,0 a	10,8 b	9,9 b	6,7 b	100,0 a	69,0 b	63,0 b	41,0 b
A ²	25,0 a	8,2 b	8,1 b	7,0 b	100,0 a	73,0 b	67,0 b	53,0 b
TOMATE								
G ¹	14,5 a	9,3 b	8,6 b	6,0 b	90,0 a	77,0 b	71,0 b	65,0 b
B ¹	14,5 a	7,4 b	6,1 b	3,6 b	90,0 a	61,0 b	53,0 b	35,0 b
A ¹	14,5 a	7,3 b	6,4 b	5,7 b	90,0 a	76,0 b	65,0 b	55,0 b
CEBOLA								
G ²	12,1 a	8,0 b	6,6 b	5,0 b	96,0 a	51,0 b	47,0 b	45,0 b
GE ¹	12,1 a	8,0 b	7,9 b	5,1 b	96,0 a	59,0 b	55,0 b	51,0 b
P ¹	12,1 a	6,2 b	4,2 b	2,4 b	96,0 a	55,0 b	43,0 b	37,0 b
TRIGO								
G ¹	23,4 a	15,1 b	8,6 b	5,5 b	100,0 a	64,0 b	63,0 b	45,0 b
GE ¹	23,4 a	12,6 b	10,1 b	7,9 b	100,0 a	71,0 b	67,0 b	61,0 b
P ¹	23,4 a	16,6 b	9,2 b	6,0 b	100,0 a	67,0 b	61,0 b	55,0 b

441 ¹Médias seguidas de mesma letra do controle não difere entre si pelo teste de Dunnet e ² Kruskal-
 442 Wallis a 5% de probabilidade.

443

444

445

446

447

448

449

450 **Tabela 4.** Teor Total de fenóis presentes nas frações semipurificadas da parte aérea de *H. bonariensis*
451 ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ de frações).
452
453

Total de fenóis* ($\mu\text{g EAG mg}^{-1}$)		
Frações	Parte aérea	Parte subterrânea
EEB	192,72 \pm 0,61	196,72 \pm 0,69
Fração hexânica	24,72 \pm 0,63	110,72 \pm 1,13
Fração acetato de etila	307,12 \pm 1,19	501,92 \pm 1,44
Fração etanol-água	290,32 \pm 1,03	174,72 \pm 1,21

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

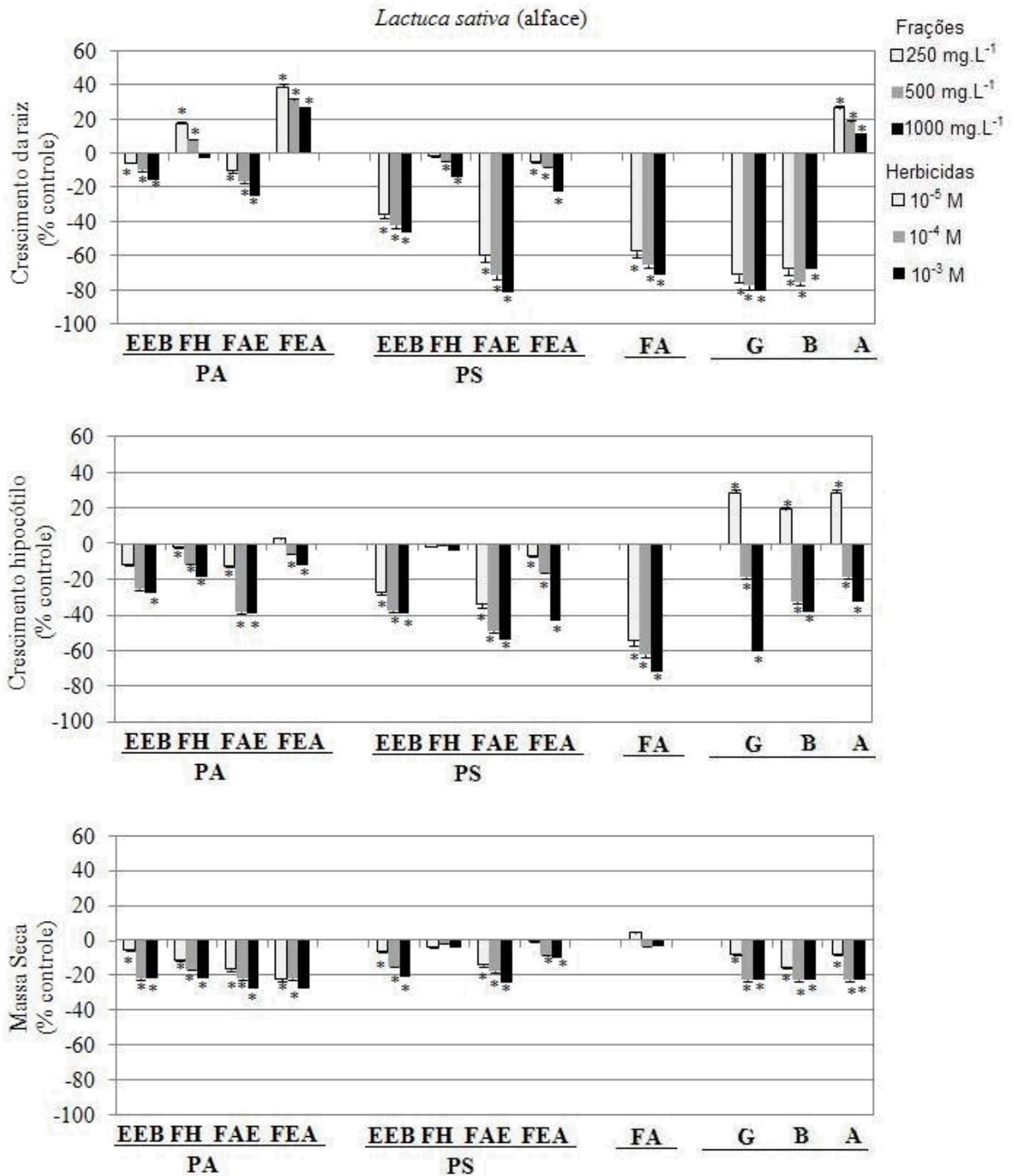
465

466

467

468

469



522 **Figura 1.** Crescimento médio da raiz e hipocótilo e massa seca de plântulas de alface submetidas ao
 523 extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-
 524 água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) e da fração alcaloídica (FA) de *Hydrocotyle*
 525 *bonariensis* e dos herbicidas glifosato (G), basagran (B) e atrazina (A). Dados expressos em percentual
 526 em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação
 527 com a média do controle, pelo teste de Dunnett.

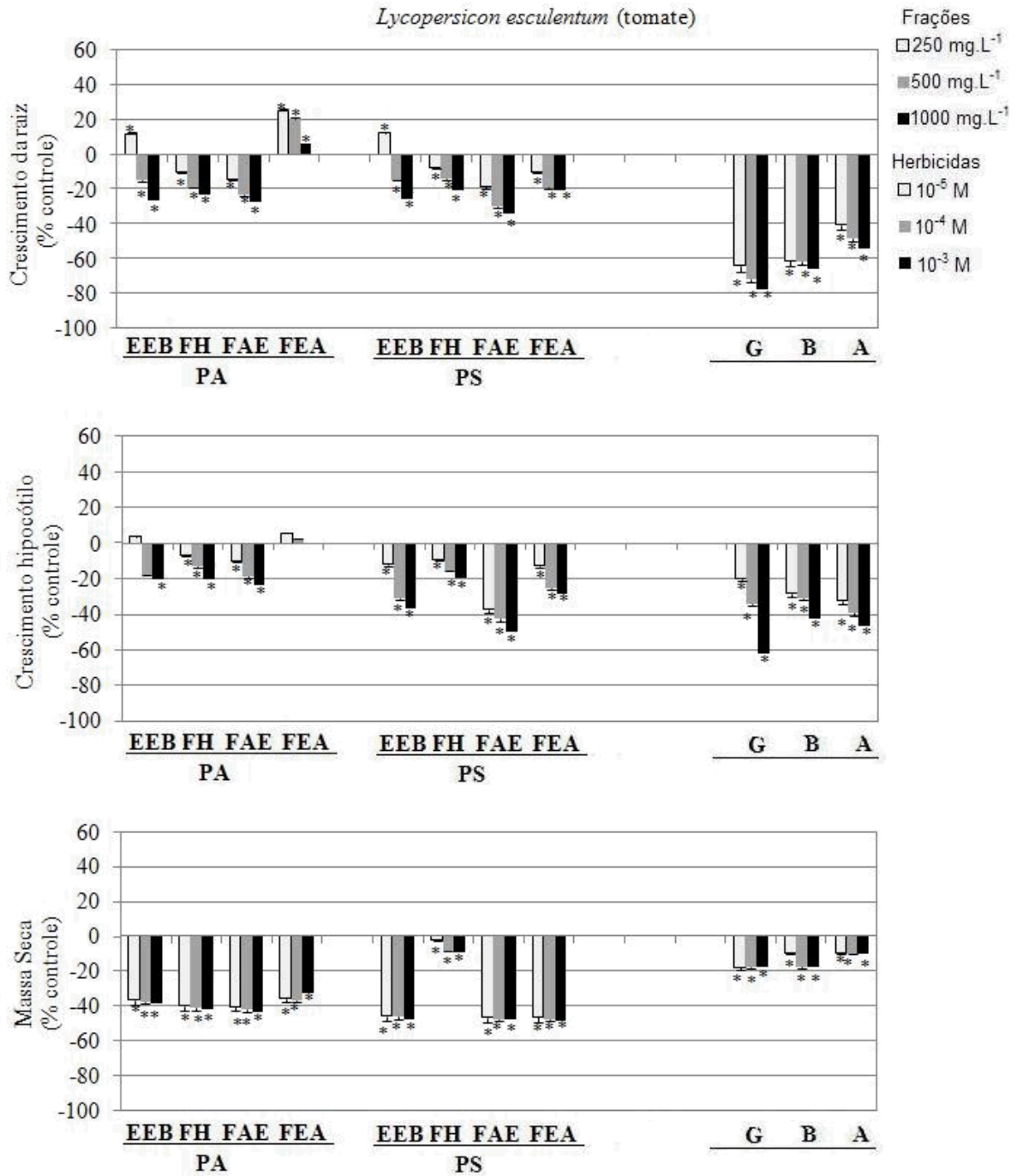


Figura 2. Crescimento médio da raiz e hipocótilo e massa seca de plântulas de tomate submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de *Hydrocotyle bonariensis* e dos herbicidas glifosato (G), basagran (B) e atrazina (A). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.

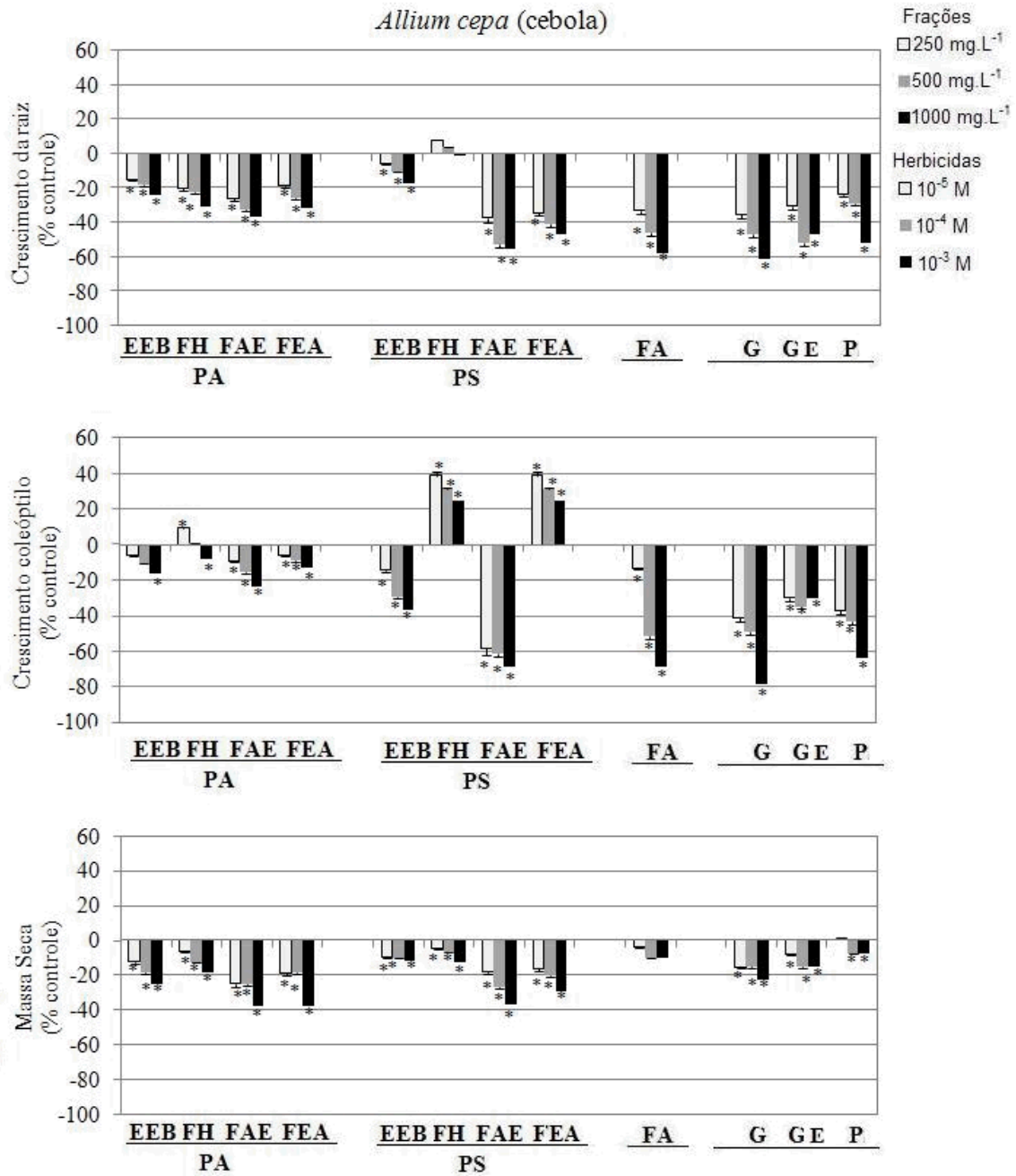


Figura 3. Crescimento médio da raiz e coleóptilo e massa seca de plântulas de cebola submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) e da fração alcaloídica (FA) de *Hydrocotyle bonariensis* e dos herbicidas glifosato (G), gesagard (GE) e poast (P). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.

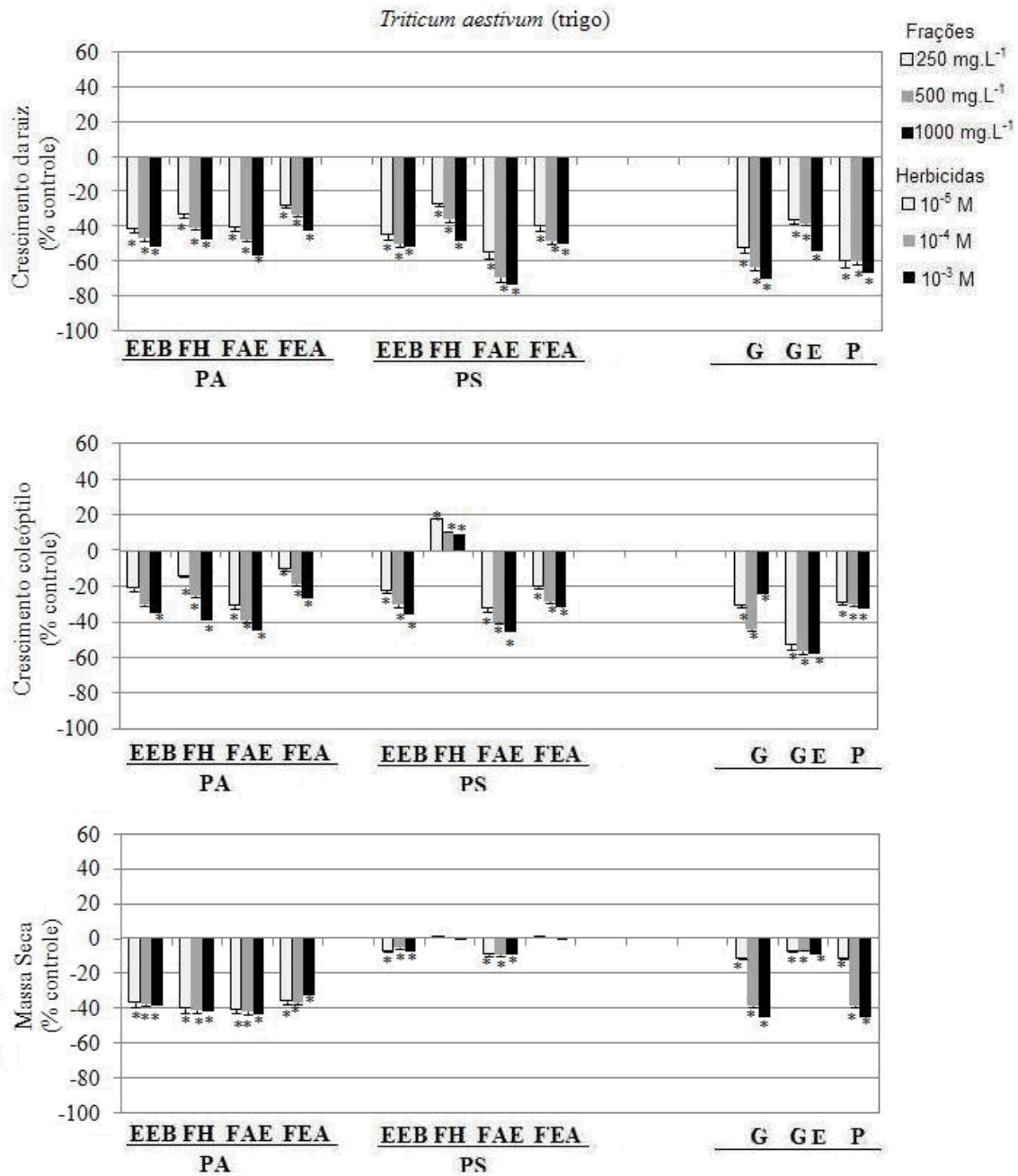


Figura 4. Crescimento médio da raiz e coleóptilo e massa seca de plântulas de trigo submetidas ao extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de *Hydrocotyle bonariensis* e dos herbicidas glifosato (G), gesagard (GE) e poast (P). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.

701

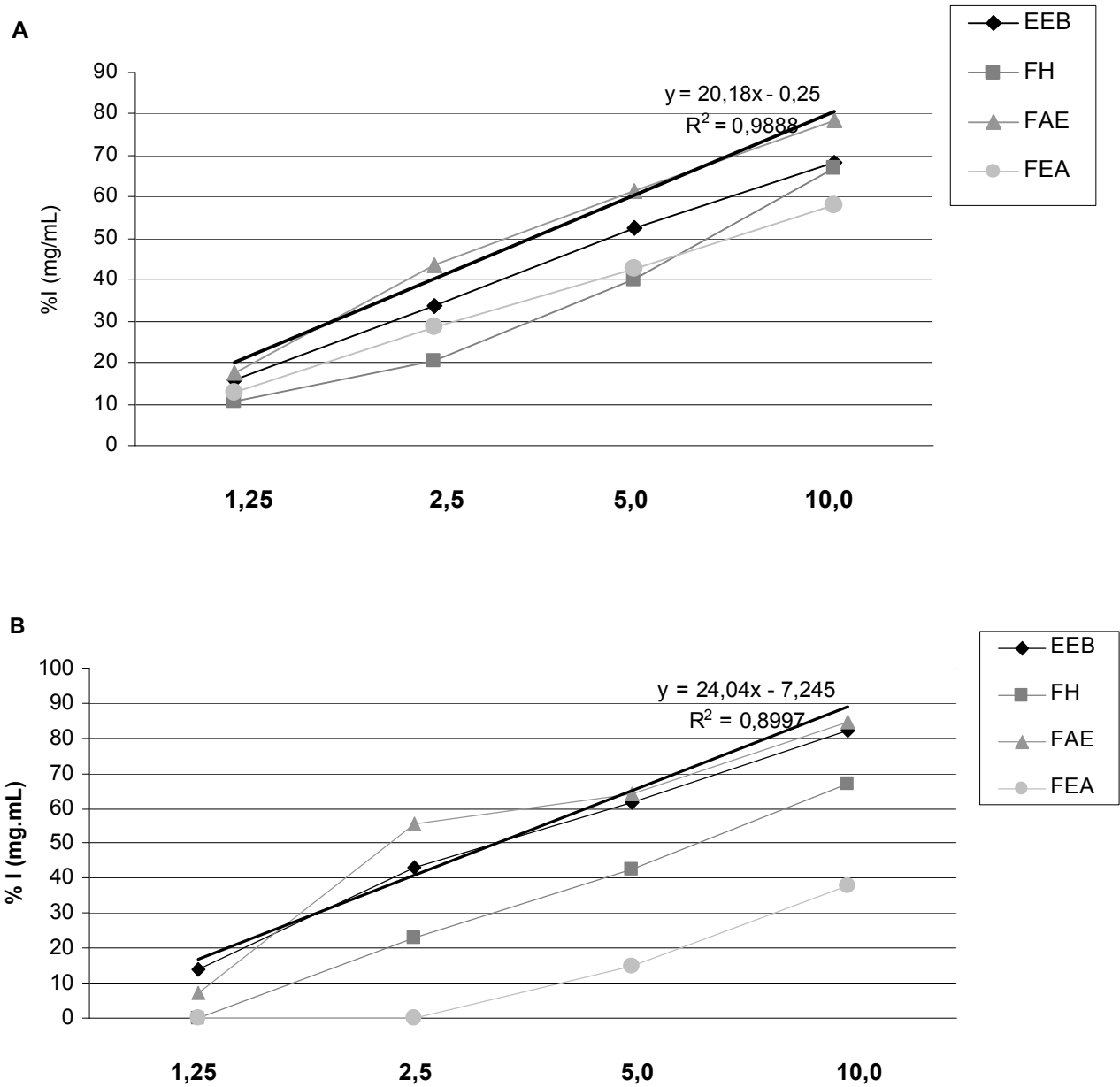


Figura 5. Atividade antioxidante das frações de *H. bonariensis*, frente ao DPPH. **A-** EEB e frações da parte aérea, **B-** EEB e frações da parte subterrânea

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711

712

713

Capítulo 4

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae): BIOENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.

Escopo e política

Brazilian Journal of Plant Physiology - BJPP (ISSN 0103-3131) é o periódico oficial da **Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal** e voltado para a publicação de trabalhos científicos originais nas várias áreas da Fisiologia Vegetal. BJPP publica trabalhos regulares, comunicações, minirrevisões e minirrevisões brasileiras. Essas minirrevisões são publicadas mediante convite, mas autores também podem consultar o Editor-Chefe para o envio de um artigo. Minirrevisões Brasileiras devem versar, preferentemente, sobre a fisiologia de plantas de ecossistemas tropicais naturais. BJPP publica artigos nas seguintes áreas de conhecimento:

Processos Bioquímicos (Metabolismo primário e secundário, e bioquímica).

Fotobiologia e Processos Fotossintéticos

Regulação Gênica, Transformação, Biologia Celular e Molecular

Nutrição Mineral de Plantas Desenvolvimento, Crescimento e Diferenciação (Fisiologia de sementes, hormônios vegetais e morfogênese)

Fisiologia Pós-Colheita

Ecofisiologia/Fisiologia da Produção e Fisiologia do Estresse

Interações Planta-Microrganismos e Planta-Insetos

Instrumentação em Fisiologia Vegetal

BJPP somente publica trabalhos na língua inglesa, escritos de forma clara, concisa e fluente. Recomenda-se que o texto seja revisado por alguém fluente em inglês e familiarizado com terminologia e textos científicos. Os artigos enviados para publicação devem apresentar resultados novos e significantes. Isso é particularmente importante para trabalhos na área de Cultura de Células, Tecidos e Órgãos Vegetais, que devem basear-se em dados que contribuam para a compreensão da fisiologia de plantas. Simples experimentação sobre a aplicação de métodos já existentes não será considerada para publicação, tampouco trabalhos originados de experimentos do tipo dose-resposta, sem discussão com base fisiológica.

Submissão e revisão

A submissão de um manuscrito ao Editor-Chefe necessariamente implica no fato de que o trabalho não foi publicado ou que está sendo avaliado para publicação em outro periódico. Submissão de manuscritos de vários autores significa que o autor correspondente obteve a aprovação de todos os outros co-autores para submeter o manuscrito a BJPP. BJPP considera que todas as informações

contidas em um artigo são de completa responsabilidade dos autores, inclusive a exatidão dos resultados e as conclusões deles extraíveis. Os autores devem enviar o manuscrito (em um único arquivo contendo texto como também tabelas, legendas para figuras e figuras) mediante e-mail para o Editor-Chefe. Solicita-se também aos autores que submetam um arquivo adicional contendo apenas o "abstract". Arquivos com extensão pdf ou doc (Word) são preferíveis. Fotografias importantes ou essenciais para a compreensão dos resultados têm de ter alta qualidade. Ao submeter um manuscrito, o Editor-Chefe verificará se o trabalho está dentro do escopo de BJPP e se segue as diretrizes do periódico. Submissões que não respeitarem as diretrizes de BJPP serão devolvidas imediatamente aos autores para correção, antes de serem enviadas para revisão. Os manuscritos serão enviados a um Editor Associado, que escolherá revisores baseando-se em suas competências nas várias áreas especializadas da fisiologia vegetal. Quando da submissão, os autores poderão indicar até cinco revisores potenciais (com seus respectivos e-mails) com competência reconhecida na área de pesquisa do manuscrito. Todavia, ao Editor Associado é reservado o direito de não considerar essas sugestões. Os autores receberão uma carta do Editor-Chefe juntamente com as avaliações dos revisores. Manuscritos que necessitem de revisão deverão ser retornados ao Editor-Chefe dentro de 30 dias; caso contrário, serão considerados como submissões novas. A versão revisada deverá ser enviada via e-mail e deve ser acompanhada de uma carta em que se responde aos questionamentos dos revisores e do editor. Os autores deverão justificar claramente quando não concordarem, ou quando não acatarem, um dado questionamento. Solicita-se aos autores que utilizem o aplicativo "Microsoft Word for Windows 95-2003" como processador de textos. Manuscritos rejeitados para publicação somente serão devolvidos aos autores se contiverem comentários importantes dos revisores que possam contribuir para as pesquisas do autor.

Diretrizes para a organização de manuscritos

Os autores deverão organizar o manuscrito na seguinte forma:

Manuscrito

Formatar o manuscrito, baseando-se em artigos recentemente publicados em BJPP. As páginas devem ser numeradas consecutivamente, inclusive figuras e tabelas. As linhas de cada página deverão ser numeradas para facilitar o trabalho de revisão. Na primeira página, inclua o título do manuscrito (em negrito, fonte 16, justificado à esquerda, com inicial maiúscula apenas para a primeira palavra - quando aplicável), os nomes dos autores (em negrito, fonte 12, justificado à esquerda) e afiliação (em itálico, fonte 12, justificado à esquerda). O autor correspondente deverá ser indicado por um asterisco. O "Abstract" não deve conter mais que 250 palavras. Os autores devem sugerir de três a seis palavras-

chave (em ordem alfabética) que não constem no título. O texto deve ser digitado em espaço duplo, fonte "Times New Roman" (fonte 12) em apenas um lado do papel, com margens de 3 cm. Os manuscritos devem ser divididos em Introdução; Materiais e métodos; Resultados; Discussão; Agradecimentos; Referências; Tabelas; Legenda para figuras; e Figuras. Partes principais (e.g., Introdução, Resultados etc.) deverão estar em negrito, com letras maiúsculas e separadas do texto. Dentro dessas partes, subdivisões deverão estar em itálico, com apenas a letra inicial maiúscula. Apresentação conjunta de "Resultados e Discussão" só será aceita em circunstâncias excepcionais. A "Discussão" não deve conter repetição da descrição dos resultados. Nomes científicos deverão ser escritos em itálico. O nome científico completo (gênero, espécie, autoridade, e cultivar, quando apropriado) deverá ser citado para cada organismo, após a sua primeira menção. O epíteto genérico deverá ser abreviado após a primeira menção, desde que não resulte em conflito com abreviaturas para outros gêneros com a mesma letra inicial. Quando nomes comuns forem utilizados, deverão ser acompanhados dos respectivos nomes científicos após a primeira menção. Nomes de equipamentos especializados mencionados em "Material e métodos" deverão ser acompanhados de detalhes do modelo, fabricante, cidade e país de origem. Os nomes de enzimas deverão ser acompanhados de seu EC ("Enzyme Commission") após a primeira menção. Números de zero a nove deverão ser escritos por extenso, a menos que sejam acompanhados de uma unidade. Acima de dez, números deverão ser escritos com algarismos arábicos, exceto quando em início de frases. Datas deverão estar na forma "20 May 2006", e horas, na forma de 1200 h. Citações de literatura, ao longo do texto, deverão aparecer em ordem cronológica e, então, ordenadas por autor e ano (e.g., Styles, 1978; Meier and Bowling, 1995; Meier et al., 1997; Silva et al., 2004a, b). Não use "et al." em itálico. Sempre insira espaço entre um numeral e a unidade (por exemplo, 1 mL), com exceções de %, ‰ e °C (e.g., 1%). Apenas utilize o termo "in press" para artigos já aceitados para publicação, caso contrário, utilize a expressão "unpublished results". Observações não-publicadas ou comunicações pessoais devem ser mencionadas no texto (e.g., "T. Carter, personal communication"; "T. Carter and J. Spanning, unpublished results"). Evite citar teses. Títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o "*Bibliographic Guide for Editors and Authors - BIOSIS*". O último fascículo de cada volume de BJPP contém abreviaturas para a maioria dos periódicos científicos relacionados à fisiologia vegetal e áreas afins.

"Short Communications"

"Short Communications" poderão ser publicadas, mas sem a intenção de publicação de resultados preliminares. Devem ser concisas e conter resultados significantes. Não devem ter mais que 10 páginas digitadas em espaço duplo, incluindo tabelas e figuras. Devem ser enviadas com a primeira

página seguindo as orientações para manuscritos regulares, mas sem subdivisões. As referências deverão seguir o texto.

"Minireviews"

Em "Minireviews", os autores são livres para sugerir a estrutura do artigo, mas tabelas e figuras deverão seguir as diretrizes para a publicação de manuscritos em BJPP. "Minireviews" serão também avaliadas por revisores. Deverão ser apresentadas concisamente, com foco em assuntos relevantes de pesquisa em que se evidencie o estado-da-arte das informações disponíveis, devendo ainda servir de referência para estudos futuros. "Minireviews" deverão ser apresentadas em espaço duplo, contendo não mais que 20 páginas.

Referências

Referências de periódicos

Carelli MLC, Fahl JI, Ramalho JDC (2006) Aspects of nitrogen metabolism in coffee plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 18:9-21.

Referências de livros

Salisbury FB, Ross CW (1992) *Plant Physiology*. 4th ed. Wadsworth Publishing Company, Belmont.

Referências de capítulos de livros

Fujiwara K, Kozai T (1995) Physical and microenvironment and its effects. In: Aitken-Christie A, Kozai T, Smith MAL (eds), *Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture*, pp.301-318. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Anais de conferências e resumos publicados

Prisco JT, Pahlich E (1989) Recent advances on the physiology and salt stresses. In: *Annals (or Proceedings/Abstracts) of the II Reunião Brasileira de Fisiologia Vegetal*. Piracicaba, Brazil, pp.23-24.

Teses

Melotto E (1992) Characterization of endogenous pectin oligomers in tomato *Lycopersicon esculentum* Mill) fruit. Davis, University of California. PhD thesis.

Tabelas e Figuras

Figuras e tabelas não devem repetir dados e devem ser reduzidas ao mínimo necessário. Devem ser numeradas consecutivamente, com números arábicos e, no texto, menções para tabelas e figuras devem aparecer na forma de "Table 1", "Figure 1", "Figure 1A"...Títulos para figuras e tabelas deverão estar também em espaço duplo. Utilize a formatação de tabelas usando células, não utilizando as teclas "tab" ou teclas de espaço para formatação. Utilize apenas linhas horizontais para a divisão das tabelas.

Notas de rodapé para tabelas devem ser feitas com fonte de tamanho 10 e indicadas por meio de letras sobrescritas minúsculas, começando com a em cada tabela. Cada tabela e figura deve ser apresentada em página separada do manuscrito, e nunca devem ser incluídas no texto. Títulos de figuras devem ser digitados em uma página separada, antecedendo às páginas das figuras. Textos e números nas ordenadas das figuras não devem ser digitados com fonte de tamanho inferior a 10. Todas as figuras deverão ter tamanho que permita reprodução direta para impressão. Fotografias eletrônicas devem ser submetidas no tamanho desejado de impressão (85 mm de largura para uma coluna e até 175 mm para acompanhar a largura da página). BJPP reserva-se ao direito de reduzir o tamanho das figuras.

Unidades, símbolos e abreviaturas

O Sistema Internacional (SI) de unidades deve ser usado ao longo do manuscrito. Recomenda-se o livro ("Units, Symbols and Terminology for Plant Physiology", editado por F.B. Salisbury, Oxford University Press, Oxford) para uma descrição detalhada e útil sobre unidades, símbolos e terminologia utilizados em fisiologia vegetal e ciências afins. Resumidamente, use pascal (Pa) para pressão, L para litro, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para irradiância, becquerel (Bq) para radioatividade, gn (*g* em itálico) para aceleração devido à gravidade, s para segundo, min para minuto, h para hora, Da para indicar massa molecular, que é representada por *m* (massa molecular relativa de proteínas é o mesmo que peso molecular, *Mr*, e não deve ser acompanhado por Da; e.g., a massa molecular relativa $Mr = 10,000$), y_w para potencial hídrico, (y_p para potencial de pressão, y_s para potencial osmótico, e y_m para potencial mátrico. O último fascículo de cada volume de BJPP contém vários símbolos e unidades usadas em fisiologia vegetal. Recomendam-se abreviaturas apenas para unidades de medida, símbolos químicos (e.g., Fe, Na), nomes de substâncias químicas (e.g., ATP, MES, HEPES, H₂SO₄, NaCl, CO₂), procedimentos corriqueiros (e.g., PCR, PAGE, RFLP), terminologia molecular (e.g., bp, SDS) ou termos estatísticos (e.g., ANOVA, SD, SE, *n*, *F*, teste *t* e r^2). Outras abreviaturas devem ser escritas por extenso após a primeira menção, não devendo ser utilizadas em início de frases. Abreviações de termos científicos não devem ser seguidas de ponto. Use o índice *menos* para indicar "por" (e.g., m^{-3} , L^{-1} , h^{-1}), exceto nos casos "por planta", "por vaso". O autor poderá fornecer, caso julgue conveniente, uma lista de abreviaturas, como um Apêndice.

Ilustrações

Fotografias devem ter alta qualidade e incluídas no fim do texto. O número de fotografias deve ser reduzido ao mínimo. Linhas nas figuras devem ter espessuras uniformes. Texto e números devem ter dimensões apropriadas.

Provas de imprensa

Autores devem devolver as provas de imprensa de seus manuscritos dentro de três dias após o recebimento. Não serão aceitas alterações extensas.

Separatas

Os autores receberão um arquivo em formato PDF como separata.

Custos de página

Não há custos para os autores ao publicarem seus manuscritos em BJPP.

Envio de manuscritos

Manuscritos devem ser enviados preferentemente por e-mail para:

Fábio M. DaMatta

Brazilian Journal of Plant Physiology, Editor-Chefe

Departamento de Biologia Vegetal

Universidade Federal de Viçosa

36570-000 Viçosa, MG

Brasil

E-mail: bjpp@ufv.br

Fax: +55.31.3899.2580

Investigação do potencial de atividade alelopática de *Hydrocotyle bonariensis* LAM (ARALIACEAE): Bioensaios em casa de vegetação.

Cristiane B. da Silva¹; Ana Carina da S. Candido², Euclésio Simionatto¹, Odival Faccenda³, Leandro Henrique de S. Mota², Silvana de P.Q. Scalon², Sonia C. Hess¹, Marize T. L. P. Peres^{1*}.

¹Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, CP 549, 79070-900 Campo Grande-MS, Brazil.

²Universidade Federal da Grande Dourados, CP 322, 79.825-070 Dourados-MS, Brazil.

³Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, CP 351, 79804-970 Dourados-MS, Brasil. *Corresponding author: mperes@propp.ufms.br.

Resumo: Investigação do potencial de atividade alelopática de *Hydrocotyle bonariensis* LAM (ARALIACEAE): Bioensaios em casa de vegetação. A bioatividade do extrato etanólico bruto e das frações semipurificadas (hexânica, acetato de etila e etanol-água) da parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* foi avaliada em casa de vegetação em bioensaios de emergência e crescimento de *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola). Para os bioensaios utilizou-se quatro concentrações do extrato etanólico e frações (0, 250, 500, 1.000 mg.L⁻¹), com oito repetições de cinco sementes. A FEA da PS inibiu, em média em 71% a emergência em alface e 69% em cebola, e atrasou a germinação de alface em 48% e 50% em cebola. A FH e FAE da PS inibiram o crescimento da raiz de alface e cebola, em média 34% e 36 % respectivamente. Nos bioensaios, foi observado que a FEA provocou estímulo no crescimento de alface e cebola e aumento na biomassa seca em cebola, nas menores concentrações ensaiadas do extrato e frações. Todos os EB e frações causaram redução no teor de clorofila e na FV/FM em alface e cebola, sendo que os menores valores foram observados para a FAE. Na cromatografia em camada delgada foram detectados composto fenólicos e alcalóides e atividade antioxidante no EB e frações. Na análise espectrofotométrica verificou-se que a FAE apresenta o maior conteúdo de fenóis totais e atividade antioxidante. Com o presente trabalho concluiu-se que a parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* possui potencial alelopático e pode ser útil em programas de manejo de plantas daninhas.

Palavras- chave: Aleloquímicos, plantas infestantes, Araliaceae.

Abstract: Investigation of potential of the allelopathic activity of the *Hydrocotyle bonariensis* LAM (ARALIACEAE): Bioassay in at greenhouse experiments The bio-activity of ethanolic extract and fractions (hexane, ethyl acetate and ethanol-water) of underground and aerial parts of *Hydrocotyle bonariensis* was investigated in greenhouse by bioassays of emergency and growth of the *Lactuca sativa* L. (lettuce) e *Allium cepa* L. (onion). For the bioassays were used four concentrations of the crude ethanolic and fractions (0, 250, 500, 1.000 mg.L⁻¹), with eight repetitions of five seeds. The ethyl acetate fraction (EAF) of the underground parts (UP) inhibited, in 71% the emergency in lettuce and 69% in onion, and put back the germination in lettuce in 48% and 50% in onion. The hexane

40 fraction and EAF of UP inhibited the root growth in lettuce and onion, in media 34% and 36%,
41 respectively. In the bioassays was observed that ethanol-water fraction (EWF) provoked incentive in
42 the lettuce and onion growth, and increase in the biomass evaporates in onion, in the smallest
43 rehearsed concentrations of the extract and fractions. All the CE and fractions caused reduction in the
44 text of the chlorophyll and in Fv/Fm in lettuce and onion and the smallest values were observed for
45 EAF. By chromatography analysis, phenolic compounds and alkaloids were detected. The antioxidant
46 activity of EB and fractions was evaluated by DPPH test (spectrometric analysis). The EAF presents
47 the largest content of total phenols and antioxidant activity. With the present work is possible to
48 conclude that the aerial and underground parts of *Hydrocotyle bonariensis* possesses potential
49 allelopathic and it can be useful in programs of handling of harmful plants.

50 **Key words:** Allelochemicals, infestant plants, Araliaceae.

51

52

53 INTRODUÇÃO

54

55 As milhares de substâncias do metabolismo secundário de plantas fornecem uma diversidade
56 de estruturas químicas que podem ser usadas tanto no estado natural como na forma modificada como
57 herbicidas (Duke et al., 1998; Souza Filho, 2002).

58 Durante os últimos 30 anos, grandes esforços têm sido dedicados à descoberta de novos
59 aleloquímicos com potencial aplicação no manejo de plantas daninhas. Os herbicidas desenvolvidos de
60 compostos químicos naturais apresentam importantes vantagens sobre os herbicidas sintéticos usados
61 na agricultura, pois apresentam novos mecanismos de ação, alta biodegradabilidade e baixo impacto no
62 ambiente (Macias et al., 2006).

63 *Hydrocotyle bonariensis* LAM., é conhecida popularmente como erva-de-capitão ou acariçoba.
64 A planta é nativa nas Américas, ocorrendo dos Estados Unidos até a Argentina e Chile, sendo
65 mencionada como infestante em arroz no Peru. No Brasil, tem vasta distribuição, especialmente na
66 região costeira, sendo uma planta infestante com facilidade de adaptação a climas variados,
67 espalhando-se rapidamente por várias regiões do planeta, podendo ocorrer desde solos secos até na
68 areia das restingas e praias da Costa Atlântica, onde é particularmente mais freqüente (Kissman, 1997,
69 Lorenzi, 2000).

70 Estudos químicos com espécies do gênero revelaram o isolamento de saponinas (Matsushita et
71 al., 2004), triterpenos (Della Greca et al., 1994) e terpenos (Chavasiri et al., 2005). Dentre os
72 compostos químicos isolados de *H. umbellata* o Metil oleanolato 3-O-(β -D-glucoopyranosyl),
73 provocou inibição na germinação e crescimento de *Mimosa pigra*, por meio de bioensaios realizados
74 em laboratório (Chavasiri et al., 2005). Na literatura, não foram encontrados registros sobre o perfil de

75 metabólitos secundários em *H. bonariensis*, havendo portanto a necessidade de estudos químicos, e
76 potencial da atividade alelopática.

77 Avanços nas pesquisas em fisiologia vegetal, como a fluorescência da clorofila, permitem
78 acessar rapidamente a máxima performance fotossintética do fotossistema II (Fv/Fm), que tem sido
79 utilizada como um indicador do estado fisiológico de organismos fotossintetizantes (Waring et al.,
80 2006; Rennenberg et al., 2006; Mobin e Khan, 2006; Marchand et al., 2006) e vários estudos tem
81 demonstrado a sensibilidade da Fluorescência variável/Fluorescência média (Fv/FM) em resposta a
82 várias substâncias tóxicas como herbicidas e pesticidas (Haynes et al., 2000; Macinnis e Ralph, 2003;
83 Frankart et al., 2003; Geoffroy et al., 2004).

84 Observações em campo demonstraram que em locais onde cresce a espécie *H. bonariensis*
85 ocorre a formação de povoamentos puros em um curto espaço de tempo, onde nenhuma outra planta
86 consegue se desenvolver. Isso sugere que *H. bonariensis* produz aleloquímicos que atuam na inibição
87 do crescimento/desenvolvimento de outras plantas. Este trabalho, tem o objetivo de investigar o
88 potencial alelopático de *H. bonariensis* e verificar o efeito dos extratos sobre eficiência quântica
89 fotossintética do fotossistema II em alface e cebola, através de medidas da fluorescência da clorofila
90 por meio de fluorímetro, em casa de vegetação.

91

92 MATERIAL E MÉTODOS

93

94 *Coleta do material vegetal: Hydrocotyle bonariensis* foi coletada em Dezembro de 2006, no
95 Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, nas coordenadas
96 geográficas 71°28' 65"S e 75°44'74" W, com 438 m de altitude. Uma exsicata da espécie foi
97 incorporada aos acervos dos Herbários DDMS da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
98 em Dourados (MS), e CGMS da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob os números: **2190**,
99 e **23467**, respectivamente.

100 Após a coleta, as partes aérea (caule, folhas e flores) e subterrânea (raiz) foram separadas,
101 acondicionadas em sacos plásticos e congeladas em freezer (-7°C), até sua utilização.

102 *Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB) e Frações Semipurificadas (FS) da Parte Aérea e*
103 *Subterrânea:* Para o preparo do EEB, a Parte Aérea (PS) e Parte Subterrânea (PS) de *H. bonariensis*
104 (0,800 g da parte aérea, 33,5% de umidade e 1,2 Kg da parte subterrânea, 26,2 % de umidade) foi
105 fragmentada em pequenos pedaços e submetida à extração por meio de maceração com etanol (m/v,
106 1:2). Após sete dias, realizou-se a filtração e o material sólido foi descartado, sendo posteriormente o
107 solvente evaporado (\pm 40°C) sob vácuo em evaporador rotativo, obtendo-se o EEB da parte aérea
108 (55,8 g) e subterrânea (78,5 g) de *H. bonariensis*.

109 Para a obtenção das FS, o EEB da parte aérea (38,6 g) e parte subterrânea (36,5 g) foram
110 fracionados através de partição líquido-líquido com hexano e acetato de etila, em funil de decantação,
111 obtendo-se as frações: hexânica (rendimento de 13,4 g para a parte aérea e 11,1 g para a parte
112 subterrânea), acetato de etila (FAE) (rendimento de 10,8 g, para a parte aérea e 9,3 g para a parte
113 subterrânea) e etanol-água (FEA) (rendimento de 14,1 g para a parte aérea e 15,8 g para a parte
114 subterrânea).

115 O teor de água do EEB e das FS foi determinado a partir de alíquotas dos mesmos, submetidas
116 à secagem (100°C) em estufa por 10 horas, até que a massa fosse constante, para calcular a massa de
117 água no EEB e nas FS.

118 *Bioensaios de emergência e crescimento:* Para os bioensaios, o EEB e as FS foram pesados em
119 balança analítica de precisão 0,001 g, levando-se em consideração o teor de água, e dissolvidos em
120 solução nutritiva completa (Hoagland e Arnon, 1950) obtendo-se assim a solução-estoque na
121 concentração de 1.000 mg.L⁻¹. As concentrações de 500 e 250 mg.L⁻¹ foram preparadas por diluição.

122 As soluções foram tamponadas com solução de MES (ácido 2-morfolinoetanosulfônico) 10
123 mM e o pH foi ajustado para 6,0 com solução de KOH 0,1 N. Como controle, preparou-se uma
124 solução com a mesma composição, mas sem o EEB e as FS do material vegetal.

125 Os bioensaios foram realizados com a eudicotiledônea alface (*Lactuca sativa* L. cv. Grand
126 Rapids) e com a monocotiledônea cebola (*Allium cepa* L. cv. Baia Periforme), adquiridas
127 comercialmente.

128 Antes da semeadura, cada vaso plástico (7,0 x 6,0 cm, diâmetro e altura), recebeu 160 g de
129 areia lavada, seca em estufa a 120°C e peneirada em peneira número 4 (diam. 192 mm x 358 mm x 85
130 mm).

131 No dia da semeadura cada vaso foi irrigado com 40 mL das soluções contendo os respectivos
132 tratamentos e posteriormente foram semeadas cinco sementes de cada planta-alvo (alface e cebola) em
133 cada vaso numa profundidade de $\pm 1,0$ cm (Prates, 2000). Os vasos foram mantidos em casa de
134 vegetação a $\pm 25^\circ\text{C}$, e foram irrigados diariamente com água destilada, baseando-se na perda de
135 umidade dos vasos (Prates, et al., 2000), e uma vez por semana, uma solução nutritiva completa foi
136 aplicada, ao invés de água destilada (Barbosa, 2001).

137 Diariamente foi anotado o número de plântulas emersas em cada vaso e após 28 dias da
138 semeadura as plantas foram colhidas. Posteriormente, avaliou-se o número de folhas, o comprimento
139 (cm) da parte aérea e da raiz, sendo essas levadas para secar em uma estufa a 60°C até peso constante
140 para a obtenção da massa seca, em gramas (Ninkovic, 2003).

141 A fim de verificar se os EEB e FS da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis* podem atuar
142 como modelos de herbicidas no controle de plantas daninhas, foram realizados bioensaios de

143 emergência e crescimento com herbicidas comerciais. Os herbicidas foram adquiridos no comércio
144 local, sendo esses, para alface: Glifosato 480 Agripec (glifosato) (Pós-emergente), Basagran 600
145 (bentazona) (Pós-emergente) e Atrazina Nortox 500 SC (atrazina) (misto); e para cebola: Glifosato
146 480 Agripec (glifosato) (Pós-emergente), Gesagard 500 SC (Prometrina) (Pré-emergente), e Poast
147 (setoxidim) (pós-emergente). Todos os herbicidas foram aplicados na concentração de 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}
148 M (Macias, 2000). Para os bioensaios com os herbicidas, procedimento similar ao descrito com o EEB
149 e FS foi utilizado.

150 A medição da eficiência quântica do fotossistema II (EQF-II) foi realizada no final do
151 experimento, utilizando-se o fluorímetro – PEA (Plant Efficiency Analyser – Hansatech - UK) através
152 da relação entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (Fv/Fm), com as medições das
153 variáveis de fluorescência realizadas em três folhas de cada planta, sendo a região da leitura submetida
154 previamente ao escuro, durante 30 minutos. A estimativa do teor de clorofila, foi feita com o auxílio de
155 clorofilômetro portátil (SPAD-502, Minolta, Japão), sendo as medidas realizadas em três folhas de
156 cada planta.

157 *Análise estatística:* No presente trabalho o delineamento experimental usado foi de blocos
158 casualizados envolvendo quatro ensaios simples, EEB, FH, FAE e FEA da parte aérea e subterrânea de
159 *H. bonariensis* com quatro tratamentos (0, 250, 500 e 1.000 mg.L⁻¹), e três ensaios com herbicidas com
160 quatro tratamentos (0, 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} M), em oito repetições. Cada parcela constituiu-se de cinco
161 sementes para emergência e oito plantas para o crescimento.

162 Foi calculado o Índice de Velocidade de Emergência (IVE) [IVE = $\Sigma(G_i/N_i)$] (Onde G_i é o
163 número de plântulas emersas no intervalo de tempo $t_{i-1} \leftrightarrow t_i$ e N_i é o número de dias após a semeadura)
164 e a porcentagem de plântulas emersas (E%) [E% = $(\Sigma n_i \cdot N^{-1}) \cdot 100$] (onde n_i é o número de plântulas
165 emersas no intervalo de tempo $t_{i-1} \leftrightarrow t_i$ e N é o número de sementes usadas em cada tratamento).

166 Os dados foram submetidos à análise de variância e quando os efeitos dos tratamentos foram
167 significativos, ($p < 0,05$), em relação a testemunha, as médias foram comparadas pelo teste de Dunnet.
168 Quando uma das pressuposições exigidas pelo modelo paramétrico não foi atendida utilizaram-se os
169 testes estatísticos não paramétricos, Kruskal-Wallis como alternativa para a análise de variância e o
170 Mann-Whitney como alternativa para o teste de Dunnet. Todos os resultados foram analisados
171 considerando o nível de significância $\alpha = 5\%$. Os resultados estão apresentados em porcentagem em
172 relação ao controle, sendo que o zero representa o controle, valores positivos representam estímulo e
173 valores negativos representam inibição (Macias, 2006).

174 Para calcular o número de folhas e o efeito sobre a relação Fv/Fm nas espécies- alvo, foi feita
175 uma análise de regressão linear entre a concentração dos extratos e herbicidas para verificar a
176 ocorrência do efeito fitotóxico.

177 *Análise química:* foram realizados testes químicos preliminares de cromatografia em camada
178 delgada (CCD) em placas cromatográficas (cromatofolhas AL TLC 20x20cm, silicagel 60F₂₅₄ - Merk),
179 para detectar a presença das principais classes de compostos secundários no EEB e nas FS. Nestes
180 testes utilizaram-se como reagente indicador, uma solução de cloreto férrico 1,0%, reativa na presença
181 de compostos fenólicos.

182 Para a detecção de alcalóides, foi realizada uma extração para alcalóide do EEB.
183 Primeiramente 5,0 g do EEB foram dissolvidas em 10,0 mL de água destilada e acidificada com HCl
184 2,0 N até pH 1,5 e, após a acidificação do EEB foram realizadas várias extrações com éter etílico. A
185 solução aquosa remanescente foi alcalinizada com hidróxido de amônio (NH₄OH) até pH 9,0 e,
186 extraída com éter etílico e acetato de etila, respectivamente. Após a eliminação dos solventes em
187 evaporador rotativo, foram obtidas as respectivas frações básicas: etérea e acetato de etila. As frações
188 foram analisadas em CCD e reveladas com o uso do reativo Dragendorff (Morel et al., 2005).

189 O teor de fenóis totais do EEB e FS foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu (Meda et
190 al., 2005, Lin e Tang, 2007). O ácido gálico foi utilizado como substância referência. Para a
191 construção da curva padrão utilizou-se concentrações que variaram de 25 a 600 µg de ácido gálico.
192 Para a determinação do teor de fenóis nas amostras, 5,0 mg de cada amostra, foi dissolvida em 5,0 mL
193 de água destilada. Posteriormente, alíquotas de 1,0 mL dessa solução foram transferidas para balões de
194 50 mL, sendo acrescentado 30,0 mL de água destilada, 2,0 mL do reagente Folin Ciocalteu e após
195 seis minutos 6,0 mL de uma solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 20%. Completou-se o volume do
196 balão com água destilada. O branco do sistema foi preparado da mesma forma, contendo todos os
197 reagentes exceto as amostras do EEB e FS. As soluções foram deixadas em repouso à temperatura
198 ambiente e após 1 hora e 30 minutos, fez-se a leitura em espectrofotômetro DR/2010-HACH, com
199 possibilidade de leitura na faixa de 400 a 900 nm, sendo que a leitura foi realizada a 760 nm.

200 Para a detecção da atividade antioxidante, cinqüenta microlitros de soluções com várias
201 concentrações dos extratos e frações (as concentrações variaram de 0,3 a 10 mg.mL⁻¹ conforme a
202 atividade do extrato e da fração testada) em metanol foram adicionados a 5 mL de uma solução
203 metanólica de DPPH a 0,004%. Após um período de incubação de 30 minutos a temperatura ambiente
204 fez-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro frente a um branco na faixa de 517 nm (Katalinic
205 et al., 2004).

206

207 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

208 Nos resultados de emergência das plântulas (IVE e porcentagem de plântulas emersas),
209 apresentados nas Tabelas 1 e 2, foi verificado que o EEB e as FS da parte aérea (PA) e parte

210 subterrânea (PS) de *H. bonariensis* afetaram significativamente a emergência em alface e cebola
211 quando comparados ao controle, observando-se que o efeito foi dose-dependente.

212 Com relação ao parâmetro IVE, foi observado que o EEB e todas as frações tanto da Parte
213 aérea (PA) como parte subterrânea (PS), atrasaram a emergência de alface e cebola, sendo que para
214 alface o EEB e as frações FH e FEA da PS atrasaram a emergência em 48% para a concentração de
215 1.000 mg.L⁻¹. Em cebola as frações FAE e FEA atrasaram a germinação em 42% e 50%
216 respectivamente para a concentração de 1.000 mg.L⁻¹ (Tabela 1). Com relação a porcentagem de
217 plântulas emersas (%E) foi observado que as maiores reduções em alface ocorreram pela FEA da PA
218 (70%), e PS (71%) e em cebola pela FEA da PA (70%) e PS (73%), na maior concentração ensaiada,
219 em relação controle (Tabela 2).

220 Nos bioensaios com herbicidas (Tabela 3), a FAE da PA agiu de maneira similar ao herbicida
221 Glifosato (Pós-emergente) na concentração de 10⁻³, reduzindo o IVE (± 40%) e a %E (± 68%) em
222 alface. Em cebola, a FH da PA, e o EEB e FH da PS agiram de modo similar ao herbicida Glifosato
223 (Pré-emergente) diminuindo o IVE em 38%, sendo que para a %E os herbicidas Glifosato e Poast
224 (pós-emergente) agiram de maneira similar ao EEB da PS e FEA da PA, afetando na emergência em
225 49% e 77% na concentração de 10⁻³ respectivamente.

226 Estes resultados sugerem que o EEB e as FS da PA e PS de *H. bonariensis* contem substâncias
227 químicas, que agem nos processos fisiológicos das plântulas durante a emergência em alface e cebola,
228 atrasando e reduzindo o seu estabelecimento em casa de vegetação. Segundo Ranal e Santana (2006) a
229 redução no IVE pode levar a redução progressiva na capacidade produtiva, com a redução na
230 uniformidade do estabelecimento das plântulas.

231 Analisando-se os resultados obtidos para Alface (Figura1) foi verificado que o EEB e as
232 frações FH e FAE da PA e PS inibiram significativamente o crescimento da raiz em todas as
233 concentrações, sendo que o EEB e a FAE da PS na concentração de 1.000 mg.L⁻¹ inibiram o
234 crescimento da raiz em 24% e 36% respectivamente. A fração FEA da PA e PS estimulou o
235 crescimento da raiz em (56% e 35%) na concentração de 1.000 mg.L⁻¹ em relação ao controle. Com
236 relação a massa seca de alface a FAE da PA e PS também reduziu o acúmulo de biomassa seca na
237 parte aérea (17% e 35%, 1.000 mg.L⁻¹) e da raiz (10% e 11%). Também foi verificado que a FEA da
238 PA e EEB da PS as maiores cocetrações, causaram um aumento no acúmulo de biomassa seca da parte
239 aérea de alface nas maiores concentrações ensaiadas. Foi observado ainda que o aumento da
240 concentração dos tratamentos reduziu o efeito dos parâmetros crescimento e acúmulo de biomassa
241 seca (Figura 1).

242 No crescimento de cebola, foi observado que o EEB e todas as frações da PA e PS inibiram
243 significativamente o crescimento da raiz (Figura 2), sendo essa redução de 25% para a FH da PA

244 (1.000 mg.L⁻¹) e de 36% para a FAE da PS (1.000 mg.L⁻¹). Com relação à massa seca da parte aérea, a
245 FAE da PA e PS reduziram significativamente o acúmulo de biomassa seca em cebola em todas as
246 concentrações ensaiadas em média de 26% e 30% em relação ao controle, e foi verificado que o EEB
247 da PA e PS na concentração de 250 mg. L⁻¹, causou aumento no acúmulo de biomassa seca em 11% e
248 14%, sendo que a FEA da PA e PS na maior concentração, também causou acúmulo de 16% e 11%,
249 respectivamente. Para a massa seca da raiz, a FAE da PA e PS causou redução de 18% e 20% para a
250 concentração de 1.000 mg.L⁻¹, sendo que a FEA da PA causou acúmulo de massa seca em 9% (Figura
251 2).

252 No parâmetro crescimento, os herbicidas basagran e poast reduziram entre 39% e 35% no
253 crescimento da raiz de alface e cebola, nas maiores concentrações ensaiadas respectivamente, sendo
254 estes valores semelhantes para a FAE da PS em alface e cebola. Os herbicidas causaram acúmulo de
255 massa seca na parte aérea em cebola entre 50 a 84%, não havendo similaridade entre os resultados
256 obtidos com os tratamentos. Com relação a massa seca da raiz em cebola, o herbicida Poast agiu de
257 maneira similar a FAE da PS, diminuindo causando diminuição em 25% (Figura 2).

258 Analisando-se os resultados pode-se verificar que a FAE, inibiu o crescimento da raiz, massa
259 seca da parte aérea e raiz, tanto em eudicotiledônea como em monocotiledônea. Esses resultados
260 sugerem que essas frações apresentam compostos químicos com potencial alelopático, sendo que a
261 redução acentuada da raiz pode afetar a capacidade competitiva e a produtividade da planta enquanto a
262 redução da parte aérea pode diminuir a capacidade da planta competir por luz (Ninkovic, 2003).

263 Com relação ao número de folhas (Figura 3), foi verificado que a FAE da PS causou redução
264 significativa no número de folhas em alface e cebola, podendo ser observada uma relação dose-
265 dependente entre as concentrações utilizadas. A menor concentração da FEA da PA e PS aumentou o
266 número de folhas em alface. A literatura relata (Einhellig, 2002) que compostos químicos podem
267 afetar a permeabilidade da membrana, inibindo a absorção de água e nutrientes em altas
268 concentrações. Esse efeito pode modificar a alocação de biomassa das plantas, fato esse observado nos
269 bioensaios com o EEB e as FS em estudo.

270 No parâmetro teor de clorofila, foi verificado que o EEB e todas as frações da PA e PS
271 causaram uma diminuição na produção de clorofila em alface e cebola, sendo que a FAE da PS causou
272 inibição em $\pm 3,0 \text{ mgDM}^{-2}$ em alface e $\pm 3,5 \text{ mgDM}^{-2}$ em cebola para as concentrações de 5000 mg.L⁻¹
273 e 1.000 mg.L⁻¹ (Figura 4 e 5).

274 Nos resultados obtidos com a fluorescência da clorofila a, foi verificado que o EB e todas as
275 frações da PA e PS causaram inibição na relação Fv/Fv, causando redução na eficiência quântica do
276 fotossistema II (EQF-II) em alface e cebola, e foi observado uma relação dose- dependente entre a
277 redução da Fv/Fv e o aumento das concentrações dos extratos e frações. A FAE da PS provocou

278 interferência de $\pm 0,4$ EQF–II em alface e $\pm 0,7$ EQF–II em cebola na concentraçã de 1.000 mg.L^{-1}
279 (Figuras 4 e 5).

280 Nos bioensaios com herbicidas, a FAE da PS agiu de maneira similar ao herbicida Atrazina
281 (misto) na concentração de 10^{-3} M, o qual reduziu o teor de clorofila em ($\pm 3,0 \text{ mg.DM}^{-2}$) e a Fv/Fm
282 ($\pm 0,6$ EQF–II) em alface. Em cebola, a FAE da PS, agiu de modo similar ao herbicida Poast (pós-
283 emergente), o qual diminuiu o teor de clorofila em $\pm 4,0 \text{ mg.DM}^{-2}$, porém todos os herbicidas
284 afetaram a Fv/Fm de maneira similar ($\pm 0,8$ EQF–II) na concentração de 10^{-4} M respectivamente
285 (Figura 6).

286 Nos resultados obtidos, foi verificado a inibição no crescimento da raiz das plântulas-alvo e
287 diminuição no numero de folhas, na relação Fv/Fm, no teor de clorofila, no acúmulo de biomassa seca
288 da raiz e parte aérea das plântulas em relação ao controle. A literatura relata que sorgoleona, uma
289 substância presente no sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é capaz de inibir a fotossíntese pelo bloqueio da
290 cadeia transportadora de elétrons do fotossistema II (PSII) para fotossistema I (PSI), além de aumentar a
291 produção de formas reativas de oxigênio (Fros) que atuam no estresse oxidativo das membranas
292 celulares (Gniazdowska e Bogatek, 2005).

293 Na maioria das vezes esses compostos podem afetar a permeabilidade da membrana inibindo a
294 absorção de água e nutrientes em altas concentrações, e podem facilitar a absorção desses em baixas
295 concentrações. Esse efeito pode modificar a alocação de biomassa das plantas, fato esse observado nos
296 bioensaios com o EEB e as FS em estudo (Einhellig, 2002).

297 O aumento de biomassa no sistema radicular visa melhor fixação da planta no substrato,
298 aumentando assim o contato dos nutrientes por inteceptação radicular, levando a um rápido acúmulo
299 destes pelas raízes (Ninkovic, 2003).

300 Nos testes químicos preliminares foi verificada a presença de compostos fenólicos no EEB e
301 frações, sendo também detectada a presença de alcalóides na FAE da PS. Já foram reportados na
302 literatura a atividade alelopática de terpenos e alcalóides (Einhellig, 2002).

303 Compostos fenólicos reduzem a atividade de enzimas envolvidas na glicólise e na via oxidativa
304 das pentoses fosfato, as quais asseguram níveis de ATP e esqueletos de carbono suficientes para a
305 germinação das sementes. A toxicidade de muitos fenóis pode em grande parte ser atribuída à
306 formação de semiquinona. Com a formaçaõ de formas reativas de oxigênio (FROs), estes podem afetar
307 a permeabilidade da membrana e, causar danos ao DNA e proteínas (Gniazdowska e Bogatek, 2005).

308 Na Tabela 4 são apresentados os teores de fenóis totais e na figura 7 a atividade antioxidante
309 obtidos para o EEB de *H.bonariensis* e as frações oriundas deste. A FAE da da PA e PS apresentou
310 atividade diferente dos EEB, FH e FEA pelo fato de apresentar o maior teor de fenóis totais e atividade

311 antioxidante, com 501,92 $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$ e 307,12 $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$, e $\pm 78\%$ e $\pm 84,5\%$ de atividade
312 antioxidante respectivamente.

313 Estudos químicos evidenciaram a ocorrência de substâncias de várias classes de compostos, no
314 gênero *Hydrocotyle*, sendo os terpenos e saponinas os constituintes mais frequentes na maioria das
315 espécies relatadas na literatura (Janardhanan e Thoppil, 2002; Matsuchita et al., 2004).

316 Vários compostos pertencentes às classes dos alcalóides, terpenos, e compostos fenólicos já
317 foram identificados como aleloquímicos em outras plantas. Esses compostos podem ser responsáveis,
318 de modo isolado ou sinérgico, pela interferência nos processos fisiológicos durante a fase de
319 emergência e crescimento das espécies-alvo de eudicotiledôneas e monocotiledôneas em estudo
320 (Einhellig, 2002).

321 A maioria das espécies de *Hydrocotyle* que ocorrem no Brasil, tais como *H. leucocephala*, *H.*
322 *sibthorpioides* e *H. umbellata*, revelaram a presença de compostos dialicênicos, ceramidas, saponinas
323 triterpênicas, como constituintes majoritários, além de fenóis, corroborando com os resultados
324 detectados na FAE nesse trabalho (Janardhanan e Thoppil, 2002; Martins et al, 2008; Huang et al,
325 2008).

326 Os resultados obtidos neste estudo apontam claramente um efeito inibidor na emergência e
327 crescimento das espécies-alvo utilizadas; sendo que a FEA foi quem mais influenciou na inibição da
328 germinação e a FAE no crescimento tanto em alface quanto em cebola.

329 Os parâmetros avaliados mostram alterações na emergência, crescimento e acúmulo de
330 biomassa das espécies alvo, quando submetidas ao EEB e frações semipurificadas. A continuidade nos
331 estudos de isolamento e identificação dos compostos químicos e a realização de bioensaios dos
332 mesmos são necessários para que possam ser usados em programas de manejo de plantas daninhas e
333 infestantes.

334

335 AGRADECIMENTOS

336 Ao Prof. Dr. Alan Sciamarelli, pela identificação botânica. A PROPP/UFMS e FUNDECT/MS,
337 pelo auxílio financeiro. Ao CNPq pela concessão de bolsa.

338

339 REFERÊNCIAS

- 340 Barbosa, L.C.A, Ferreira, M.L., Demuner, A.J., Silva, A.A. (2001). Preparation and phytotoxicity of
341 sorgoleone analogs. *Quím. nova*, 24: 751-755.
- 342 Chavasiri, W; Prukchareon, W.; Sawadee,P.; Zungsontiporn, S. (2005) Allelochemicals from
343 *Hydrocotyle umbellata* Linn. In: Annals (or Proceedings/Abstracts) of The Fourth World Congress
344 on Allelopathy was held at Charles Sturt University in Wagga Wagga, NSW, Australia in August.

- 345 Della Greca, M.; Fiorentino, A.; Monaco, P.; Previtera, L. (1994) Polyoxygenated oleanane triterpenes
346 from *Hydrocotyle ranunculoides*. *Phytochem.*, 35: 201-204.
- 347 Duke, S.O., Dayan, F.E., Rimando, A.M. (1998). Natural products as tools for weed management.
348 *Proc. Jpn. Weed Sci. Soc. (Suppl.)*. pp.1-11.
- 349 Einhellig, F.A. The physiology of allelochemical action: Clues and Viewa. (2002). In: *Allelopathy*
350 *from Molecules to Ecosystems* (Eds., M. Reigosa & N. Pedrol). Vigo: Universidade de Vigo. p.1-
351 23.
- 352 Frankart, C.; Eullaffroy, P. e Vernet, G. (2003). Comparative effects of four herbicides on non-
353 photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*. *Environ. Experim.Bot.* 49:159-168.
- 354 Geoffroy, L.; Frankart, C.; Eullaffroy, P. (2004). Comparison of different physiological parameter
355 responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin. *Environ.*
356 *Pollut.* 131:233-241.
- 357 Gniazdowska, A. and R. Bogatek. (2005). Allelopathic interactions between plants. Multisite action of
358 allelochemicals. *Acta Physiol. Plant.* 27:395-407.
- 359 Haynes, D.; Ralph, P.; Pranges, J. e Denninson, B. (2000). The Impact of the Herbicide Diuron on
360 Photosynthesis in Three Species of Tropical Seagrass. *Mar. Pollut. Bull.* 41:288-293.
- 361 Hoagland, D.R. & Arnon, D.I. (1950). The Water-culture Method for Growing Plants without Soil.
362 Berkeley: California Agricultural Experiment Station, Circ. Coll. Agric. Univ. Calif, 347, 32p.
- 363 Huang, H.; Liaw, C.; Zhang, L.; HO, H.; Kuo, L.Y.; Shen, H.; Kuo, Y. (2008) Triterpenoidal saponins
364 from *Hydrocotyle sibthorpioides*. *Phytochem.* 69:1597-1603.
- 365 Janardhanan, M.; Thoppil, E.J. (2002) Chemical composition of two species of *Hydrocotyle*
366 (*Apiaceae*). *Acta Pharm.* 52:67-69.
- 367 Katalinic, V., Milos, M., Modum, D., Musie, L., Boban, M. (2004) Antioxidant effectiveness of
368 selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chem.* 86: 593-600.
- 369 Kissmann, K. G. *Plantas infestantes e nocivas*. 2. ed. Tomo III., BASF: São Paulo,1997. 616 p.
- 370 Lin, J.Y.; Tang, C.Y. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected
371 fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation.
372 *Food Chem.* 101: 140-147.
- 373 Lorenzi, H. (2000). *Plantas Daninhas do Brasil*. 3: 399p.
- 374 Macias, F.A., Castellano, D., Molinillo, J.M.G. (2000). Search for a Standard Phytotoxic Bioassay for
375 Allelochemicals. Selection of Standard Target Species. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2512-2521.
- 376 Macias, F.A., Fernandez, A., Varela, R.M., Molinillo, J.M.G., Torres, A., Alves, P.L.C.A. (2006).
377 Sesquiterpene Lactones as Allelochemicals. *J. Nat. Prod.* 69: 795-800.

- 378 Macinnis, C. M. O; Ralph, P. J. (2003). Short-term response and recovery of *Zostera capricorni*
379 photosynthesis after herbicide exposure. *Aquat. Bot.* 76:1-15.
- 380 Martins, M.B.G.; Marconi, A.P.; Cavalheiro, A.J.; Rodrigues, S.D. (2008) Caracterização anatômica e
381 química da folha e do sistema radicular de *Hydrocotyle umbellata* (Apiaceae). *Rev. Bras.*
382 *Farmacogn.* 18: 402-414.
- 383 Marchand, F. L.; Kockelbergh, F.; Van Der Vijver, B.; Beyens, L. e Nijs, I. (2006). Are heat and cold
384 resistance of arctic species affected by successive extreme temperature events? *New Phytol.*
385 170:291-300.
- 386 Matsuchita, A; Sasaki, Y; Warashina, T; Miyase, T; Noguchi, H; Vander V, D. (2004)
387 Hydrocotylosides I-VII, New Oleanane Saponins from *Hydrocotyle sibthorpioides*. *J. Nat. Prod.*
388 67: 384-388.
- 389 Meda, A.; Lamien, C.E.; Beecher, G.R. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid
390 and praline contents in Burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity.
391 *Food Chem.* 91: 571-577.
- 392 Mobin, M. e Khan, N. A. (2006). Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative
393 response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected
394 to cadmium stress. *J. Plant Physiol.* 164: 601-610.
- 395 Morel, A.F., Maldaner, G., Ilha, V., Missau, F., Silva, U.F., Dacol, I.I. (2005). Cyclopeptide alkaloides
396 from *Scutia buxifolia* Reiss and their antimicrobial activity. *Phytochem.* 66: 2571-2576.
- 397 Ninkovic, V. (2003). Volatile communication between barley plants affects biomass allocation. *J. Exp.*
398 *Bot.* 54: 1931-1939.
- 399 Prates, H.T.; Paes, J.M.V.; Piresi, N.M.; Filho, I.A.P.; Magalhães, P.C. (2000) Efeito do extrato
400 aquoso de *Leucena* na germinação e no desenvolvimento do milho. *Pesq Agrop. Bras.*, 35:909-914.
- 401 Ranal, M.A. & Santana, D.G. 2006. How and why to measure the germination process? *Rev. Bras.*
402 *Bot.* 29:1-11.
- 403 Rennenberg, H.; Loreto, F.; Polle, A.; Brill, F.; Fares, S.; Beniwal, R. S. e Gessler, A. (2006).
404 Physiological responses of forest trees to heat and drought. *Plant. Biol.* 8:556-71.
- 405 Souza Filho, A.P.S. (2002) Alelopatia em Agroecossistemas. In: Souza Filho, A.P.S.; Alves, S.M
406 (Ed.). *Alelopatia: Princípios Básicos e Aspectos Gerais*. Belém: Embrapa. p.155-204.
- 407 Waring, J.; Underwood, G. J.; Baker, N. R. 2006. Impact of elevated UV-B radiation on
408 photosynthetic electron transport, primary productivity and carbon allocation in estuarine epipellic
409 diatoms. *Plant Cell Environ.* v. 4:521-34.
- 410

411 **Tabela 1.** Efeito das frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis* no índice
 412 de velocidade de emergência (IVE) de alface e cebola.

Índice de velocidade de emergência (IVE) ¹				
PARTE AÉREA				
n = 8 repetições	Controle	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000 mg.L ⁻¹
ALFACE				
Extrato etanólico bruto	0,37±2,0	0,21 ±1,9* ²	0,20±1,5* ²	0,20±1,4 * ²
Fração hexânica	0,37±2,0	0,33±2,6* ²	0,33±2,2* ²	0,30±2,1* ²
Fração acetato de etila	0,37±2,0	0,22 ±1,2* ²	0,22 ± 1,6* ²	0,22±1,4 * ²
Fração etanol-água	0,37±2,0	0,20 ±1,1* ²	0,20 ± 2,7* ²	0,20±1,8* ²
CEBOLA				
Extrato etanólico bruto	0,26±1,5	0,25± 1,4 ^{ns}	0,21± 1,2*	0,17± 2,1*
Fração hexânica	0,26±1,5	0,25±1,8 ^{ns}	0,22±1,5*	0,19±2,2*
Fração acetato de etila	0,26±1,5	0,21± 1,2*	0,16± 2,0*	0,15± 2,4*
Fração etanol-água	0,26±1,5	0,21± 1,9*	0,16± 1,3*	0,14± 2,4*
PARTE SUBTERRÂNEA				
ALFACE				
Extrato etanólico bruto	0,37± 2,0	0,20±1,5* ²	0,20±1,1* ²	0,19±2,1* ²
Fração hexânica	0,37±2,0	0,20±4,6 ^{ns}	0,20±5,2* ²	0,19±8,1* ²
Fração acetato de etila	0,37±2,0	0,20±1,2* ²	0,20±2,3* ²	0,20±2,1* ²
Fração etanol-água	0,37±2,0	0,20±1,9* ²	0,19±2,3* ²	0,19±2,4* ²
CEBOLA				
Extrato etanólico bruto	0,26±1,5	0,23±1,7*	0,21±1,4*	0,16±1,2*
Fração hexânica	0,26±1,5	0,25±1,8*	0,22±2,4*	0,19±1,3*
Fração acetato de etila	0,26±1,5	0,21±1,1*	0,18±1,1*	0,15±1,5*
Fração etanol-água	0,26±1,5	0,21±1,0*	0,17±1,4*	0,13±1,3*

413 ¹Média ± Desvio padrão. *A média do tratamento difere significativamente (p < 0,05) em comparação
 414 com a média do controle, pelo teste de Dunnet. ^{ns}A média do tratamento não difere significativamente
 415 da média do controle. *²Kruskal-Wallis (e Mann Whitney U).

416

417

418

419

420

421 **Tabela 2.** Efeito das frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de *H. bonariensis* na
 422 porcentagem de plântulas emersas de alface e cebola.

% de plântulas emersas ¹				
PARTE AÉREA				
n = 8 repetições	Controle	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000 mg.L ⁻¹
ALFACE				
Extrato etanólico bruto	57,00±1,07	34,80±1,04* ²	31,00±1,07* ²	27,80±1,28* ²
Fração hexânica	57,00±1,07	41,30±1,04*	36,80±1,04*	30,80±1,04*
Fração acetato de etila	57,00±1,07	33,30±1,04*	30,30±1,28*	25,00±1,07*
Fração etanol-água	57,00±1,07	27,30±1,04* ²	22,50±1,41* ²	17,00±1,07* ²
CEBOLA				
Extrato etanólico bruto	57,50±0,93	37,25±1,04*	33,25±1,04*	29,00±1,07*
Fração hexânica	57,50±0,93	55,25±1,04*	47,00±1,07*	41,00±1,07*
Fração acetato de etila	57,50±0,93	54,50±0,93*	43,00±1,07*	37,00±1,07*
Fração etanol-água	57,50±0,93	31,00±1,07*	22,00±1,51*	17,25±1,04*
PARTE SUBTERRÂNEA				
ALFACE				
Extrato etanólico bruto	57,00±0,93	32,80±1,04*	29,00±1,07*	26,80±1,04*
Fração hexânica	57,00±0,93	53,50±2,5* ²	48,00±1,07* ²	43,80±2,25* ²
Fração acetato de etila	57,00±0,93	51,80±1,67*	44,80±1,49*	37,80±1,67*
Fração etanol-água	57,00±0,93	26,30±1,67*	22,00±1,51*	16,50±2,56*
CEBOLA				
Extrato etanólico bruto	57,50±0,93	36,50±0,93* ²	32,00±2,14* ²	28,00±2,39* ²
Fração hexânica	57,50±0,93	53,00±1,85* ²	43,25±2,12* ²	38,50±2,07* ²
Fração acetato de etila	57,50±0,93	52,75±1,49*	41,50±,93*	35,00±1,07*
Fração etanol-água	57,50±0,93	29,50±1,41*	20,75±1,04*	15,00±1,07*

423 ¹Média ± Desvio padrão. *A média do tratamento difere significativamente (p < 0,05) em comparação
 424 com a média do controle, pelo teste de Dunnet. ^{ns}A média do tratamento não difere significativamente
 425 da média do controle.

426

427

428

429

430

431 **Tabela 3.** Efeito dos herbicidas comerciais no índice de velocidade de emergência (IVE) e na
 432 porcentagem de plântulas emersas de alface, e cebola.

Índice de velocidade de emergência (IVE) ¹				
n = 8 repetições	Controle	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³
ALFACE				
Glifosato	0,37±2,0	0,22±1,4* ²	0,22±1,6* ²	0,22±7,0* ²
Basagran	0,37±2,0	0,20±7,4* ²	0,21±2,1* ²	0,21±8,9* ²
Atrazina	0,37±2,0	0,20±7,1* ²	0,20±7,8* ²	0,20±1,1* ²
CEBOLA				
Glifosato	0,26±1,5	0,24±0,99*	0,21±0,74*	0,16±0,10*
Gesagard	0,26±1,5	0,26±0,67 ^{ns}	0,22±0,14*	0,20±0,13*
Poast	0,26±1,5	0,13±0,36*	0,16±0,16*	0,19±0,11*
% de plântulas emersas ¹				
n = 8 repetições	Controle	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³
ALFACE				
Glifosato	57,00±1,07	25,30±1,04*	28,80±1,04*	31,30±1,04*
Basagran	57,00±1,07	34,50±0,93*	37,30±1,04*	37,00±1,07*
Atrazina	57,00±1,07	50,80±1,04*	53,00±1,07*	55,00±1,07*
CEBOLA				
Glifosato	57,50±0,93	37,30±1,04*	33,30±1,04*	29,00±1,07*
Gesagard	57,50±0,93	51,50±1,77*	51,80±1,67*	55,80±1,28 ^{ns}
Poast	57,50±0,93	24,80±1,41*	19,40±1,41*	13,00±1,58*

433

434 ¹Média ± Desvio padrão. *A média do tratamento difere significativamente (p < 0,05) em comparação
 435 com a média do controle, pelo teste de Dunnet. ^{ns}A média do tratamento não difere significativamente
 436 da média do controle.

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446 **Tabela 4.** Teor Total de fenóis presentes nas frações semipurificadas da parte aérea e subterrânea de
447 *H. bonariensis* ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ de frações).
448
449

Total de fenóis* ($\mu\text{g EAG mg}^{-1}$)		
Frações	Parte aérea	Parte subterrânea
EEB	192,72 \pm 0,61	196,72 \pm 0,69
Fração hexânica	24,72 \pm 0,63	110,72 \pm 1,13
Fração acetato de etila	307,12 \pm 1,19	501,92 \pm 1,44
Fração etanol-água	290,32 \pm 1,03	174,72 \pm 1,21

450

451

452

453

454

455

456

457

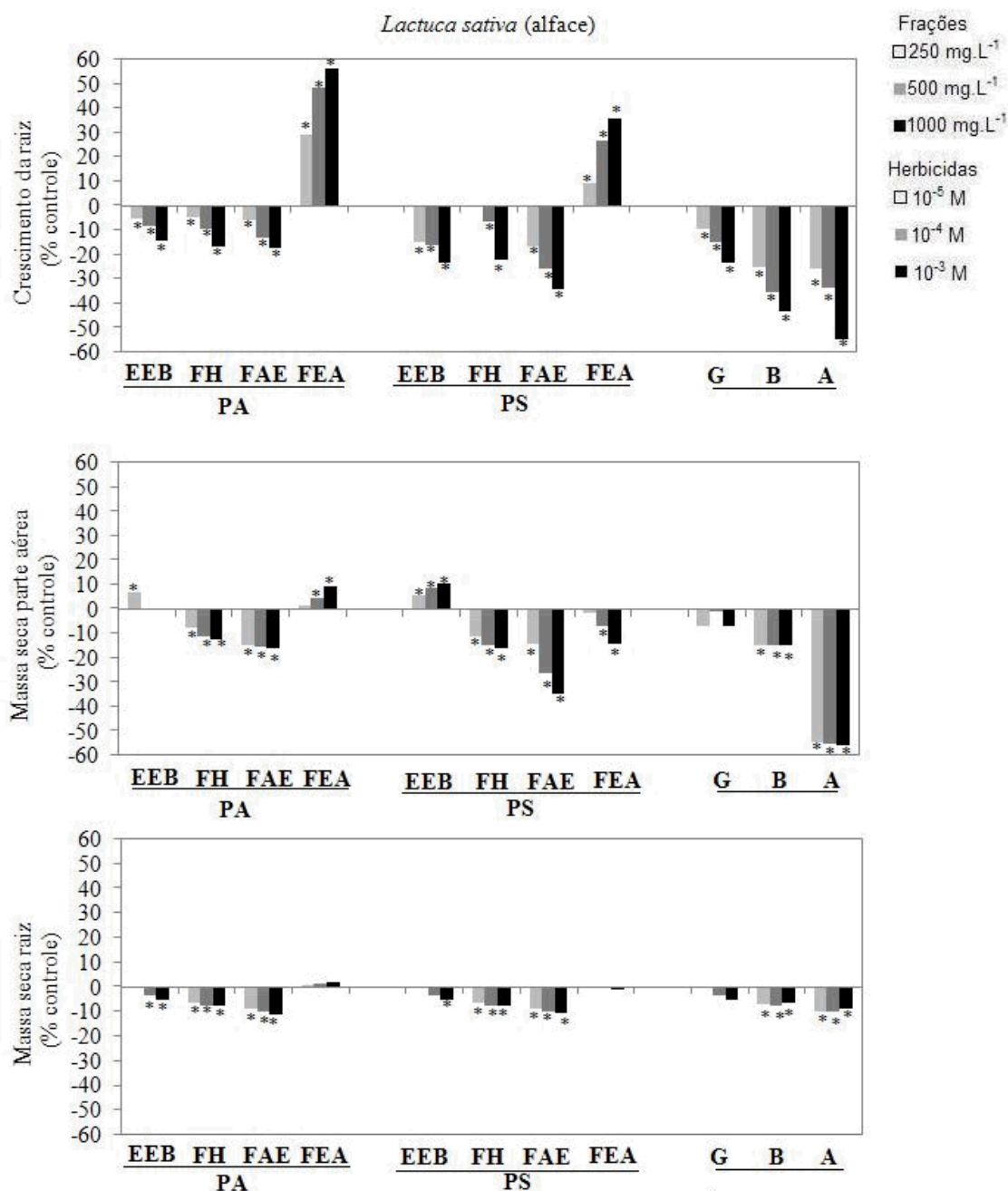
458

459

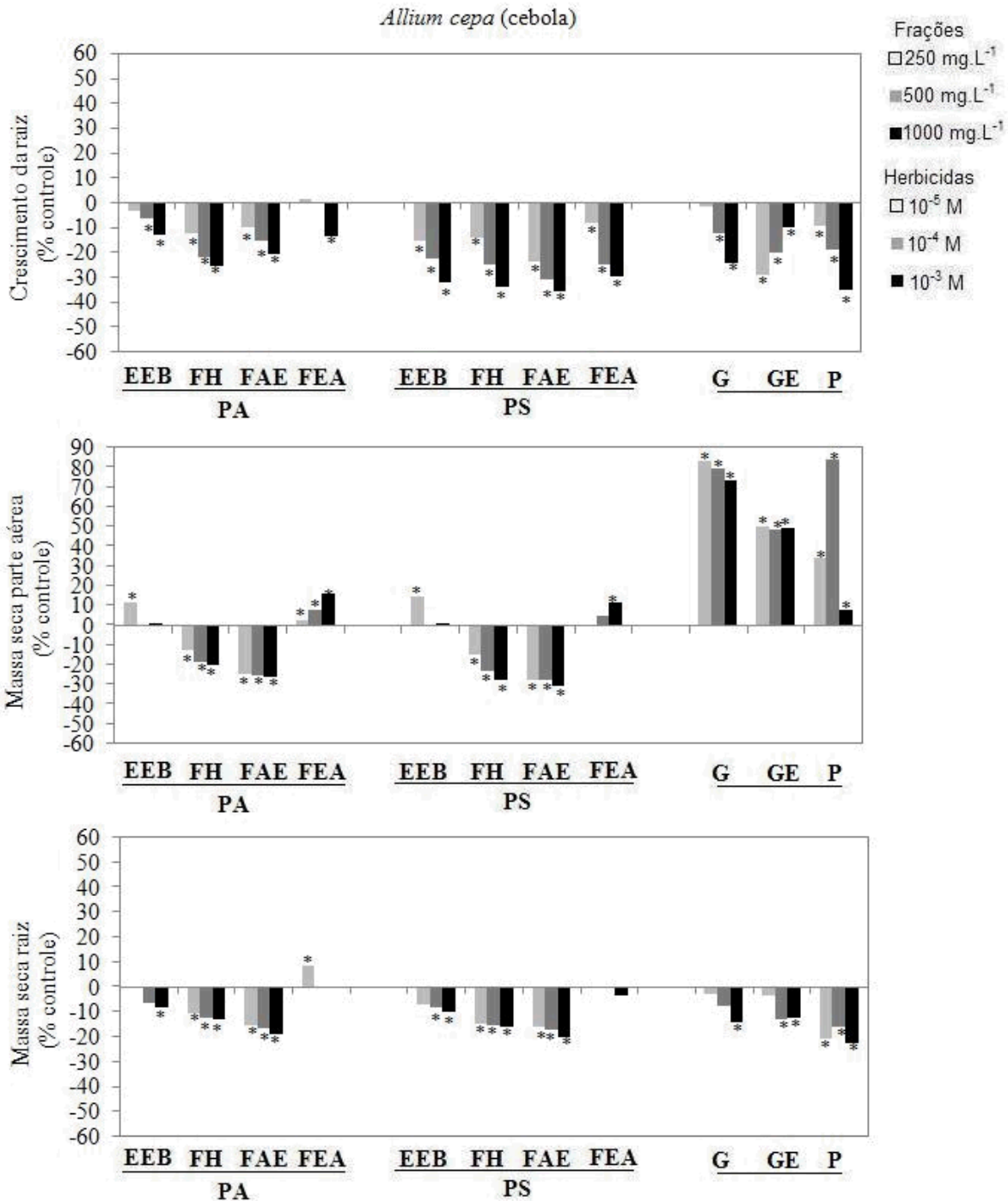
460

461

462



463
 464 **Figura 1.** Crescimento médio da raiz e acúmulo de massa seca da parte aérea e raiz de alface
 465 submetida a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração
 466 acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de
 467 *Hydrocotyle bonariensis* e dos herbicidas glifosato (G), basagran (B) e atrazina (A). Dados expressos
 468 em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em
 469 comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.



471

472

473

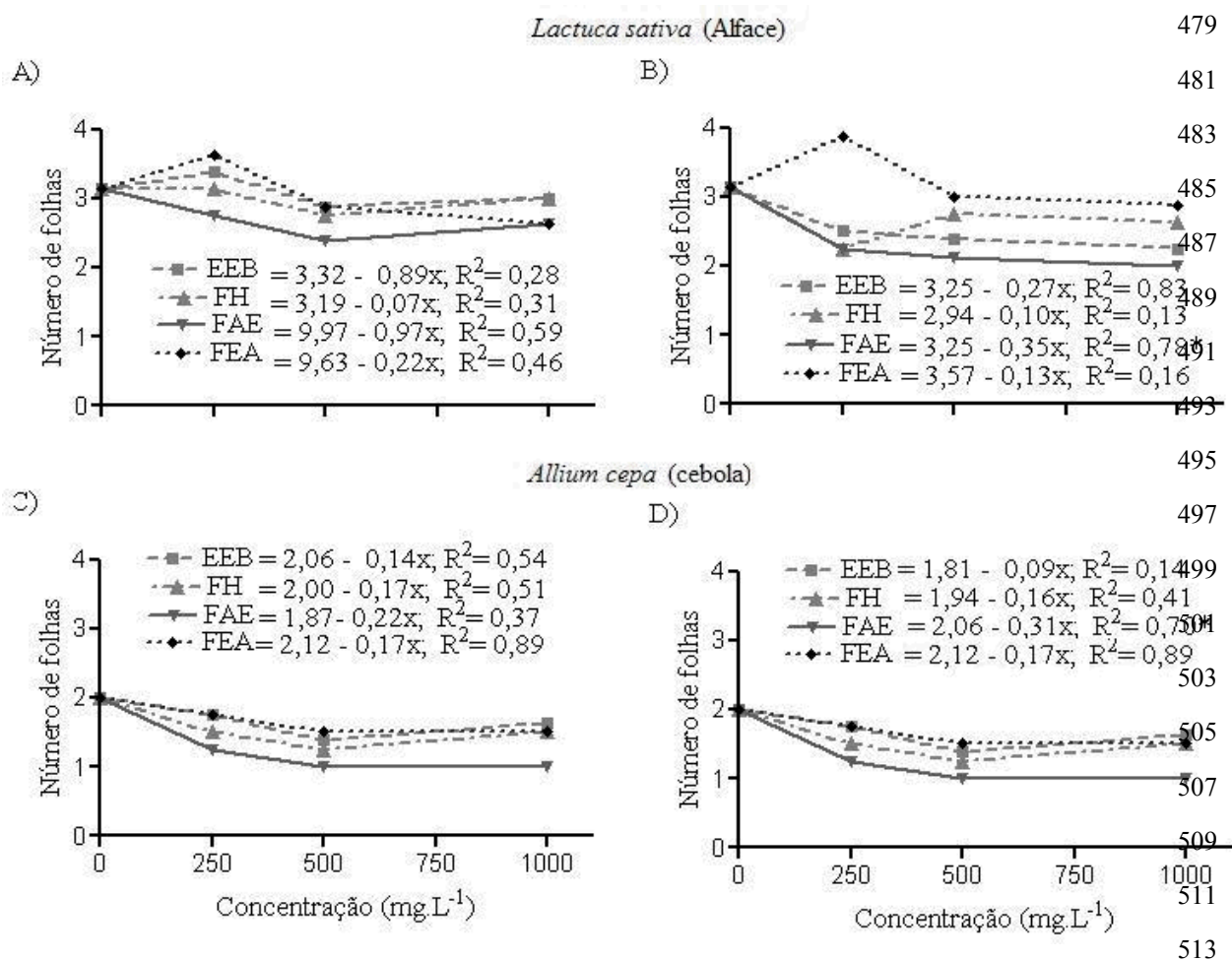
474

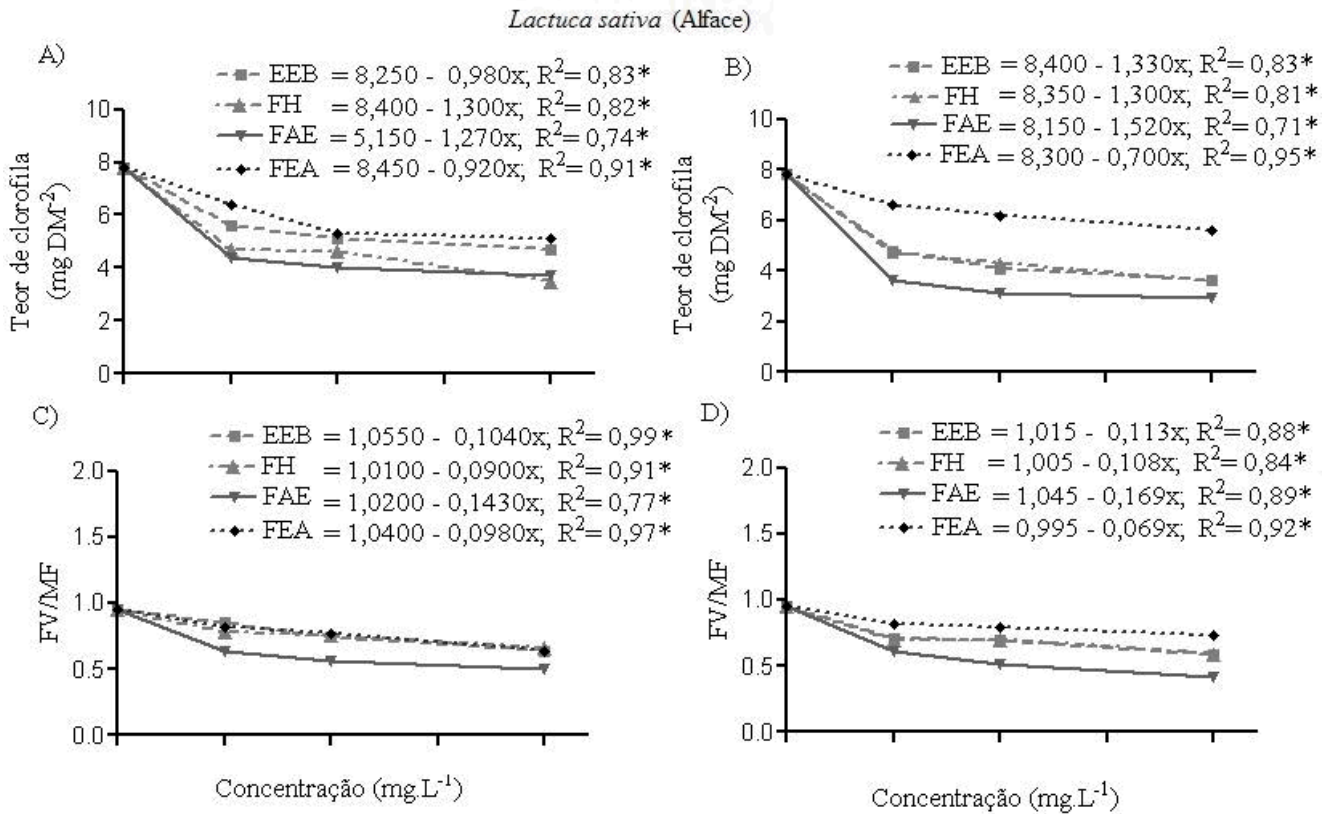
475

476

477

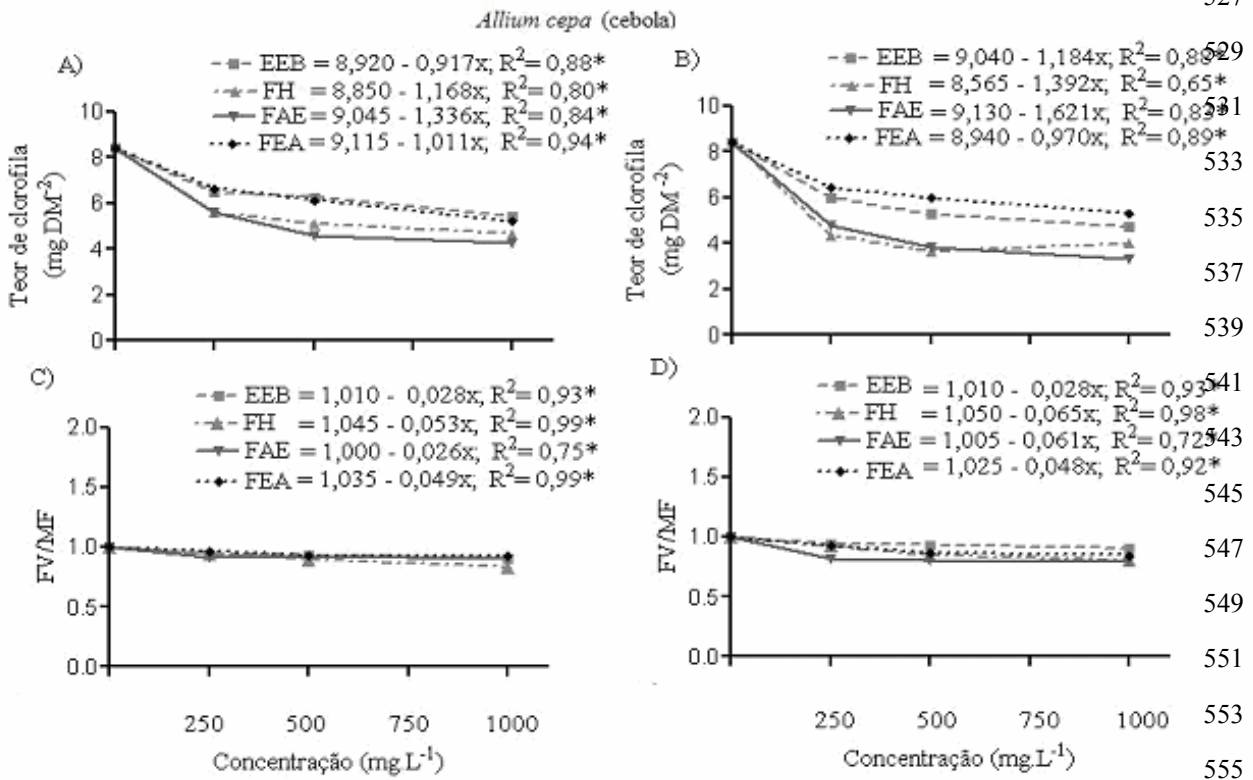
Figura 2. Crescimento médio da raiz e acúmulo de massa seca da parte aérea e raiz de cebola submetida a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) da parte aérea (PA) e subterrânea (PS) de *Hydrocotyle bonariensis* e dos herbicidas glifosato (G), gesagard (GE) e poast (P). Dados expressos em percentual em relação ao controle. *A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnet.





520 **Figura 4.** Teor de clorofila e fluorescência (FV/FM) das folhas de alface submetidas a diferentes
 521 concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e
 522 fração etanol-água (FEA) da parte aérea (A, C) e subterrânea (B, D) de *Hydrocotyle bonariensis*. (*
 523 valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).

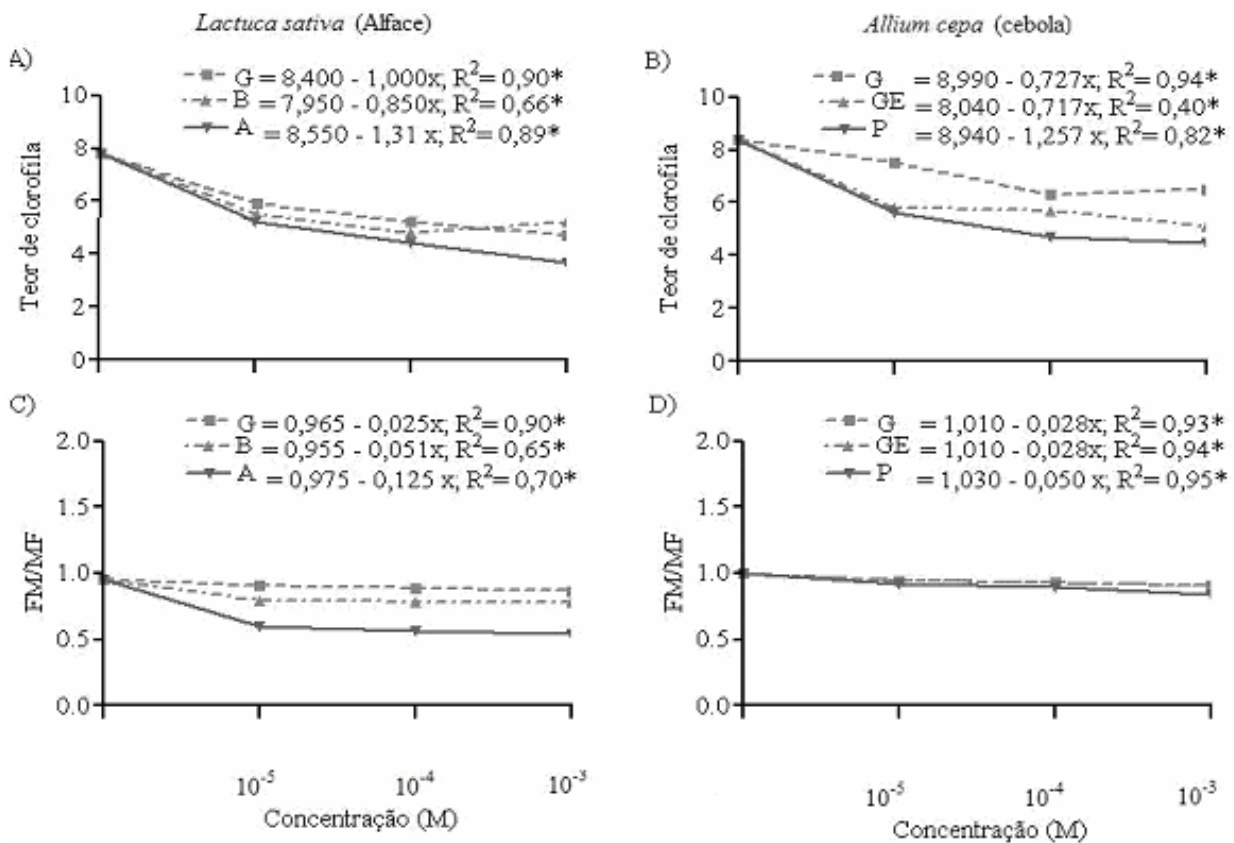
525



556 **Figura 5.** Teor de clorofila e fluorescência (FV/FM) das folhas de cebola submetidas a diferentes
 557 concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE) e
 558 fração etanol-água (FEA) da parte aérea (A, C) e subterrânea (B, D) de *Hydrocotyle bonariensis*. (*
 559 valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).

560

562



563

564 **Figura 6.** Teor de clorofila e fluorescência (FV/MF) das folhas de alface (A, C) e cebola (B, D)
 565 submetidas a diferentes concentrações dos herbicidas glifosato (G), basagran (B), atrazina (A),
 566 gesagard (GE) e poast (P). (* valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F).

567

568

569

570

571

572

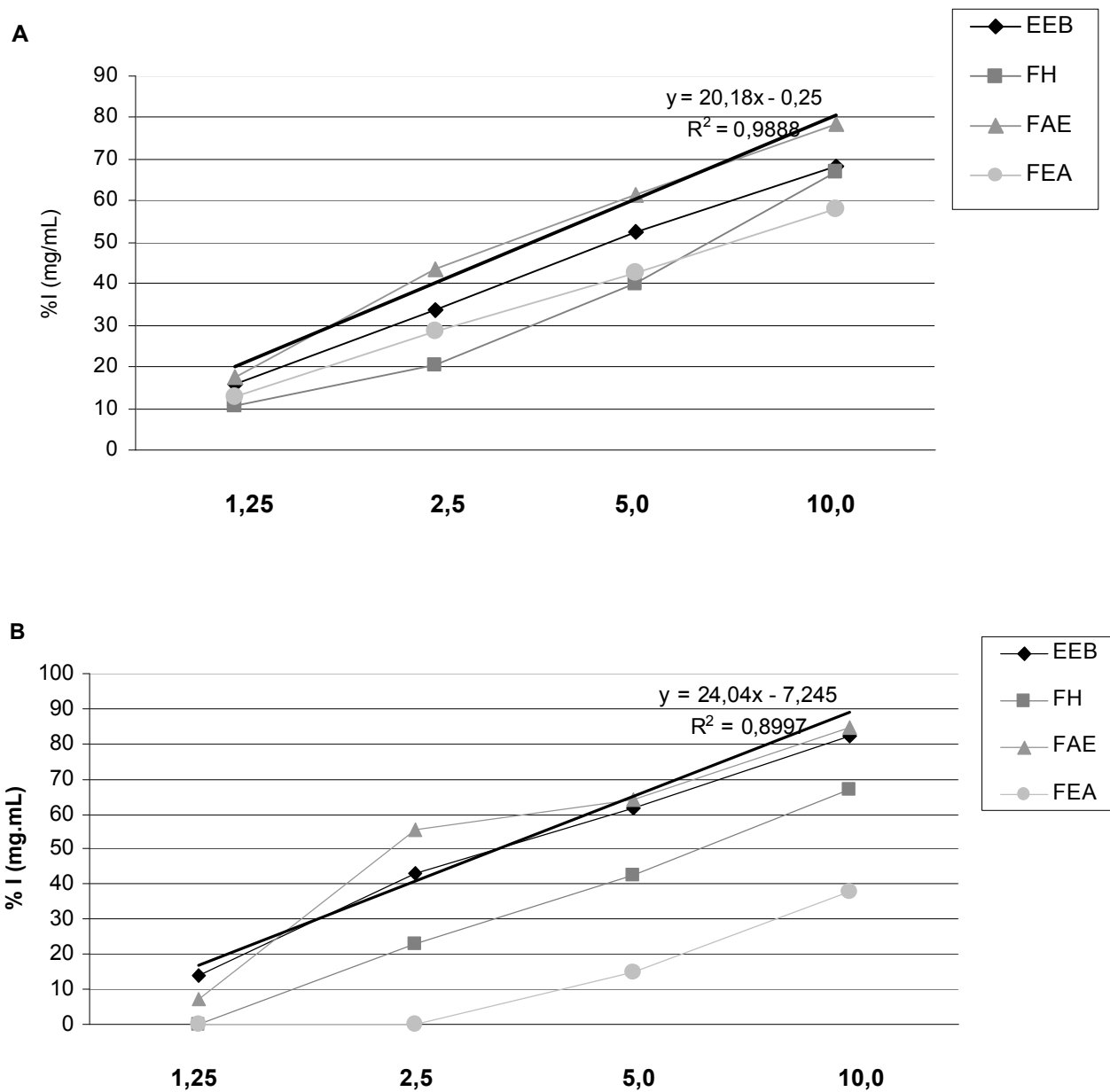
573

574

575

576

577



578 **Figura 7.** Atividade antioxidante das frações de *H. bonariensis*, frente ao DPPH. . **A-** EEB e
 579 frações da parte aérea, **B-** EEB e frações da parte subterrânea.

580

Capítulo 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerações finais

A investigação do potencial alelopático do extrato etanólico bruto (EEB) e frações semipurificadas: fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE), fração etanol-água (FEA) e fração alcaloídica (FA), da parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* LAM. (Araliaceae) em laboratório e casa de vegetação, bem como a investigação da composição química dos óleos essenciais e do metabolismo secundário, permitiu-nos as seguintes considerações:

1. Para a composição química dos óleos essenciais, 17 compostos foram identificados, dos quais o limoneno (53,6%) e o γ -muuroleno (10,5%) foram os constituintes majoritários;
2. A atividade alelopática dos óleos essenciais revelaram que houve redução na porcentagem de germinação, crescimento da raiz e do hipocótilo/coleótilo, e massa seca de alface e cebola nas maiores concentrações ensaiadas, verificando-se uma relação dose-dependente;
3. A análise em cromatografia em camada delgada revela a presença compostos fenólicos no EEB e frações da parte aérea e subterrânea e alcalóides na FAE da parte subterrânea. A quantificação do teor total de fenóis e atividade antioxidante revelam o maior conteúdo de fenóis e atividade antioxidante na FAE da parte subterrânea.
4. Nos bioensaios em laboratório, foi verificado que todas as frações atrasaram a germinação de alface, tomate e cebola, e trigo, sendo que a FAE da parte subterrânea causou maior inibição no crescimento da raiz primária, hipocótilo/ coleótilo em monocotiledôneas e eudicotiledôneas, enquanto que a FEA causou estímulo da raiz primária em eudicotiledoneas. A mesma fração inibiu o crescimento da raiz das monocotiledôneas. A FA inibiu o crescimento da raiz e hipocótilo/ coleótilo de alface e cebola.
5. Nos bioensaios com herbicidas, foi verificado que os herbicidas Basagran, Atrásina, Gesagard e Poast foram fitotóxicos na germinação e crescimento e pode ser observado nos resultados que a FAE e a FA da parte subterrânea apresentaram fitotoxicidade semelhante a esses herbicidas.
6. Nos bioensaios em casa de vegetação, a FEA da parte subterrânea inibiu, em média em 71% a emergência em alface e 73% em cebola, e atrasou a germinação em alface em 48% e 50% em cebola. O EEB, FH e FAE da parte subterrânea inibiram o crescimento da raiz em alface e cebola, sendo observado que a FEA da parte aérea e subterrânea, provocou estímulo no crescimento da raiz de alface e aumento na biomassa seca da parte aérea em cebola; nas maiores concentrações ensaiadas.
7. O EEB e as frações causaram redução no teor de clorofila e na relação Fv/ Fm em alface e cebola, sendo que os menores valores foram observados para a FAE da parte subterrânea.

ANEXOS

Anexo 1.

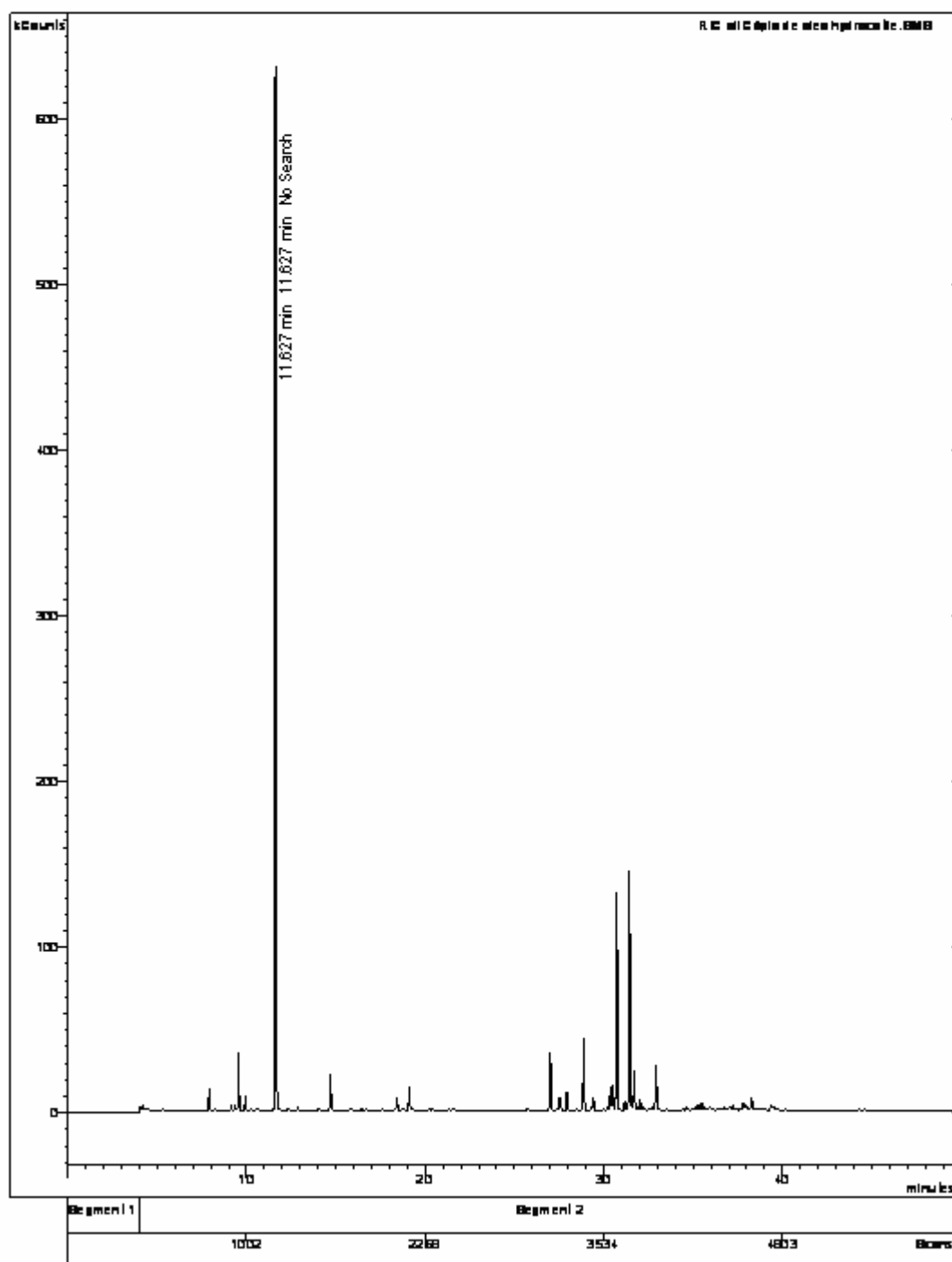


Figura 1. Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas de *Hydrocotyle bonariensis*.

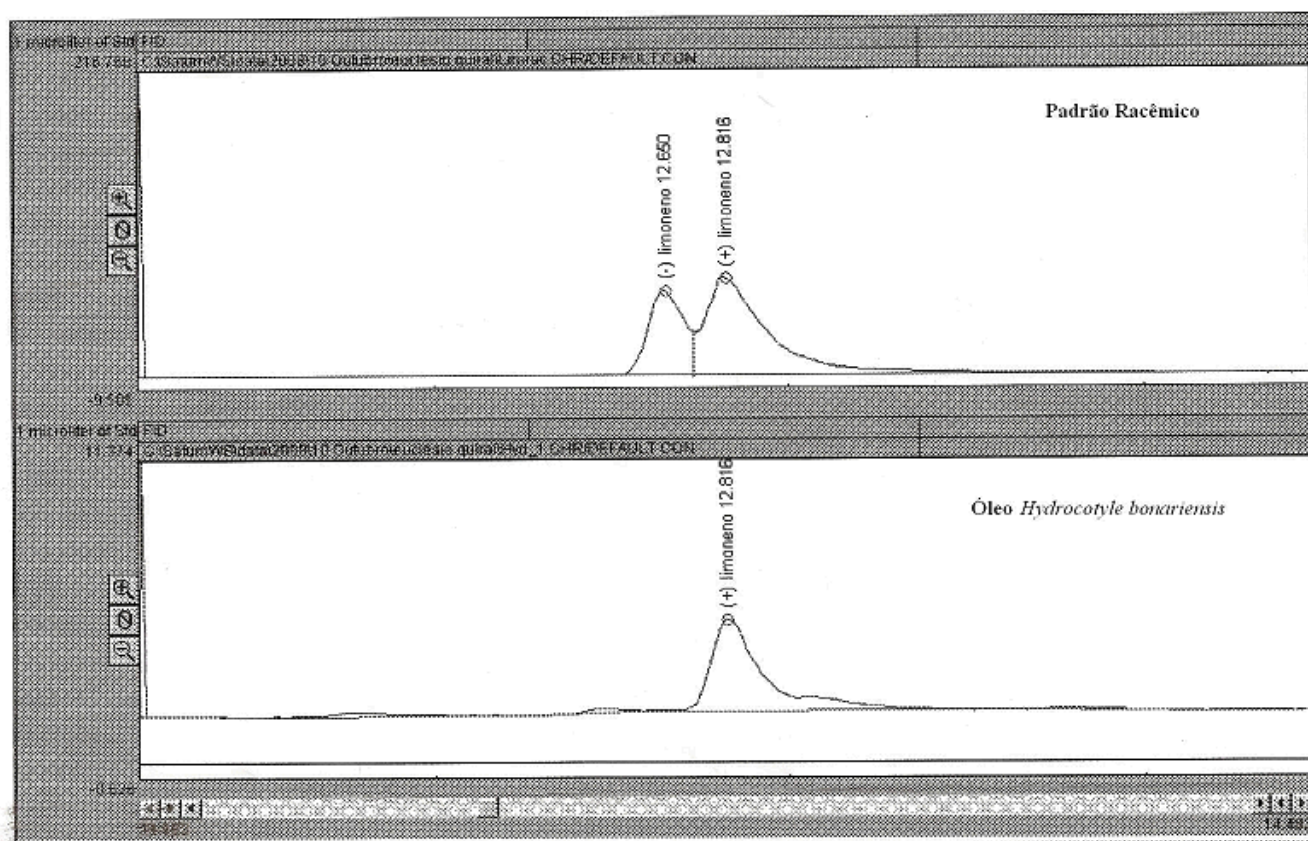


Figura 2. Análise quiral do limoneno presente no óleo essencial extraído das folhas de *Hydrocotyle bonariensis*.

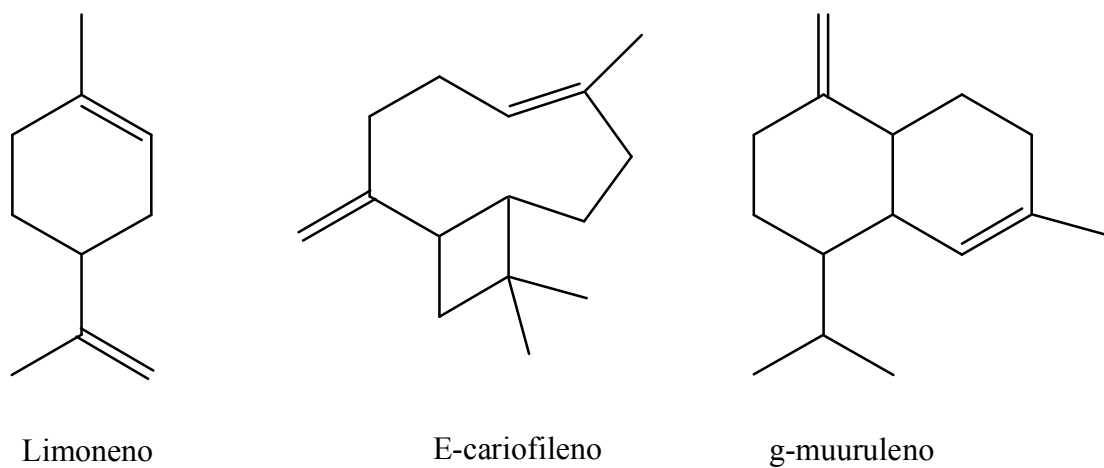


Figura 3. Estrutura dos principais terpenos presentes no óleo de *Hydrocotyle bonariensis*.

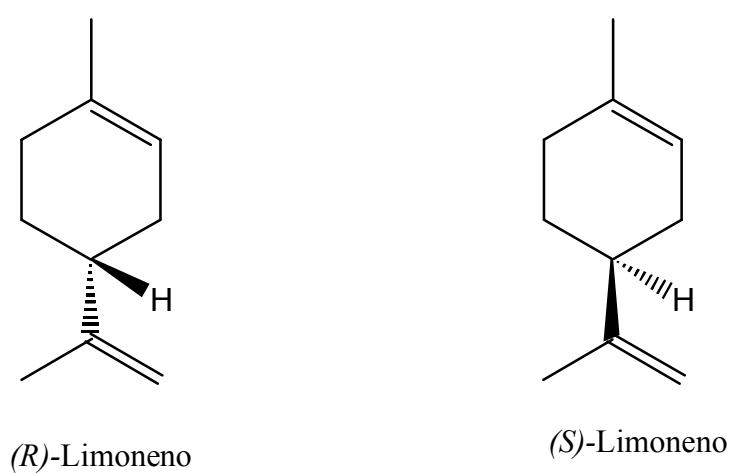


Figura 4. Formas isoméricas do terpeno limoneno (enantiômeros).

Anexo 2.

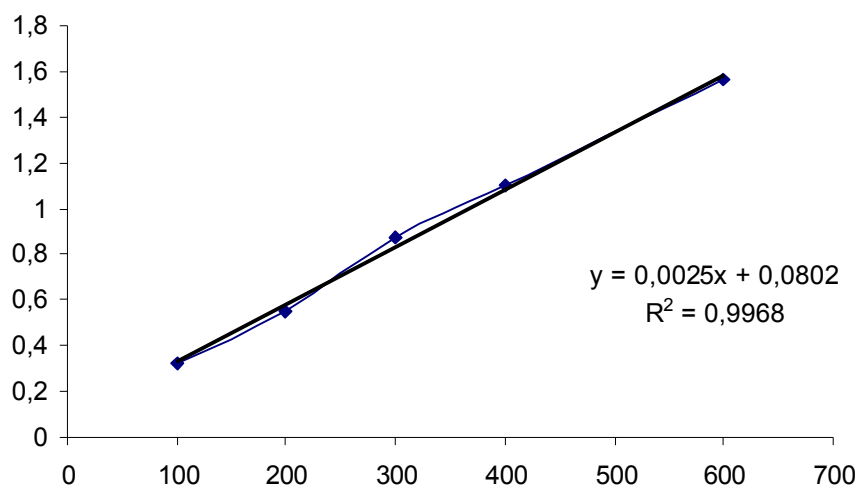


Figura 1. Curva analítica do ácido gálico

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)