

AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS POLARES E DA
ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Schinus terebinthifolius*
(ANARCADIACEAE)

LUCIANA MORENO DOS SANTOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY-RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO 2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS POLARES E DA
ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Schinus terebinthifolius*
(ANARCADIACEAE)

LUCIANA MORENO DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Silvério de Paiva Freitas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO 2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 032/2009

Santos, Luciana Moreno dos

Avaliação dos constituintes químicos polares e da atividade alelopática de *Schinus terebinthifolius* (Anarcadiaceae) / Luciana Moreno dos Santos. – 2009.

150 f. : il.

Orientador: Silvério de Paiva Freitas

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Bibliografia: f. 103 – 111.

1. Constituintes químicos 2. Alelopatia 3. *Schinus terebinthifolius* 4. *Bidens pilosa* 5. *Lactuca sativa* I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 632.96

AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS POLARES E DA
ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Schinus terebinthifolius*
(ANARCADIACEAE)

LUCIANA MORENO DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em, 10 de fevereiro de 2009.

Comissão Examinadora:

Prof. Geraldo de Amaral Gravina (Dr. Sc. Produção Vegetal) - UENF

Prof^a. Michelle Frazão Muzitano (Dr^a. Sc. Química de Produtos Naturais) - UENF

Prof. Cláudio Luiz Melo de Souza (Dr. Sc. Produção Vegetal) - ISTCA

Silvério de Paiva Freitas (Dr. Sc. Fitotecnia) – UENF
Orientador

“Porque qualquer homem, mesmo perfeito, entre os homens, não será nada, se lhe faltar a sabedoria que vem de vós”.

(Sabedoria 9: 6)

À minha mãe Ana Lúcia e ao meu pai José Geraldo, por todo amor,
carinho, apoio e compreensão;
Ao meu irmão Ziraldo por todo amor, carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter dirigido meus passos me dando força e coragem todos os momentos;

Ao meu pai José Geraldo e à minha mãe Ana Lúcia por todo amor, carinho, apoio e compreensão;

Ao meu irmão Zivaldo por todo amor, carinho e colaboração nos momentos difíceis;

Ao Orientador e professor Silvério de Paiva Freitas, pela oportunidade, apoio, confiança e pela amizade demonstrada durante todo tempo;

À professora Daniela Barros de Oliveira pela co-orientação e pela utilização do Laboratório de Tecnologia de Alimentos;

Ao professor Geraldo de Amaral Gravina pelo apoio e orientação nas análises estatísticas e também pela amizade;

Ao professor Antônio Jacinto Demuner e a Camila Oliveira pela obtenção dos Espectros de RMN¹H e RMN ¹³C;

À professora Michelli Muzitano pelo auxílio na obtenção dos cromatogramas e pela disponibilização do Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência;

Ao Senhor Acácio pela realização das medidas de pH e condutividade elétrica dos extratos;

Ao amigo Vinícios Moreira pelo auxílio na obtenção dos espectros de infravermelho e também por todo carinho e amizade;

Aos funcionários da Estação Experimental (PESAGRO-RJ) pela disponibilização do laboratório de análise de sementes e da casa de vegetação utilizada na realização dos ensaios.

À grande amigas Cláudia Prins por toda ajuda, apoio e principalmente pela amizade;

Às amigas Laureana Pelegrine, Silvania Ladeira, Raquel Rubim, Marcela Andrade, Andréia Delatorre e Alessandra Dardengo pela amizade;

Às amigas do LCQUI Lara Fonseca e Elaine Figueiredo pela amizade e conforto nas horas de maior dificuldade;

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização desse trabalho, mas não descritos aqui o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ESQUEMAS	xiv
LISTA DE QUADROS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xix
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Alelopatia	4
2.2. Aleloquímicos	9
2.3. Considerações botânicas	14
2.4. Constituintes isolados de espécies classificadas popularmente como aroeira	17
2.5. Constituintes isolados da espécie <i>S. terebinthifolius</i>	21
2.6. Atividades biológicas descritas	23
2.7. Bioensaios alelopáticos	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1. Especificações gerais	27
3.2. Coleta do material vegetal	28
3.3. Preparo dos extratos.....	28

3.4. Fracionamento do decocto.....	30
3.5. Fracionamento da fração em acetato de etila.....	31
3.6. Avaliação da pureza das substâncias por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	37
3.7. Avaliações alelopáticas	38
3.7.1. Avaliação da atividade alelopática <i>in vitro</i>	38
3.7.2. Avaliação da atividade alelopática <i>in vivo</i>	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
4.1. Avaliações da pureza das substâncias químicas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	41
4.2. Elucidação estrutural da substância STL- 01	51
4.3. Avaliações físico-químicas dos extratos.....	63
4.4. Avaliações da atividade alelopática dos constituintes químicos polares de <i>S. terebinthifolius in vitro</i>	63
4.4.1. Avaliação da atividade alelopática frente a <i>Lactuca sativa</i> (alface) e <i>Bidens pilosa</i> (picão-preto) em termos qualitativos.....	64
4.4.2. Avaliação da atividade alelopática frente a <i>Lactuca sativa</i> (alface) <i>in vitro</i>	66
4.4.2.1. Avaliação da atividade alelopática do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	66
4.4.2.2. Avaliação da atividade alelopática da fração em acetato de etila do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	71
4.4.2.2.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E1).....	71
4.4.2.2.2. Avaliação das concentrações de 0; 12,5; 25; 50; 100 e 200 mg/L (E2).....	73
4.4.2.3. Avaliação da atividade alelopática da fração butanólica do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	75
4.4.2.3.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E1).....	75
4.4.2.3.2. Avaliação das concentrações de 0; 12,5; 50; 100 e 200 mg/L (E2).....	78
4.4.3. Avaliação da atividade alelopática frente a <i>L. sativa</i> (Alface) <i>in vivo</i>	81

4.4.3.1. Avaliação da atividade alelopática do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	81
4.4.3.2. Avaliação da atividade alelopática da fração em acetato de etila do decocto das folhas de <i>Schinus terebinthifolius</i>	84
4.4.3.2.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E1).....	84
4.4.3.2.2. Avaliação das concentrações de 0; 12,5; 50; 100 e 200 mg/L (E2).....	87
4.4.3.3. Avaliação da atividade alelopática da fração em butanólica do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	91
4.4.3.3.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E1).....	91
4.4.3.3.2. Avaliação nas concentrações de 0; 12,5; 50; 100 e 200 mg/L (E2).....	93
4.4.4. Avaliação da atividade alelopática do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> frente a <i>Bidens pilosa</i> (picão-preto).....	97
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
APÊNDICES.....	112
APÊNDICE A.....	113
MEDIDAS FÍSICO-QUÍMICAS.....	113
1.1. Medidas físico-químicas dos extratos e frações do decocto de <i>S. terebinthifolius</i> , avaliadas em relação à atividade alelopática <i>in vitro</i>	113
1.2. Medidas físico-químicas dos extratos e frações do decocto de <i>S. terebinthifolius</i> , avaliadas em relação à atividade alelopática <i>in vivo</i>	115
APÊNDICE B.....	117
ANÁLISES DE VARIÂNCIA.....	117

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular da substância mimosina, presente no extrato aquoso das partes aéreas (folhas e caules jovens) de leucena.	6
Figura 2. Estrutura química do ácido <i>p</i> -cumárico, aleloquímico isolado da <i>Poaceae Brachiaria humidicola</i>	7
Figura 3. Flavonóides com atividade alelopática.	12
Figura 4. Estruturas químicas de neolignananas, aleloquímicos isolados de <i>V. surinamensis</i>	14
Figura 5. Ácido anarcádico.	15
Figura 6. <i>Schinus terebinthifolius</i>	16
Figura 7. Substâncias isoladas de <i>Myracrodouon urundeuva</i> (aroeira-do-sertão). ..	18
Figura 8. Óleos voláteis identificados na espécie <i>Myracrodouon urundeuva</i> (aroeira-do-sertão)	19
Figura 9. Substâncias isoladas de <i>Schinus molle</i> L.	20
Figura 10. Substâncias isoladas de <i>S. lencifolius</i>	20
Figura 11. Compostos fenólicos isolados de <i>S. terebinthifolius</i>	21
Figura 12. Constituintes químicos isolados de <i>S. terebinthifolius</i>	22
Figura 13. Substâncias isoladas dos frutos de <i>S. terebinthifolius</i>	23
Figura 14. Cromatograma obtido para a substância STL-01.	42
Figura 15. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-01.	42
Figura 16. Cromatograma obtido para a substância STL-02.	43
Figura 17. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-02.	43

Figura 18. Cromatograma obtido para a substância STL-03.....	44
Figura 19. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-03.....	44
Figura 20. Cromatograma obtido para a substância STL-04.....	45
Figura 21. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-04.....	45
Figura 22. Cromatograma obtido para a substância STL-05.....	46
Figura 23. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-05.....	46
Figura 24. Cromatograma obtido para a substância STL-06.....	47
Figura 25. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-06.....	47
Figura 26. Cromatograma obtido para o decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	48
Figura 27. Cromatograma obtido para a fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	48
Figura 28. Espectro na região do ultravioleta da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	49
Figura 29. Espectro na região do ultravioleta da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	49
Figura 30. Cromatograma obtido para a fração butanólica do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	50
Figura 31. Espectro de ultravioleta para a fração butanólica do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	50
Figura 32. Estrutura química da substância STL 01	52
Figura 33. Cromatograma da amostra STL-01 comparada a alguns padrões de ácidos fenólicos	55
Figura 34. Cromatograma da co-injeção da amostra STL-01 + padrão de ácido gálico.....	55
Figura 35. Espectro de RMN ¹ H da substância STL-01.	56
Figura 36. Espectro de APT da substância STL-01.....	57
Figura 37. Espectro de APT da substância STL-01 expansão da região δ_C 108-170.....	58
Figura 38. Espectro de HSQC da substância STL-01.....	59
Figura 39. Espectro de HMBC da substância STL-01.....	60
Figura 40. Espectro de Cosy da substância STL-01.....	61
Figura 41. Espectro de IV da Substância STL-01.....	62

Figura 42. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa</i>	68
Figura 43. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa</i>	68
Figura 44. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>L. sativa</i>	69
Figura 45. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BS de <i>L. sativa</i>	69
Figura 46. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a % G de <i>L. sativa</i>	70
Figura 47. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a IVG de <i>L. sativa</i>	70
Figura 48. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa</i>	72
Figura 49. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa</i>	72
Figura 50. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %G de <i>L. sativa</i>	73
Figura 51. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa</i>	74
Figura 52. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %G de <i>L. sativa</i>	75
Figura 53. Efeito da fração butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa</i>	76
Figura 54. Efeito da fração butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa</i>	77
Figura 55. Efeito da fração butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %G de <i>L. sativa</i>	77
Figura 56. Efeito da fração butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o IVG de <i>L. sativa</i>	78
Figura 57. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>L. sativa</i>	79
Figura 58. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %G de <i>L. sativa</i>	80

Figura 59. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o IVG de <i>L. sativa</i>	80
Figura 60. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa in vivo</i>	82
Figura 61. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa in vivo</i>	82
Figura 62. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>L. sativa in vivo</i>	83
Figura 63. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %E de <i>L. sativa in vivo</i>	83
Figura 64. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o IVG de <i>L. sativa in vivo</i>	84
Figura 65. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa in vivo</i>	85
Figura 66. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa in vivo</i>	86
Figura 67. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %E de <i>L. sativa in vivo</i>	86
Figura 68. Efeito da fração em acetato de etila (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o IVE de <i>L. sativa in vivo</i>	87
Figura 69. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa in vivo</i>	88
Figura 70. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa in vivo</i>	89
Figura 71. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>L. sativa in vivo</i>	89
Figura 72. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BS de <i>L. sativa in vivo</i>	90
Figura 73. Efeito da fração em acetato de etila (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %E de <i>L. sativa in vivo</i>	90
Figura 74. Efeito da fração em butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa in vivo</i>	92
Figura 75. Efeito da fração em butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>L. sativa in vivo</i>	92

Figura 76. Efeito da fração em butanólica (E ₁) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BS de <i>L. sativa in vivo</i>	93
Figura 77. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CPA de <i>L. sativa in vivo</i>	94
Figura 78. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>L. sativa in vivo</i>	95
Figura 79. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>L. sativa in vivo</i>	95
Figura 80. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BS de <i>L. sativa in vivo</i>	96
Figura 81. Efeito da fração butanólica (E ₂) do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o %E de <i>L. sativa in vivo</i>	96
Figura 82. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre o CR de <i>B. pilosa</i>	98
Figura 83. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BF de <i>B. pilosa</i>	98
Figura 84. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a BS de <i>B. pilosa</i>	99
Figura 85. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> sobre a %G de <i>B. pilosa</i>	99
Figura 86. Efeito do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> no IVG de <i>B. pilosa</i>	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Método utilizado nas análises de cromatografia líquida de alta eficiência.....	38
Tabela 2. Dados espectrais de RMN ¹ H e RMN ¹³ C (400MHz e 100 MHz, CDCl ₃) para a substância STL-01 . Deslocamentos químicos δ _H (em ppm).....	52
Tabela 3. Efeito da atividade alelopática de extratos brutos e frações de <i>S. terebinthifolius</i> frente à espécie <i>Lactuca sativa</i>	65
Tabela 4. Efeito da atividade alelopática de extratos brutos e frações de <i>S. terebinthifolius</i> frente à espécie <i>Bidens pilosa</i>	66

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Obtenção do extrato aquoso de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	29
Esquema 2. Obtenção do extrato metanólico de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	29
Esquema 3. Partição do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	30
Esquema 4. Partição do sobrenadante etanólico do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	31
Esquema 5. Fracionamento da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	32
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico CCSH-01 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	32
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico CCSH-02 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	33
Esquema 8. Fracionamento cromatográfico CCSH-03. Purificação das substâncias STL-01 e STL-02.....	34
Esquema 09. Fracionamento cromatográfico CCSH-04 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> . Purificação das substâncias STL-03 e STL-04.....	35
Esquema 10. Fracionamento cromatográfico CCSH-05 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> . Purificação da substância STL-05.....	36

Esquema 11. Fracionamento cromatográfico CSH-06 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*. Purificação da substância STL-06.....37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1A. Medidas físico-químicas do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	113
Quadro 2A. Medidas físico-químicas da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	114
Quadro 3A. Medidas físico-químicas da fração butanólica do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	114
Quadro 4A. Medidas físico-químicas do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	115
Quadro 5A. Medidas físico-químicas da fração em acetato de etila do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	115
Quadro 6A. Medidas físico-químicas da fração butanólica do decocto de folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	116
Quadro 1B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de <i>L. sativa</i> , submetidos a diferentes extratos e frações de <i>S. terebinthifolius</i>	117

Quadro 2B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de <i>B. pilosa</i> , submetidos a diferentes extratos e frações de <i>S. terebinthifolius</i>	118
Quadro 3B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente ao decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	118
Quadro 4B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E ₁) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	119
Quadro 5B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E ₂) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	119
Quadro 6B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E ₁) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	120
Quadro 7B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E ₂) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	120

Quadro 8B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente ao decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius in vivo</i>	121
Quadro 9B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E ₁) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius in vivo</i>	121
Quadro 10B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de sementes de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E ₂) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius in vivo</i>	122
Quadro 11B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de sementes de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E ₁) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius in vivo</i>	122
Quadro 12B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de sementes de <i>L. sativa</i> submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E ₂) do decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius in vivo</i>	123
Quadro 13B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>B. pilosa</i> submetidos à avaliação alelopática frente ao decocto das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA	Atividade Alelopática
CR	Comprimento de Raiz
CPA	Comprimento de Parte Aérea
BF	Biomassa Fresca
BS	Biomassa Seca
%G	Percentual de Germinação
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
% E	Percentual de Emergência
IVE	Índice de Velocidade de Emergência
AcOet	Acetato de Etila
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
δ	Deslocamento Químico (ppm)
HMBC	Heteronuclear Multi Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantun Coherence
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
UV	Ultravioleta

J	Constante de Acoplamento
mg	miligrama
mL	mililitro
ppm	Parte por milhão
Rf	Fator de retenção
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
λ	Comprimento de onda no máximo da absorção

RESUMO

Santos, Luciana Moreno dos, M.S., Universidade Estadual do Norte Fluminense. Fevereiro de 2009. Avaliação dos constituintes químicos polares e da atividade alelopática de *Schinus terebinthifolius* (anarcadiaceae). Orientador: Silvério de Paiva Freitas. Co-orientadora: Daniela Barros de Oliveira.

O presente trabalho visou à avaliação dos constituintes químicos polares e avaliação alelopática de *Schinus terebinthifolius*, foram analisados extratos brutos e frações obtidas. O isolamento de metabólitos secundário foi realizado através de métodos cromatográficos usuais. A elucidação estrutural foi realizada através da obtenção e interpretação de espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C a uma dimensão (1D) e duas dimensões (2D), bem como através de informações obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência e espectros na região ultravioleta e infravermelho. A avaliação alelopática se deu através de testes *in vitro* e *in vivo* utilizando como espécie indicadora *Lactuca sativa*. O melhor resultado obtido em análise preliminar foi submetido a ensaio com a espécie daninha *Bidens pilosa*. Foram realizados bioensaios de germinação e de crescimento. Para avaliação alelopática inicialmente os extratos foram avaliados quanto à atividade frente às espécies *Lactuca sativa* e *Bidens pilosa*. De todos os extratos e frações foi avaliada a concentração de 100mg/L utilizando-se água como testemunha. Do decocto foram avaliadas as concentrações de 100, 75, 50, 25 e 12,5 % tendo como dose inicial água (dose zero). As frações em acetato de etila e butanólica foram avaliadas em duas faixas de concentração discriminadas em E₁ para a avaliação das concentrações 8, 4, 3, 2 e 1 mg/L tendo como dose

inicial água (dose zero) e E₂ para as concentrações de 200, 100, 50, 25, 12,5 mg/L tendo como dose inicial água (dose zero). Nos ensaios de germinação avaliações diárias foram realizadas para determinação do índice de velocidade de germinação e percentual de germinação (*in vitro*) e índice de velocidade de emergência e percentual de emergências (*in vivo*). As medidas biométricas foram realizadas aos 10 dias para os ensaios *in vivo* e 20 dias para os ensaios *in vitro*, foram avaliados os parâmetros comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, biomassa fresca e biomassa seca. Os experimentos para avaliação *in vitro* foram conduzidos segundo delineamento experimental inteiramente casualizado, nos ensaios *in vivo* o experimento foi conduzido segundo delineamento experimental em blocos casualizados com quatro repetições. O estudo fitoquímico da fração em acetato de etila levou a purificação de seis substâncias químicas. Tais substâncias foram submetidas à cromatografia líquida de alta eficiência para avaliação da pureza das mesmas. A substância química STL-01 foi submetida a análises de ressonância magnética nuclear caracterizada como sendo ácido gálico. Os bioensaios realizados neste trabalho comprovam que os constituintes químicos polares da espécie *Schinus terebinthifolius* apresentam atividade alelopática frente às espécies *Lactuca sativa* e *Bidens pilosa*.

ABSTRACT

Santos, Luciana Moreno dos. M.S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February 2009. Evaluation of the Constituent Polar Chemicals and of the Allelopathic Activity of *Schinus terebinthifolius*. Adviser: Silvério de Paiva Freitas. Co-Adviser: Daniela Barros de Oliveira.

This study aimed to evaluate the polar chemical constituents and evaluation allelopathic of the *Schinus terebinthifolius*, were analyzed crude extracts and fractions obtained. The isolation of secondary metabolites was performed by usual chromatographic methods. The structural elucidation was accomplished through the collection and interpretation of nuclear magnetic resonance spectra of ^1H and ^{13}C with one dimension (1D) and two dimensions (2D), and through information obtained by high performance liquid chromatography and also by spectra on the infrared and ultraviolet region. The allelopathic evaluation was using the tests *in vitro* and *in vivo* with *Lactuca sativa* indicator species. The best result obtained of a preliminary study was submitted for testing with the weed species *Bidens pilosa*. Bioassays were made of germination and growth. For the initial allelopathic evaluation the extracts were evaluated for activity in the species *Lactuca sativa* and *Bidens pilosa*. All extracts and fractions were analyzed on a concentration of 100mg/L by using water as control. The decoction was evaluated on concentrations of 100, 75, 50, 25, 12.5 and 0%. The fractions of ethyl acetate and butanolic were evaluated in two ranges of concentration E_1 for the evaluation of 8, 4, 3, 2, 1 and 0 mg/L concentrations and E_2 for concentrations of 200, 100, 50, 25, 12.5 and 0 mg /L. In the germination tests were performed daily evaluations to

determine the index of speed germination and the germination percentage GSI and G% (in vitro) and the index of emergency speed and the percentage seedlings of emergence IVE% and E (*in vivo*). The biometric measures were taken to 10 days for tests in vivo and 20 days for tests in vitro, the following characteristics were evaluated: aerial shoot length, root length, aerial fresh mass and dry mass. The experiments to evaluate in vitro were distributed in a completely randomized experimental design, and the in vivo tests, in the second experiment, had a randomized complete block design with four replications. Phytochemical study of the fraction in ethyl acetate led to six-purification chemicals. These substances were subjected to high performance liquid chromatography to evaluate their purity. The chemical STL-01 was subjected to analysis of nuclear magnetic resonance and was characterized as gallic acid. The bioassays performed in this study, show that the chemical constituents of the polar species *S. terebinthifolius* have allelopathic activity in the species *Lactuca. sativa* and *Bidens. pilosa*.

1. INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas o mundo vem passando por diversas inovações tecnológicas; setores da economia mundial estão sofrendo as influências promovidas por tais conquistas incluindo a agricultura. Avanços agrícolas se deram especialmente devido às conquistas obtidas pela indústria química que permitiram um aumento na disponibilidade de agrotóxicos em regiões, em que anteriormente o seu consumo era impossibilitado por uma série de razões econômicas e políticas (Aquino et al., 2006).

O controle de espécies daninhas em culturas, de modo geral, consiste na adoção de determinadas práticas que resultam na redução da infestação por tais espécies, levando a aumento na produtividade da cultura de interesse. O aumento do número de espécies daninhas resistentes a herbicidas disponíveis no mercado tem indicado que novas estratégias de controle devem ser colocadas à disposição dos agricultores (Borges et al., 2007). Gastos acerca do controle destas espécies daninhas acarretam de 20-30% do custo de produção de uma lavoura causando diversos prejuízos. Assim, devido às necessidades, novos mecanismos efetivos de controle vêm sendo discutidos e pesquisados (Silva e Silva, 2007).

O uso de produtos químicos para o controle de plantas daninhas teve seu início pouco antes do início desse século, entretanto, somente após 1942 essa técnica atingiu desenvolvimento segundo linhas mais científicas, marcando o início do controle químico de plantas daninhas em escala comercial (Silva e Silva, 2007). Interações entre os diversos tipos de compostos sintéticos ainda são

avaliadas quanto à sua eficácia, sendo a questão ambiental uma das preocupações em relação aos efeitos provocados pela utilização de tais compostos (Santos et al., 2006).

Devido à grande preocupação com os impactos ambientais nota-se que os métodos usuais de controle de espécies daninhas não atendem mais as atuais e futuras exigências da sociedade em relação à preservação ambiental e à qualidade de vida (Souza Filho, et al., 2006a). A preocupação com o desenvolvimento de novas tecnologias tem sido um dos grandes desafios aos cientistas que conscientemente tentam desenvolver práticas alternativas para a utilização de produtos químicos que não gerem resíduos tanto nos alimentos como na própria área utilizada para o desenvolvimento da cultura, assim como nos lençóis freáticos em torno da região utilizada.

Dentre as diversas tecnologias utilizadas pode-se ressaltar a alelopatia, que tem como proposta a avaliação de substâncias fitotóxicas, denominadas aleloquímicos, que alteram o desenvolvimento das mais diversas fontes vegetais. Tais compostos naturais classificados como metabólitos secundários, apresentam poucos riscos ao ambiente e, aos interesses da sociedade (Souza Filho, et al, 2005) sendo produzidos e liberados por diversas espécies. Nesse contexto destaca-se a utilização das plantas medicinais na produção de tais substâncias, pois algumas espécies já tiveram a presença de biomoléculas comprovadas por apresentarem atividade biológica das mais diversas, dentre elas podem citar propriedades fungicidas, inseticidas e alelopáticas (Silva e Silva, 2007, Fenner et al, 2006; Chagas, 2004).

A alelopatia em sua amplitude e complexidade compreende diversas áreas do conhecimento, se inserindo em diversas ciências. Sua utilização no controle de plantas invasoras, insetos e pragas destaca-se na agronomia como alternativa. Na química como parte de uma ciência recente chamada química ecológica, desperta a curiosidade de pesquisadores com a ação de biomoléculas, ou seja, substâncias químicas naturais complexas produzidas por organismos das mais diferentes classes e espécies. Suas aplicações têm sido bastante discutidas em nível de ecossistemas naturais, sendo na última década vinculadas a periódicos das áreas de química, biologia, agronomia e ecologia, o que demonstra a necessidade de interação entre diversas áreas de pesquisa (Yunes e Calixto, 2001).

Os produtos naturais foram utilizados como precursores de diversos agroquímicos. Fontes vegetais representam um vasto reservatório de substâncias dispostas nas mais diversas concentrações que podem apresentar atividades biológicas distintas, inserindo-se nesse contexto a atividade fitotóxica. Algumas destas substâncias podem ser usadas diretamente como modelos para o desenvolvimento de novas moléculas herbicidas (Duke et al., 2002; Pires et al., 2001). Yunes e Calixto (2001) consideram que os produtos naturais são fonte atrativa de aleloquímicos, conseqüentemente considerados herbicidas naturais.

Com isso pode-se ressaltar a importância de estudos relacionados à avaliação alelopática e determinação de biomoléculas responsáveis por tal atividade não só como alternativa a utilização de herbicidas sintéticos, mas também como precursores na determinação de novas moléculas responsáveis por tal atividade. De acordo com a atividade apresentada tais moléculas poderão servir como prototípicos, através de procedimentos de modificação molecular, servindo também como base para o desenvolvimento de novas moléculas sintéticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Alelopatia

O termo "alelopatia" foi criado em 1937, pelo pesquisador alemão Hans Molisch, com a reunião das palavras gregas "*allélon*" e "*pathos*", que significam respectivamente, *mútuos* e *prejuízo*. Segundo Molisch (1937), alelopatia é a capacidade das plantas, superiores ou inferiores, produzirem substâncias químicas que, liberadas no ambiente de outras, influenciam de forma favorável ou desfavorável ao seu desenvolvimento (Goetze e Gladis, 2004; Dakshini e Einhellig, 1994).

Atualmente a Sociedade Internacional de Alelopatia tem definido a atividade alelopática como um processo envolvendo metabólitos especiais, aleloquímicos, produzidos por plantas, microorganismos, vírus e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos (Alves et al. 2003).

As interferências alelopáticas raramente são provocadas por uma única substância. Na natureza a alelopatia confunde-se algumas vezes com outras interferências existentes entre as espécies, como a competição, porém esses dois conceitos são bastante distintos. A competição se dá pela retirada ou redução de fatores ambientais, como água, luz e nutrientes, a alelopatia se caracteriza, porém pela introdução de novos fatores, os aleloquímicos, ao ambiente (Yunes e Calixto, 2001).

Presentes em diversos organismos, as substâncias alelopáticas são encontradas em maior quantidade e diversidade nas plantas. Distribuem-se por todos os seus órgãos de maneira não-uniforme, mas geralmente a concentração é maior na epiderme das folhas e nas raízes (Ferreira et al., 2001).

Segundo Silva e Silva (2007), um dos indícios para a avaliação da alelopatia está relacionado à incompatibilidade observada entre algumas espécies, que pode ser provocada pela liberação de substâncias voláteis, ou por exalação radicular de toxinas. Como exemplo, pode-se citar o girassol que é antagônico à soja, pois exala pelas raízes compostos fenólicos inibidores do crescimento da soja. A "doença da terra" que ocorre nas monoculturas decorre, entre outras causas, do acúmulo de substâncias alelopáticas no solo.

Diversos estudos têm sido realizados para a avaliação da atividade alelopática das mais diversas fontes vegetais, comparadas às espécies daninhas como alternativa à utilização de herbicidas sintéticos acarretando diminuição dos impactos ambientais causados pela aplicação dos mesmos.

A substância mimosina (β -[N-(3-hidroxi-4-oxipiridil)]- α -aminopropiônico), classificada como aminoácido não protéico (Figura 01) foi evidenciada como aleloquímico responsável pela bioatividade apresentada em estudo realizado por Pires et al. (2001). O trabalho apresenta o estudo da atividade alelopática da espécie leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) sob as espécies daninhas *Desmodium purpureum*, *Bidens pilosa*, *Amaranthus hybridus*. Embora relatos indiquem a presença de outras substâncias como quercetina, ácido gálico, os ácidos protocatequino, p-hidroxibenzóico, p-hidroxifenilacético, vanílico, ferúlico, caféico e p-cumárico no extrato aquoso das folhas de leucena, o efeito alelopático é atribuído somente à mimosina. A substância foi evidenciada como responsável pela inibição do crescimento dessas espécies, sendo destacada a importância da utilização de bioensaios em laboratório como indicador da ação de biomoléculas.

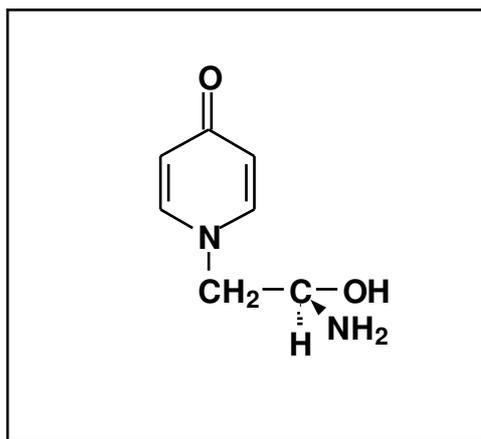


Figura 1. Estrutura molecular da substância mimosina, presente no extrato aquoso das partes aéreas (folhas e caules jovens) de leucena.

Souza Filho et al. (2005) relataram fatores negativos relacionados à utilização de herbicidas sintéticos, principalmente no que diz respeito ao comprometimento da qualidade dos recursos naturais, contaminação de animais silvestres e contaminação de alimentos da dieta humana. Ressaltam ainda a importância da investigação de plantas com atividade alelopática representando excelente oportunidade para equacionar esse problema; não só pela oportunidade de oferecer novas moléculas naturais como herbicida em potencial, como também na seleção de novas plantas forrageiras que possam compor pastagens e, assim, vir a exercer um controle de plantas invasoras.

No estudo em questão foi identificado o aleloquímico produzido pela gramínea *Brachiaria humidicola*, foram analisados os extratos, as frações e as substâncias isoladas sobre a germinação e o desenvolvimento da radícula das espécies invasoras malícia, fedegoso e mata-pasto. Todos os extratos obtidos foram submetidos a bioensaio para avaliação quanto à capacidade de inibir a germinação da espécie daninha *Mimosa pudica* (malícia). Por apresentar melhor resultado frente ao bioensaio o extrato hidrometanólico foi escolhido para fracionamento. Por apresentarem comportamento cromatográfico semelhante às frações em diclorometano e acetato de etila foram reunidas e submetidas à cromatografia líquida a vácuo, seguido de sucessivos fracionamentos cromatográficos em coluna e, em placas preparativas, até purificação do ácido *p*-cumárico (Figura 02). Os efeitos alelopáticos estiveram diretamente relacionados

à concentração deste ácido que é característico da espécie analisada, e foi responsável pela resposta alelopática apresentada (Souza Filho et al., 2005).

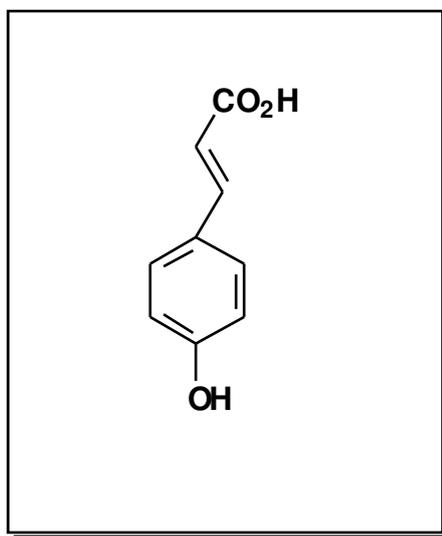


Figura 2. Estrutura química do ácido *p*-cumárico, aleloquímico isolado da *Poaceae Brachiaria humidicola*.

O monitoramento de fitoquímicos com propriedades potencialmente tóxicas pode ser avaliado por alterações fisiológicas em organismos testes. Souza et al. (2005) relataram que sementes de alface e tomate foram, por serem consideradas sensíveis a alterações, escolhidas como bioindicadoras de aleloquímicos. Neste estudo os autores ressaltam que alguns compostos apresentaram atividade alelopática em altas concentrações, porém em concentrações mais baixas podem não estimular o mesmo processo. Na avaliação da atividade alelopática e do extrato aquoso da espinheira – santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss) foi identificada a presença de três classes de metabólitos secundários através de testes simples: saponinas, taninos e flavonóides (flavonas). O extrato analisado foi o aquoso, apresentando efeito alelopático sobre sementes de alface que foram relacionadas à presença das classes de biocompostos identificados; embora não tenha sido realizado neste estudo o fracionamento fitoquímico.

A alelopatia é um dos aspectos menos estudados no cerrado; de acordo com Silva et al. (2006), o potencial alelopático de espécies arbóreas deve ser investigado. Considerando a importância da biodiversidade vegetal e animal

presente nesse ecossistema, foram avaliadas 15 espécies arbóreas que apresentaram maior frequência de área; tendo sido denominadas como de maior índice de valor e importância (IVI). Os autores ressaltaram a importância da investigação acerca da atividade alelopática apresentada por essas espécies para futuros trabalhos de recuperação de áreas degradadas, devido à possível interferência dos aleloquímicos produzidos pelas espécies. Das espécies investigadas apenas quatro apresentaram efeitos inibitórios na germinação: *Ouratea spectabilis*, *Pouteria ramiflora*, *Qualea grandiflora* e *Stryphnodendron adstringenes*; podendo assim interferir no processo de recuperação de áreas devastadas, foi ressaltada a importância de estudos fitoquímicos para a posterior identificação dos aleloquímicos responsáveis pela atividade apresentada.

Agentes químicos produzidos em algumas plantas podem provocar alterações no desenvolvimento de outras plantas ou até mesmo de outros organismos. Segundo Iganci et al. 2006, o uso de ensaios biológicos para a avaliação da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados em plantas tem sido frequentemente incorporado à identificação de substâncias potencialmente tóxicas. Estudos referentes ao efeito de aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento de plantas são manifestações secundárias de processos ocorridos em níveis molecular e celular inicialmente, porém a maioria dos estudos se refere apenas a esses parâmetros sem considerar os efeitos celulares relacionados a mudanças fisiológicas e genéticas. No estudo realizado avaliou-se o efeito do extrato aquoso de três diferentes espécies de boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus* - Lamiaceae), o boldo-miúdo (*Plectranthus amboinicus* - Lamiaceae) e o boldo-baiano (*Vernonia condensata* - Asteraceae), sobre a germinação e *Allium cepa*. A fitotoxicidade foi avaliada através do índice mitótico contado através da técnica de varredura. Os bioensaios realizados revelaram que os extratos vegetais interferiram sobre a germinação e sobre a divisão celular em células meristemáticas; revelaram ainda que sementes expostas ao extrato de *Vernonia condensata* apresentaram as maiores divergências em relação ao grupo controle.

Considerando que na região do Vale do Rio Pardo (RS) é freqüente o cultivo de hortaliças próximo a lavouras de tabaco, e áreas reflorestadas com eucalipto, o estudo de possíveis interações alelopáticas é de grande valia para os produtores dessa região. Goetze e Thomé (2004) avaliaram o efeito alelopático de

extratos de *Nicotina tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação inicial de três espécies de hortaliças (alface, brócolis e repolho). Foram avaliados os extratos a partir de folhas secas e frescas; os extratos de folhas secas foram os que apresentaram alterações mais drásticas sobre as sementes analisadas. As hortaliças testadas sofreram interferência alelopática em relação à velocidade de germinação, o comprimento das partes aéreas e o comprimento da raiz foram afetados em todos os tratamentos se comparados à testemunha. Todas as hortaliças apresentaram biomassa fresca final afetada por extratos de tabaco. A quantidade total de sementes germinadas foi afetada em todos os tratamentos.

Os resultados como os apresentados nesse trabalho são de suma importância para se estabelecer relação entre as espécies cultivadas, alertando pequenos produtores quanto aos problemas oriundos de interações alelopáticas, além de validarem e ressaltarem a importância da avaliação de interações alelopáticas das mais diversas espécies.

A importância da pesquisa com plantas medicinais é indicada no trabalho realizado por Olguin et al., 2006. Pesquisas dessa ordem geralmente são iniciadas com a investigação de seu potencial biológico, citando a avaliação do potencial biológico alelopático como extremamente relevante para determinação de substâncias bioativas. *Vernonia tweediana* Baker é uma planta considerada resistente, provavelmente devido à presença de substâncias alelopáticas. Seu potencial biológico alelopático foi avaliado a partir dos extratos de suas raízes. Os extratos avaliados indicaram a presença de substâncias alelopáticas nos extratos hexânicos e em acetato de etila; a presença de substâncias sesquiterpênicas e flavonóides foi citada como aleloquímicos responsáveis pela atividade apresentada.

2.2. Aleloquímicos

Os aleloquímicos são definidos como substâncias que liberadas por organismos vegetais provocam mudança fisiológica ou comportamental em outro organismo, sendo denominado semioquímico. Estas substâncias podem ter ação intra-específica (feromônios) ou interespecíficas (aleloquímicos) (Ferreira et al., 2001).

Os aleloquímicos podem ser classificados em: cariomônios, alomônios sinomônios de acordo com o tipo de sinal químico liberado e com os efeitos apresentados em relação a outras espécies. Os cariomônios apresentam sinais químicos que quando liberados beneficiam apenas o agente receptor; os alomônios apresentam sinais químicos que favorecem apenas o agente emissor e os sinomônios apresentam sinais químicos que favorecem tanto o agente receptor como o agente emissor (Ferreira et al., 2001).

As plantas produzem e estocam grande quantidade de produtos do metabolismo secundário nas suas diversas partes (folhas, caules, raízes, flores e sementes), que são posteriormente liberados para o ambiente (Yunes e Calixto, 2001).

Ao longo da evolução, as fontes vegetais desenvolveram algumas vantagens em relação à ação de microorganismos, vírus, insetos, e outros patógenos e predadores, seja inibido por sua atividade, como agente de defesa para combate de organismos patogênicos, insetos e herbívoros predadores; ou atuando como agentes de competição para modificação do comportamento germinativo e do crescimento de espécies vegetais estranhas (Silva e Silva, 2007), o que evidencia sua possível utilização como agente alelopático.

Atualmente são conhecidos cerca de 10 mil metabólitos secundários com ação alelopática, o que é considerado um pequeno número frente à biodiversidade existente na natureza; até o momento estudos realizados se detêm somente à identificação dos componentes principais em cada classe estrutural e em algumas espécies (Yunes e Calixto, 2001); o que desperta a atenção de pesquisadores tornando novos estudos referentes a esse tipo de pesquisa relevante e necessário para o descobrimento de novos aleloquímicos em potencial.

As substâncias biossintetizadas a partir do metabolismo secundário de plantas são classificadas em diferentes grupos quanto à estrutura química e às propriedades físico-químicas apresentadas. Das classes de metabólitos conhecidos, grande parte apresenta atividade alelopática, assim se destacam os efeitos das fitoalexinas; flavonóides, isoflavonóides, chalconas, auronas e xantinas; flavonas, flavonóis e glicosídeos gerados; ligninas; monoterpenos e monoterpenóides; naftoquinonas, antraquinonas, estilbenos e fenantrenos; poliacetilênicos, policetonas, saponinas, sesquiterpenos e sesquiterpenóides,

taninos, triterpenos e trieterpenóides (Silva e Silva, 2007). Entretanto, a classe de metabólitos a qual a atividade alelopática tem sido evidenciada refere-se principalmente a terpenos, alcalóides e compostos fenólicos, sendo citada ainda a atividade de alguns esteróides, ácidos graxos de cadeia longa e lactonas insaturadas (Yunes e Calixto, 2001); quanto aos aleloquímicos voláteis a maioria é composta de terpenóides, destacando-se os monoterpenos e sesquiterpenos (Silva e Silva, 2007).

Algumas classes do metabolismo secundário de plantas, ainda não foram efetivamente avaliadas quanto à atividade alelopática, embora suas características químicas, e a presença de diversas classes substâncias em seus extratos, possam atuar de forma sinérgica (Souza Filho, 2006a).

Compostos fenólicos atuam como agentes de defesa e ainda como agentes de competição para modificação do comportamento germinativo e do crescimento de espécies vegetais estranhas (Souza et al., 2005); concentra-se, principalmente, na parte aérea das plantas, ocorrendo em menor concentração nas raízes e nos rizomas. Apresentam como principais funções biológicas a atração de insetos polinizadores e proteção contra nocivos, reações contra infecções virais e fúngicas (fitoalexinas), colaboração com os hormônios no processo de crescimento, inibição de ações enzimáticas e participação no sistema redox das células (Martins et al., 2003).

Embora a utilização de tais compostos na medicina seja bem expressiva, sua atividade alelopática ainda não é muito explorada (Souza, et al., 2005), principalmente se detendo a relações estrutura x atividade.

Estudos realizados com os flavonóides canferol e quercetina (Figura 03) isolados a partir das folhas de *Gleiquenya pectinata* indicaram a atividade alelopática dessa classe de compostos. As análises dos testes de germinação indicaram que a quercetina estimulou a germinação em 45%, ao passo que o canferol apresentou maior inibição da germinação, porém a mistura dos flavonóides estimulou a germinação em cerca de 104% (Yunes e Calixto, 2001).

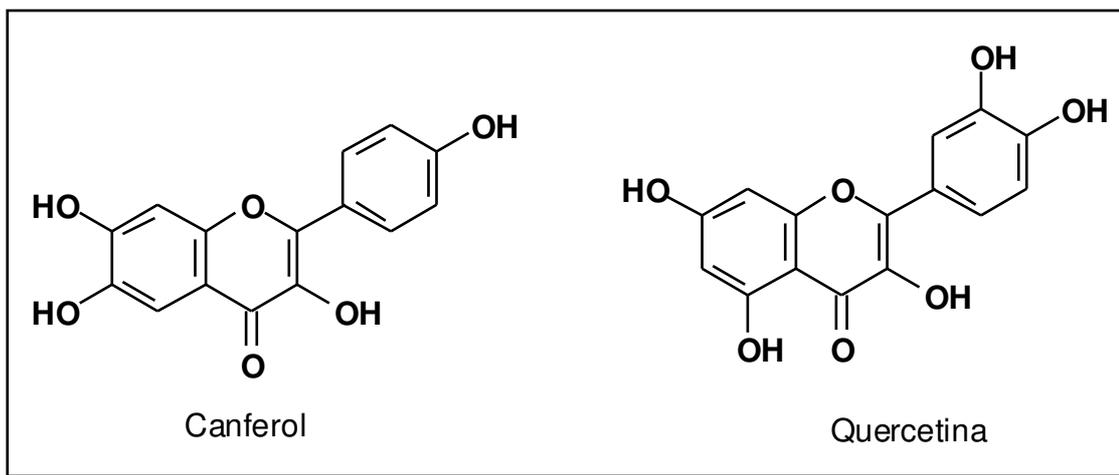


Figura 3. Flavonóides com atividade alelopática.

A composição e a concentração dessas substâncias dependem de fatores ambientais. Todavia podem ser liberadas para o ambiente quando lavados das folhas verdes, lixiviados de folhas secas, volatilizado das folhas, exudados das raízes, ou liberados durante a decomposição de restos de plantas. Mesmo flores e frutos podem ser fontes de fitoalexinas alelopáticas, em alguns casos as substâncias não são fitotóxicas até terem sido alteradas pelo próprio ambiente, seja por degradação química normal ou pela ação de microorganismos (Goetze e Thomé, 2004); podendo ser absorvidos diretamente pela cutícula das plantas vizinhas por meio dos próprios vapores, ou condensados no orvalho, e ainda alcançar o solo, onde são absorvidos pelas raízes (Silva e Silva, 2007).

O efeito de um aleloquímico depende da sua concentração e da quantidade total de fitotoxina disponível para absorção, pois, semelhante ao que acontece com os nutrientes, as plantas competem pelas toxinas disponíveis. Os estudos relacionados ao modo de ação apresentado por aleloquímicos são muito limitados devido à dificuldade de se distinguir, se o efeito é realmente relacionado à atividade da substância aleloquímica em potencial, ou de condições adversas, que podem ser ocasionados por uma série de fatores ambientais como, a falta de luz, água, nutrientes necessários, ou problemas relacionados ao solo (Silva e Silva, 2007).

A forma de atuação dos aleloquímicos também não é específica, pois uma vez liberados ao ambiente pelas espécies doadoras, aleloquímicos entram em contato com a espécie receptora através de um mecanismo muito sutil, e difícil de

ser determinado com precisão, devido aos sintomas produzidos pelas plantas (Yunes e Calixto, 2001). Reconhece-se que os aleloquímicos podem alterar basicamente a assimilação de nutrientes, a regulação do crescimento, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteínas, a permeabilidade da membrana celular e a atividade enzimática (Silva e Silva, 2007; Yunes e Calixto, 2001).

Porém, a presença de determinados aleloquímicos em alguns extratos pode ser feita através de testes simples que indicam apenas a presença das diversas classes de metabólitos, sendo esta técnica mais utilizada nos trabalhos que visam apenas à relação entre espécie e a classe de compostos responsável pela atividade alelopática, não se importando com a substância química responsável pela atividade (Chagas, 2004; Souza et al., 2005).

Atualmente, o interesse pela substância responsável pela atividade alelopática (aleloquímico) tem sido evidenciada em diversos grupos de pesquisa; como se pode destacar nos trabalhos desenvolvidos por Souza Filho e colaboradores (2006a), que avaliaram a atividade alelopática dos extratos, e das frações, que a partir de técnicas laboratoriais foi possível elucidar as substâncias presentes no óleo essencial das folhas de *Myrcia guianensis*.

Em estudo relacionado à espécie *Virola surinensis*, Borges et al. (2007) também se atentaram à avaliação da atividade alelopática não apenas do extrato hexânico, seguido de solubilização em solução hidrometanólica de suas folhas secas, como também à avaliação das substâncias isoladas. O fracionamento fitoquímico se deu através de técnicas cromatográficas usuais, permitindo o isolamento de duas neolignananas identificadas como surinamerina e virolina (Figura 04), que tiveram sua atividade alelopática comprovada.

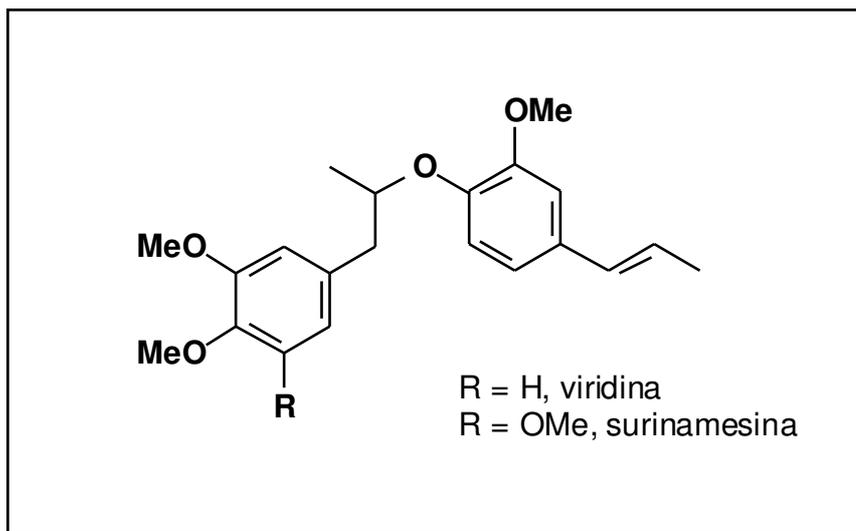


Figura 4. Estruturas químicas de neolignanas, aleloquímicos isolados de *V. surinamensis*.

Para esse trabalho de dissertação de mestrado foi selecionada a espécie vegetal *Schinus terebinthifolius* (conhecida populamente como aroeira) por ser uma planta endêmica da região de Campos dos Goytacazes, (Carvalho et al., 2006; Asumpção e Nascimento, 2000). Além disso, observa-se que ao redor da espécie *S. terebinthifolius* há indícios de pouca vegetação rasteira ou invasora, o que evidencia a possível atividade de aleloquímicos presentes na espécie. Outro fato relevante ao estudo de sua atividade alelopática se dá à sua descrição como planta invasora em áreas de pastagens (Santos et al., 2006), o que poderá vir a colaborar no controle de infestações ocasionadas pela espécie e também no controle de espécies daninhas das mais diversas.

2.3. Considerações botânicas

A família Anarcadiaceae é uma família botânica representada por 70 gêneros e cerca de 600 espécies de árvores ou arbustos, conhecidas por serem frutíferas e apresentarem madeira de boa qualidade (Ceruks et al., 2007), sendo que no Brasil dados afirmam a existência de cerca de 15 gêneros e 70 espécies (Souza e Lorenzi, 2005). É classificada como dicotiledônea pertencente à ordem das *Sapindales* e à subclasse *Rosidae*; suas espécies são amplamente

distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e poucas regiões de clima temperado (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002).

Essa família botânica inclui árvores, arbustos, lianas e raramente ervas pereniais. O gênero *Schinus* destaca-se como um dos principais gêneros dessa família no Brasil, pois são produtoras de frutos apreciados em todo mundo, além de representarem importantes fontes de madeira (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002).

A família anarcadiaceae é quimicamente caracterizada pela presença de compostos fenólicos incluindo flavonóides (Schimidth *et al*, 1998); sendo o ácido anarcádico ($C_{22}H_{32}O_3$) (Figura 05), normalmente presente nos frutos, o que torna a presença dessa substância uma característica das espécies dessa família (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002).

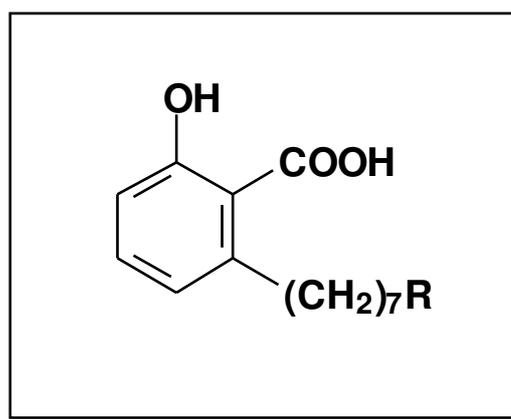


Figura 5. Ácido anarcádico.

Dentre os efeitos toxicológicos apresentados por espécies dessa família se pode destacar a espécie *S. terebinthifolius* por possuir vários efeitos tóxicos devido à presença de alquil-fenóis, substâncias causadoras de dermatite alérgica em algumas pessoas, cujo efeito é potencializado quando utilizada por longo período de tempo (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002; Lorenzi e Matos, 2002).

Dependendo do ambiente *S. terebinthifolius* apresenta-se como arbusto ou árvore (Lenzi e Orth, 2004). Sendo citada ainda como árvore mediana característica de restinga (Assumpção e Nascimento, 2000); perinifólica, dióica, de copa larga. Seu tronco varia de 30-60 cm de diâmetro, revestido de casca

grossa. Suas folhas apresentam-se compostas imparipinadas, apresentando de 3 a 10 pares de folíolos aromáticos, medindo de 3 a 5 cm de comprimento por 2 a 3 de largura. Apresenta flores masculinas e femininas muito pequenas dispostas em panículas piramidais. Seu fruto do tipo drupa, globóide, com cerca de 5 cm de diâmetro, aromático e adocicado, brilhante de cor vermelha, confere à planta, na época de frutificação um aspecto festivo, é muitas vezes utilizada como ornamental (Figura 06) (Lorenzi e Matos, 2002).



Figura 6. *Schinus terebinthifolius*.

Esta espécie vegetal possui inúmeras potencialidades medicinais, atualmente a espécie vem se destacando cada vez mais pelo consumo de seus frutos (pimenta-rosa), cuja demanda tem aumentado muito, tanto no mercado nacional como internacional, que os utiliza como condimento alimentar (Lenzi e Orth, 2004).

Sua ocorrência se dá em todo centro-oeste e sudeste do Brasil, sendo comumente encontrada no interior da mata atlântica (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002), é nativa do Brasil apresentando ampla distribuição geográfica e grande plasticidade ecológica (Lenzi e Orth, 2004), podendo ser encontrada também ao longo do litoral desde o sul até o nordeste do Brasil (Viana, *et al.*, 1995).

É conhecida popularmente na região da Mata Atlântica como aroeira, apresentando ainda outros nomes populares como aguaríba, aroeira-branca,

aroeira-de-praia, aroeira-do-brejo, aroeira-mansa, aroeira-negra entre outros. De acordo com sua ocorrência pode apresentar seu nome associado ao lugar de origem como aroeira-do-paraná (Lorenzi e Matos, 2002; Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002, Viana et al., 1995). Conhecida ainda como aroeira-vermelha, aroeira-pimenta e pimenta brasileira; essa variação dos nomes se dá principalmente, pelo fato de seus frutos apresentarem a aparência de uma pequena pimenta de coloração rosa-avermelhada, por isso conhecida mundialmente como pimenta-rosa (Lenzi e Orth, 2004).

Estudos citam a espécie *S. terebinthifolius* como erva daninha agressiva, que vem ameaçando a biodiversidade de alguns estados americanos; relatam ainda que a mesma venha deslocando espécies nativas de parques e áreas selvagens reduzindo a diversidade biológica de plantas e animais (Medal et al., 1998).

Sua utilização na ornamentação levou à sua disseminação, porém sua infestação é preocupante nos estados americanos da Flórida e do Hawái. Relatos indicam que mais de 280.000 ha do sul da Flórida estejam infestados por *S. terebinthifolius*. Devido ao prejuízo causado em relação às espécies nativas, diversos estudos vêm sendo conduzidos para melhor entendimento em relação à espécie *S. terebinthifolius* e às demais espécies presentes na região (Ewe e Sternberg, 2003; Wheeler et al., 2001).

2.4. Constituintes isolados de espécies classificadas popularmente como aroeira

Relatos sobre a utilização da aroeira despertaram a atenção de pesquisadores e tais espécies vêm sendo utilizadas como alvos de diversos estudos dos mais diversos âmbitos científicos em busca de informações etnobotânicas e etnofarmacológicas que permitiram a identificação de oito espécies de Anarcadiaceae da flora brasileira.

No nordeste *Myracrodunon urundeuva* Fr. All. (aroeira-do-sertão), é alvo de estudos acerca de sua grande utilização, sendo citada como espécie imprescindível, e de grande valia no auxílio ao combate de diversas enfermidades. Outras espécies citadas foram *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Schinus mole* (aroeira-falsa; aroeira-mole) *Schinus lenticifolius* (aroeira-do-Rio-

Grande), *Lithraea molleoides* (aroeira-branca); *Lithraea brasiliensis* March (aroeira-de-bugre); *Schinus weinmaniaefolius* (aroeira-do-campo), *Astronium graveolens* (aroeira-mole) (Viana et al., 1995).

Diversas substâncias já foram isoladas de espécies denominadas popularmente aroeira. Da espécie *Myracrodunon urundeuva* foram isolados os esqueletos flavonoídicos underuvina A e underuvina B (Figura 07) (Viana et al., 1995). A obtenção dos constituintes químicos voláteis das folhas da aroeira-do-sertão (*M. urundeuva*) não apresentou bom rendimento por araste a vapor d'água, porém uma análise através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas permitiu a identificação de 16 constituintes voláteis conforme apresentado na Figura 08 (Viana et al., 1995).

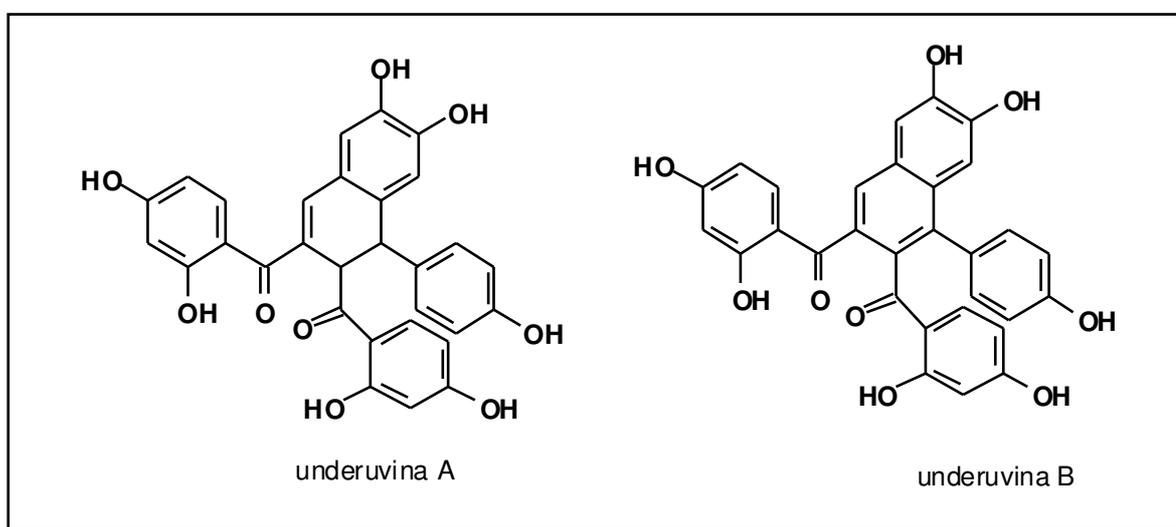


Figura 7. Substâncias isoladas de *Myracrodunon urundeuva* (aroeira-do-sertão).

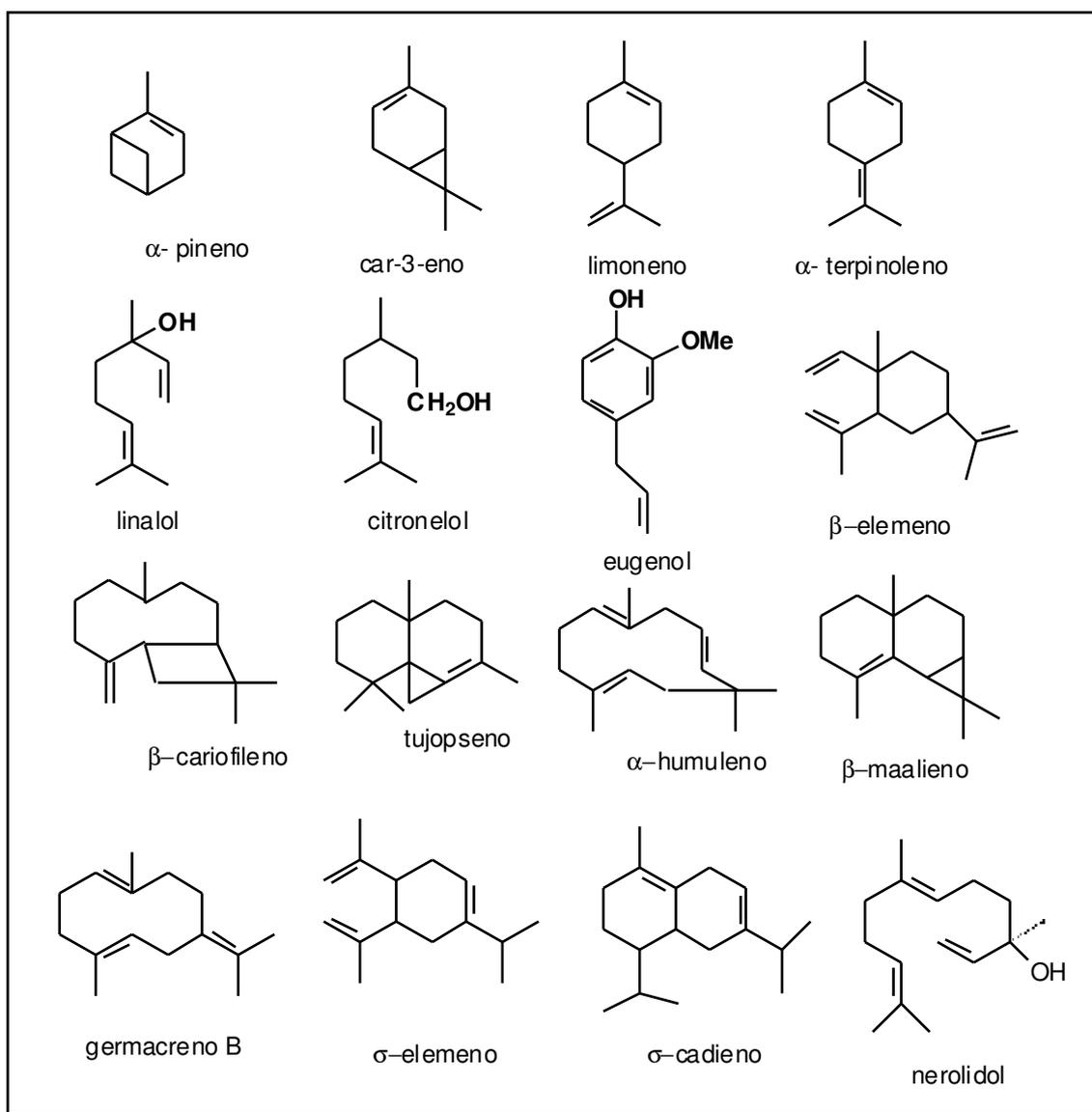


Figura 8. Óleos voláteis identificados na espécie *Myracrodruon urundeuva* (aroeira-do-sertão).

Estudos relacionados à constituição química da espécie *Schinus molle L.* permitiram isolar um flavonóide (quercetina), um esteróide (α -amirina), um ácido (ácido 3-epiisomasticadienólico) e um éster [(13 α ,14 β ,17 α ,20S,24Z)-3-oxanosta-8,24-dien-26-metil-éster] (Figura 09); quanto à espécie *S. lencifolius*, estudos indicaram a presença de flavonóides evidenciado pela caracterização da quercetina (Figura 09) além do ácido gálico (Figura 10) (Viana, et al.,1995).

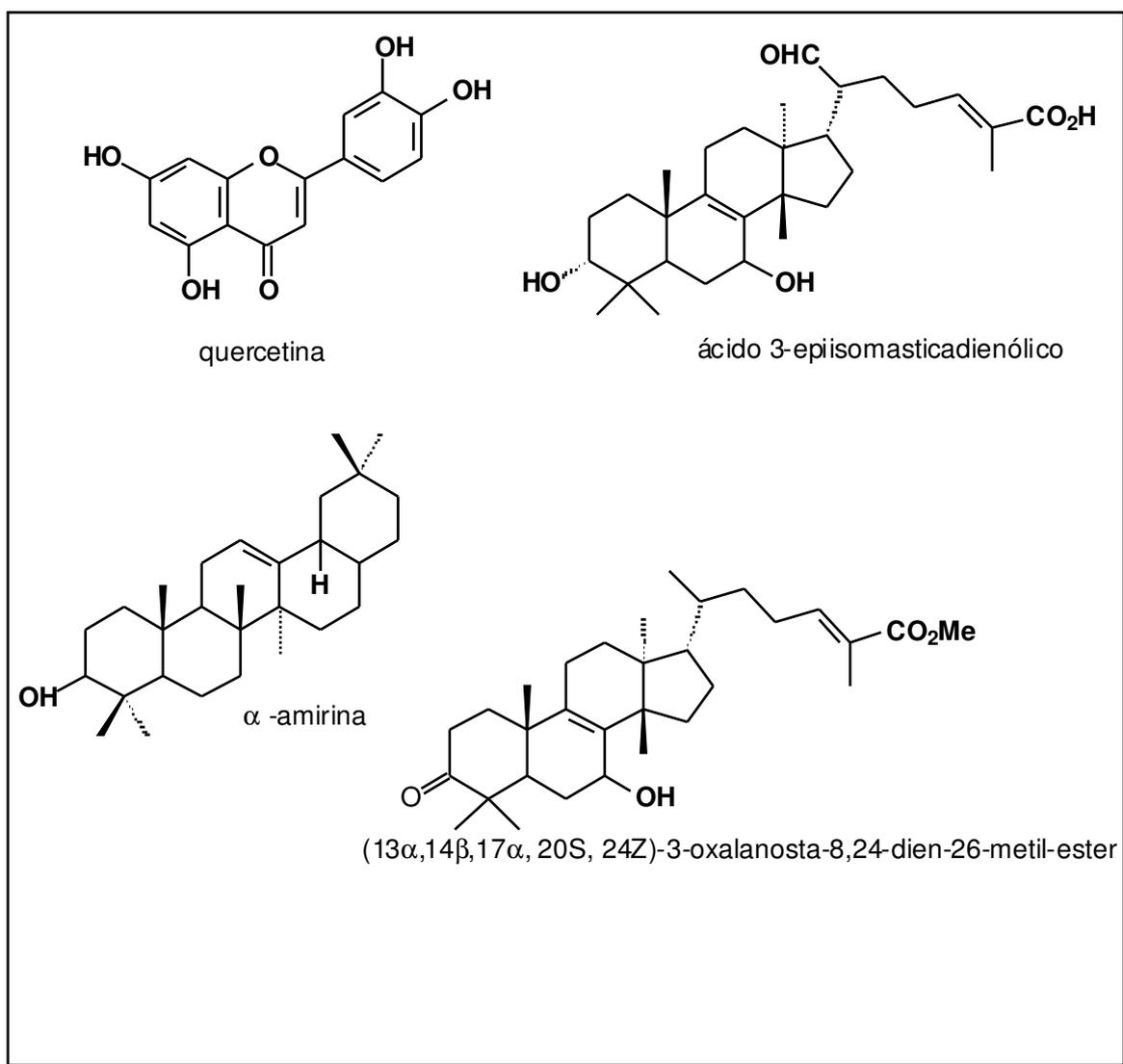


Figura 9. Substâncias isoladas de *Schinus molle* L.

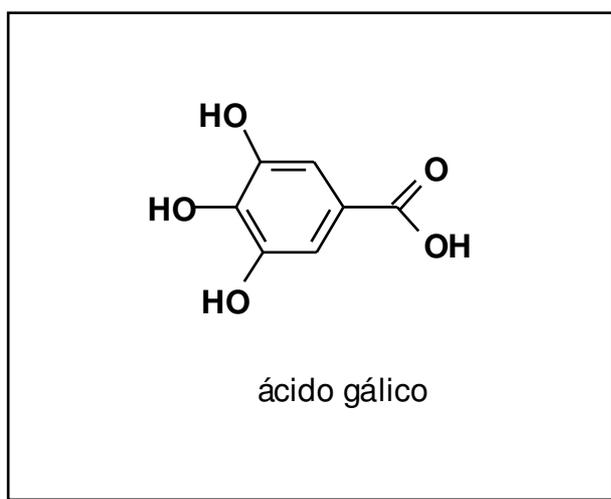


Figura 10. Substâncias isoladas de *S. lencifolius*.

2.5. Constituintes isolados da espécie *S. terebinthifolius*

Estudos anteriores com a espécie *S. terebinthifolius* relataram sua ampla utilização na medicina popular (Lorenzi e Matos, 2002; Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002), o que indica a presença de biomoléculas que poderão vir a ser avaliadas quanto à atividade fitotóxica apresentada (Duke et al., 2002).

Segundo Lorenzi e Matos (2002), resultados de sua análise fitoquímica registraram a presença de alto teor de taninos, biflavonóides e ácidos triterpênicos; em sua casca e até 5% de óleo essencial é formado por mono e sesquiterpenos nos frutos e nas folhas.

Ceruks e colaboradores em 2007 indicaram a presença de terpenos, terpenóides, ácidos graxos e constituintes fenólicos a partir das folhas de *S. terebinthifolius*. Um estudo bioguiado por ensaio de detecção radicalar, conduziu o isolamento das substâncias: galato de etila e galato de metila, além dos flavonóides miricetrina, quercitrina e miricetina (Figura 11) relatadas pelos autores como substâncias citadas pela primeira vez no gênero.

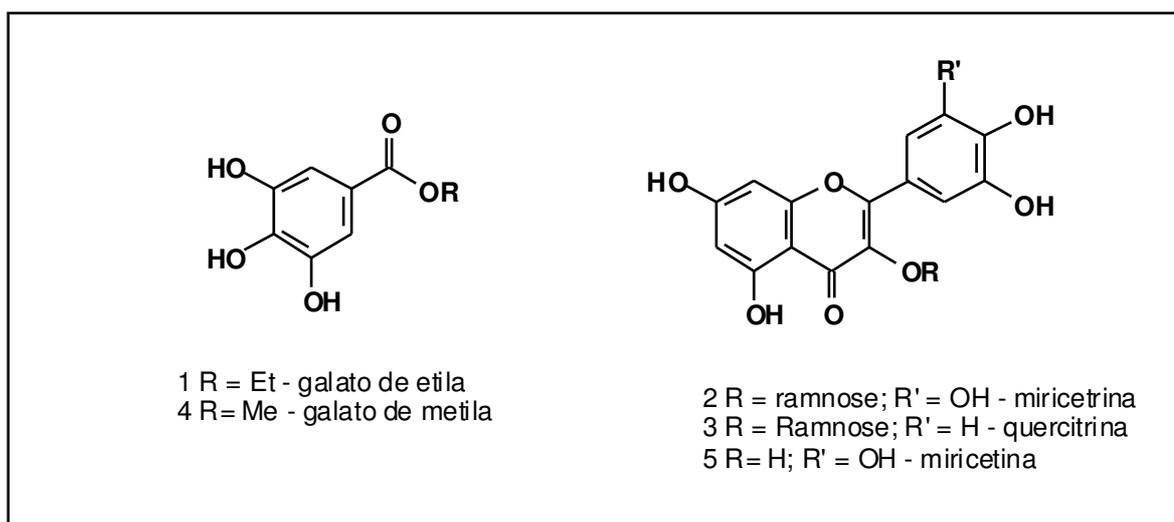


Figura 11. Compostos fenólicos isolados de *S. terebinthifolius*

A partir do estudo do extrato metanólico das folhas de *S. terebinthifolius*, Viana, et al. (1995) relataram a detecção dos flavonóides amentoflavona, tetrahydroamentoflavona, 2,3-dihydroamentoflavona, dos esteróides schinol, simiarinol e β -sitosterol, além do ácido masticadienólico e do álcool de cadeia longa cardanol (Figura 12).

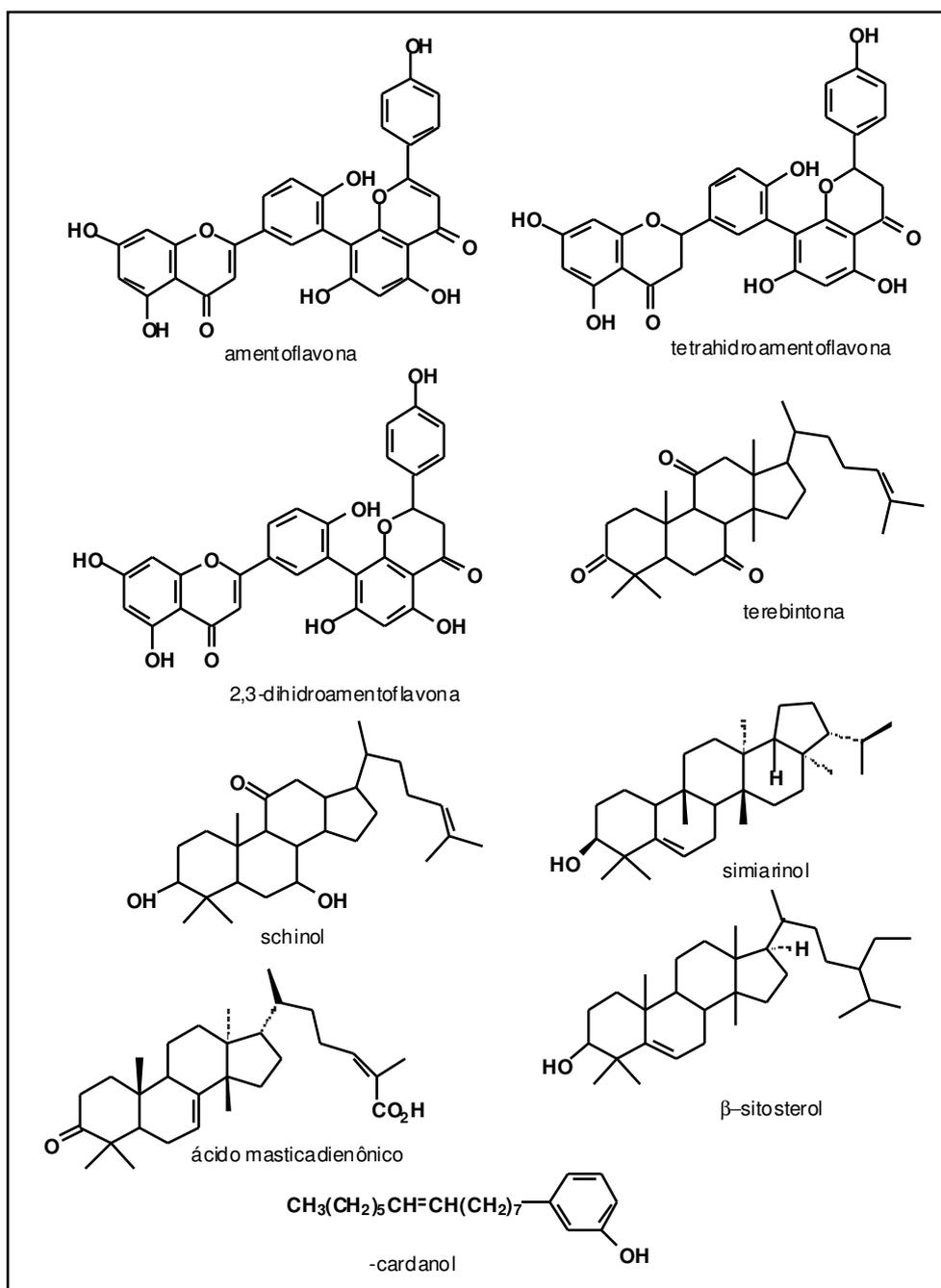


Figura 12. Constituintes químicos isolados de *S. terebinthifolius*.

Estudos realizados a partir dos frutos de *S. terebinthifolius* indicaram baixo teor de compostos fenólicos em comparação a outros vegetais já estudados. A partir do extrato alcoólico foi possível se detectar a concentração significativa da flavona apigenina e do ácido elágico. Todavia, o extrato aquoso forneceu pequena proporção da flavonona narigenina (Figura 13) (Degáspari et al., 2005).

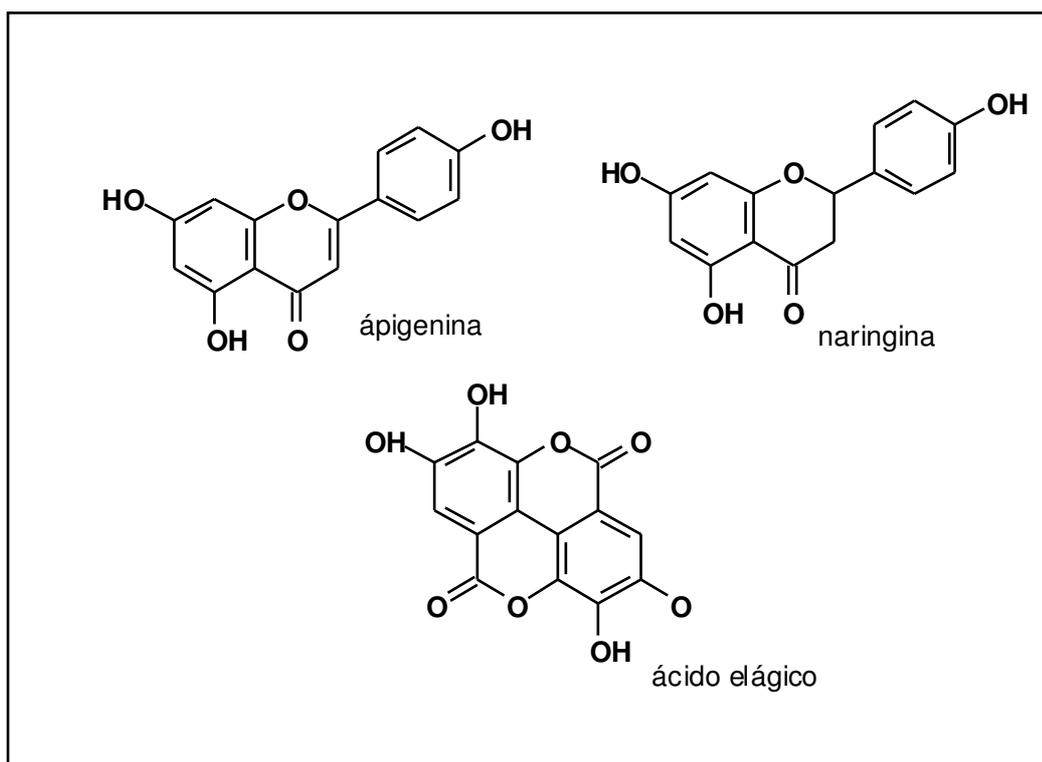


Figura 13. Substâncias isoladas dos frutos de *S. terebinthifolius*.

2.6. Atividades biológicas descritas

Por ser uma planta medicinal muito utilizada e citada dentre as populações por suas propriedades medicinais, *S. terebinthifolius* tem sido alvo de diversos estudos acerca de sua atividade biológica (Lorenzi e Matos, 2002).

É utilizada popularmente no auxílio ao combate a diversas enfermidades. Suas cascas apresentam atividades depurativas e febrífugas, sendo também utilizada contra afecções uterinas; as suas folhas são anti-reumáticas, consideradas excelentes para tratar úlceras e feridas. Apresenta ainda outras indicações medicinais como diurético, tônico, estimulante, analgésico e adstringente (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002).

O crescente interesse da comunidade científica pela fitoterapia nas últimas décadas levou ao desenvolvimento de várias pesquisas baseadas em relatos etnobotânicos.

Estudos científicos do extrato hidroalcoólico e aquoso da entrecasca procuraram comprovar os efeitos adstringentes, antimicrobiano, *in vitro*, antiinflamatório e cicatrizante que a ela são atribuídos. O macerado de suas folhas em aguardente é utilizado como cicatrizante, analgésico e contra coceiras.

A infusão de suas folhas frescas é utilizada contra reumatismo e a mastigação das folhas frescas, como cicatrizante e contra gengivites (Di Stasi e Hiruna-Lima, 2002).

A atividade antimicrobiana de *S. terebinthifolius* vem despertando a atenção, diversos estudos foram realizados por diferentes grupos de pesquisa, sob as mais diferentes ópticas. Em estudo realizado por Lima e colaboradores (2006), 25 fontes vegetais medicinais foram avaliadas quanto às cepas do microorganismo *Staphylococcus aureus*. A espécie *S. terebinthifolius* foi aquela que se destacou por apresentar melhor resultado.

No ano de 1999 foi lançado no Brasil o produto farmacêutico contendo gel de aroeira, sendo *S. terebinthifolius* uma planta já amplamente utilizada no nordeste no tratamento de diversas infecções. Sua utilização no tratamento da vaginose bacteriana apresentou taxa de cura de 84% para o grupo dos utilizadores do gel de aroeira contra 47,8% contra o grupo do placebo. Efeitos adversos à sua utilização não foram observados, sendo o gel vaginal de aroeira considerado efetivo e seguro para o tratamento da vaginose bacteriana, sugerindo-se, além disso, efeitos benéficos na flora vaginal (Amorim e Santos, 2003).

Degaspari et al. (2005) avaliaram em seu trabalho a atividade antimicrobiana de extratos aquoso e alcoólico obtidos de frutos de *S. terebinthifolius*. Segundo os autores, relatos indicam a presença de fitoalexinas fenólicas, como substâncias que apresentam atividade antimicrobiana natural. Em seu trabalho foram identificadas três substâncias (figura 12). O extrato alcoólico dos frutos de *S. terebinthifolius* apresentou atividade em relação a *Staphylococcus aureus* e a *Bacillus cereus*, relacionado à presença da flavona apigenina e do ácido elágico (tanino). O extrato aquoso não apresentou atividade microbiana.

Estudos mais elaborados testaram o extrato etanólico de *S. terebinthifolius* em ratos; apresentando boa atividade curativa em feridas (Júnior et al., 2002). A atividade antifúngica apresentada por *S. terebinthifolius* e *S. molle* foi avaliada em estudo realizado com diversas espécies onde as mesmas apresentaram promissora atividade contra *Cândida albicans* (Schmourlo et al, 2004).

A atividade apresentada por *S. terebinthifolius* nos mais diversos casos, desperta cada vez mais a atenção de pesquisadores acerca das inúmeras propostas de utilização para espécies do gênero *Schinus*.

A alelopatia insere-se como um importante passo para determinação de novos compostos bioativos. Bioensaios levam a indicação de biomoléculas que poderão levar ao desenvolvimento de práticas alternativas à utilização de herbicidas ou até mesmo servir como protótipos na busca por novos esqueletos para a indústria agroquímica.

A atividade alelopática de *Schinus terebinthifolius* já vem despertando o interesse de pesquisadores; um estudo recente realizado em Mossoró (RN) avaliou a atividade alelopática de *S. terebinthifolius* sobre alface (Souza et al., 2007). No trabalho o extrato aquoso foi preparado a partir das folhas frescas na concentração de 20% (p/v), e foram avaliados os extratos fervido e não fervido sob a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação e a primeira contagem. Os resultados indicaram que extratos a partir das folhas de *S. terebinthifolius* interferiram na germinação da alface, não apresentando diferença entre os resultados obtidos pelos extratos fervido e não fervido.

2.7. Bioensaios alelopáticos

A espécie *Lactuca sativa* é considerada bioindicadora de atividade alelopática devido à grande sensibilidade, apresentar germinação rápida e uniforme, e ao grau de sensibilidade que permite expressar os resultados sob baixas concentrações de substâncias alelopáticas (Alves et al., 2004), sendo por isso escolhida como espécie a ser submetida à avaliação alelopática em grande parte dos estudos realizados.

As avaliações através de bioensaios alelopáticos das mais diversas espécies acompanham a resposta biológica durante as fases de extração, fracionamento, purificação e identificação dos compostos bioativos. Muitas pesquisas realizadas em laboratórios e em casa-de-vegetação têm relatado o potencial alelopático de diversas famílias de vegetais, utilizando ensaios de germinação e crescimento de espécies alvo, embora ainda se busque um padrão para a realização de bioensaios alelopáticos. Avaliações em casa-de-vegetação são importantes para melhor avaliação das interações entre a planta e o ambiente

em que vivem. Em tais ensaios deve-se priorizar a utilização de substratos esterilizados, para minimizar interferências do ambiente durante a realização do ensaio. A germinação é acompanhada pela emergência da plântula na superfície do substrato. Massa seca e comprimento das plântulas são os parâmetros mais utilizados para se avaliar o efeito alelopático sobre o crescimento (Ferreira e Áquila, 2000).

Os bioensaios mais utilizados são o de inibição, ou, algumas vezes, a estimulação da germinação de sementes, porém bioensaios de crescimento e desenvolvimento também são utilizados para a avaliação da atividade alelopática (Yunes e Calixto, 2001).

Em diversos trabalhos enfocando a avaliação da atividade alelopática são utilizados extratos aquosos (Souza et al., 2005; Iganci et al., 2006; Souza et al., 2007); porém, em alguns casos extratos metanólicos, etanólicos e hidroalcoólicos têm sido também avaliados (Souza Filho et al., 2006b; Santos et al., 2006; Borges et al., 2007). Segundo Yunes e Calixto (2001), quando se têm indícios de que uma planta possui atividade alelopática, a técnica preliminar envolve o preparo de extratos aquosos ou hidroalcoólicos da parte da planta na qual se pretende desenvolver o estudo.

Substâncias químicas consideradas mais comuns como causadoras de atividade alelopática pertencem ao grupo dos ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides glicosídeos, cianogênicos, derivados do ácido benzóico, taninos e quinonas complexas (Rodrigues e Lopes, 2001). Além disto, os extratos polares são preferenciais para a obtenção de substâncias fenólicas que são descritos como portadores de atividade alelopática (Yunes e Calixto, 2001; Silva e Silva, 2007).

É importante ressaltar que testes biológicos ou farmacológicos relativamente simples são imprescindíveis para se localizar a bioatividade procurada no extrato da planta e nas numerosas frações obtidas nas diferentes etapas de purificação e separação. A sensibilidade dos testes deverá ser ampla, pois alguns compostos estão presentes em pequenas concentrações devendo ser ainda específicos para determinados alvos biológicos (Hostettman et al., 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Especificações gerais

- Nas separações cromatográficas em coluna, foram utilizadas sílica gel 60G (0,063-0,200mm; 70-230 mesh ASTM) da MERCK e VETEC;
- As cromatografias de filtração em gel foram feitas em Sephadex LH-20 Pharmacia Biotech;
- Nas análises comparativas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizaram-se cromatofolhas de sílica gel 60F₂₅₄ ;
- As cromatoplasmas foram reveladas através de irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimento de onda de 254 e 366nm e/ou borrifação com reveladores cromogênicos (sulfato cérico e vanilina sulfúrica);
- As concentrações dos extratos e frações das colunas cromatográficas foram efetuadas sob pressão reduzida em evaporador rotativo, Buchi B-480 e Fisaton 802;
- Os critérios de pureza adotados foram a observação de uma única mancha em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), variando-se a fase móvel e reveladores e através da avaliação das substâncias por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ;
- Os cromatogramas para análise de pureza das amostras foram obtidos em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência SCHIMADZU, Detector SPD – M10A, controlador SCL -10A e bombas LC-10 AT. A coluna utilizada foi RP-18 Lichrospher 100 Merck 250 x 4 mm, partículas 5 µ;

- Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em espectrômetro Bruker DRX 400, operando a frequência de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C . Os solventes utilizados foram: clorofórmio deuterado (CDCl_3), utilizando como referência interna o tetrametilsilano (TMS);
- Os deslocamentos químicos (δ) são indicados em ppm e as constantes de acoplamento (J) em (Hz) ;
- Os espectros de Infravermelho (IV) foram obtidos em aparelho FTIR-8300 SCHIMADZU, utilizando-se pastilhas de KBr;
- Os testes para avaliação da atividade alelopática foram realizados utilizando-se como substratos papel germiteste, para ensaios *in Vitro* e Plantamx® para os ensaios *in Vivo*;
- As determinações de biomassa fresca e seca foram realizadas em balança analítica Bioprecisa AS 2104-N.

3.2. Coleta do material vegetal

O material vegetal foi coletado no distrito de Farol de São Tomé, localizado no município de Campos dos Goytacazes - RJ (Latitude = $21^\circ 44'$ Sul; = $41^\circ 18'$. Oeste = altitude 12 m do nível do mar) no mês de agosto de 2007, uma exsicata encontra-se depositada no herbário da Universidade Estadual do Norte Fluminense sob número H164.

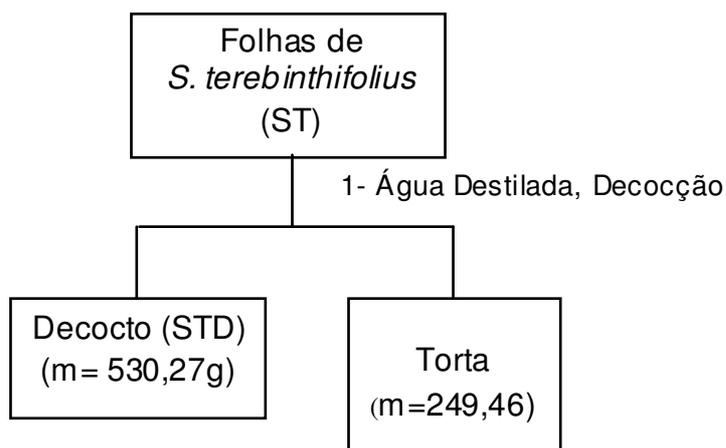
3.3. Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos de folhas de *S. terebinthifolius* as mesmas foram limpas, lavadas com água destilada, secas em estufa de circulação forçada de ar, obtendo-se assim um total de 359 g de folhas que posteriormente foram trituradas em liquidificador comercial levando a obtenção de 357,6 g de material vegetal. O material foi submetido à decocção em uma relação de 20% p/v, 357,6 g de material que foram incorporados a 1788 mL de H_2O destilada à temperatura de 95°C por um período de 10 min. O decocto foi filtrado em papel de filtro (Whatman nº 1) para a obtenção da fase aquosa. A torta (material vegetal) foi novamente submetida a processo de secagem em estufa de circulação forçada de

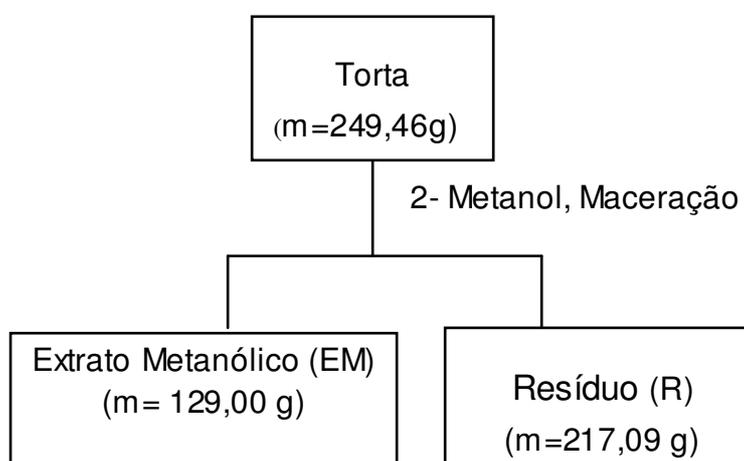
ar à temperatura de 37 °C, para posterior extração através de maceração exaustiva com metanol, conforme ilustrado no Esquema 01.

O extrato metanólico foi preparado a partir do resíduo obtido após a decocção. Foram obtidos 249,46 g de torta extraída através de maceração exaustiva com 2500 mL de metanol, durante um período de 03 semanas, levando a obtenção de 129 g de extrato metanólico (Esquema 02).

Esquema 1. Obtenção do extrato aquoso de folhas de *S. terebinthifolius*



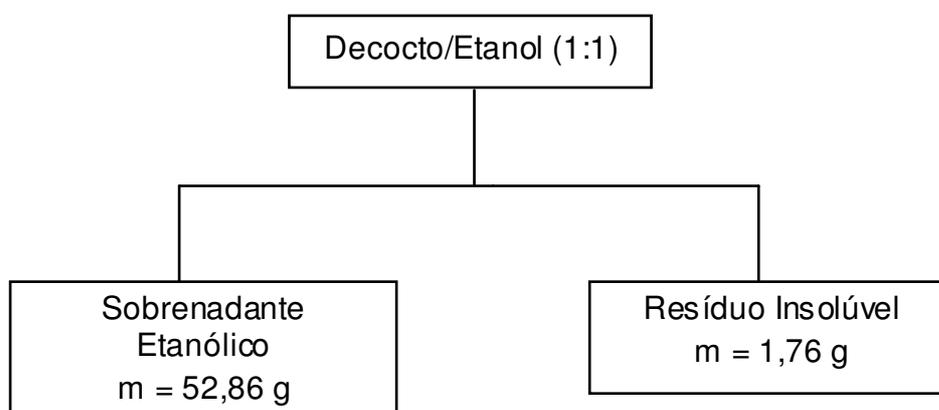
Esquema 2. Obtenção do extrato metanólico de folhas de *S. terebinthifolius*



3.4. Fracionamento do decocto

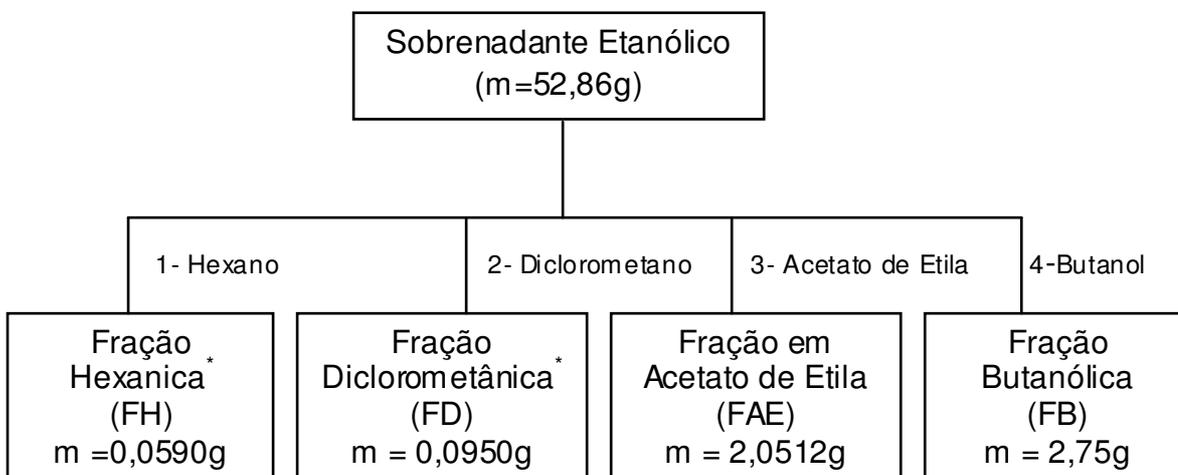
O decocto foi submetido primeiramente ao processo de extração líquido-líquido, utilizando-se como solvente o etanol na proporção de 1:1 (decocto/etanol), obteve-se assim sobrenadante etanólico (fase orgânica) e resíduo (fase aquosa). Resíduo e sobrenadante foram submetidos à secagem pelo processo de evaporação em banho-maria obtendo-se 52,86 g de sobrenadante etanólico (Esquema 03).

Esquema 3. Partição do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*



Submeteu-se o sobrenadante etanólico a processo de redução de volume em rota-evaporador, o mesmo foi refractionado através de partição líquido-líquido; foram utilizados os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol em gradiente de polaridade crescente (Esquema 04).

Esquema 4. Partição do sobrenadante etanólico do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*



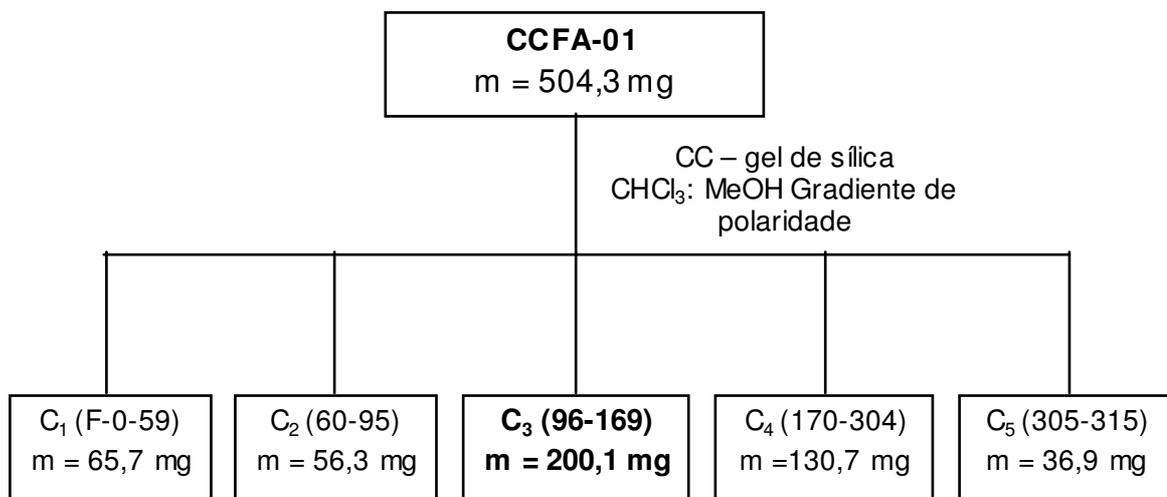
* Frações não trabalhadas.

3.5. Fracionamento da fração em acetato de etila

A fração em acetato de etila (2,0512g) foi escolhida através de testes preliminares e também por apresentar-se em quantidade suficiente para se iniciar o processo de fracionamento fitoquímico. Foram utilizados 504,3 mg dessa fração submetidos à cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando-se como eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ em gradiente de polaridade crescente; resultando em 315 frações que foram reunidas através da análise em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), proporcionando a obtenção de 5 conjuntos de substâncias (Esquema 05).

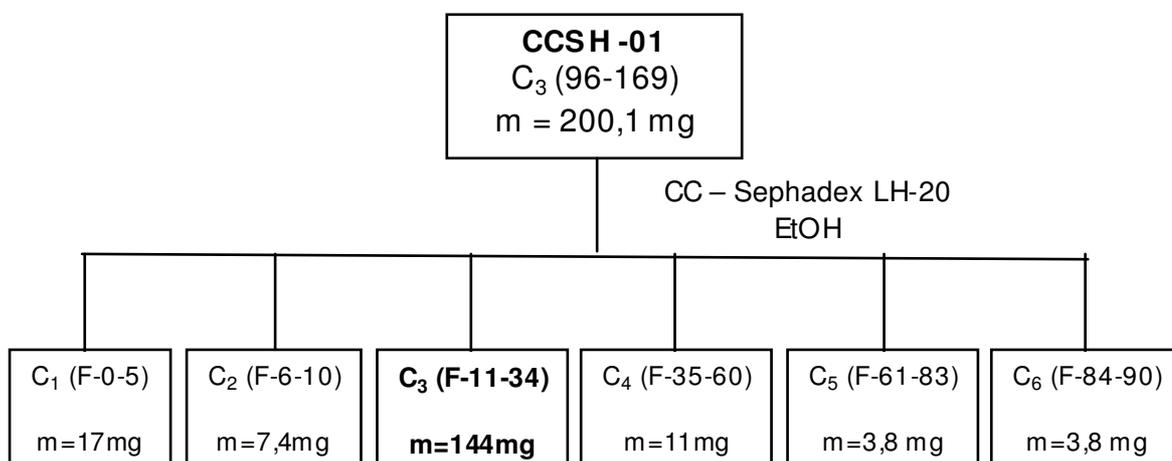
O fracionamento cromatográfico foi bioguiado por testes alelopáticos para a possível avaliação do extrato de maior atividade alelopática, o que possibilitará a identificação das possíveis substâncias responsáveis pelas características alelopáticas apresentadas.

Esquema 5. Fracionamento da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*



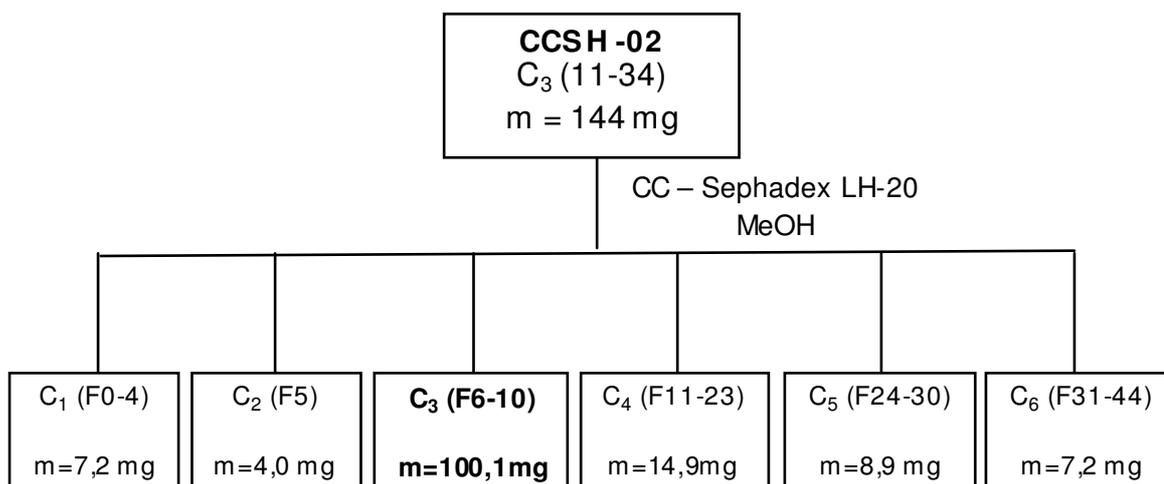
A fração C₃ da coluna CCFA-01 foi submetida à filtração em gel de sephadex LH-20 utilizando como eluente etanol (Esquema 06). Foram obtidas 90 frações reunidas em seis conjuntos de substância segundo a identidade de R_f em CCDA (Esquema 06).

Esquema 6. Fracionamento cromatográfico CCSH-01 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*



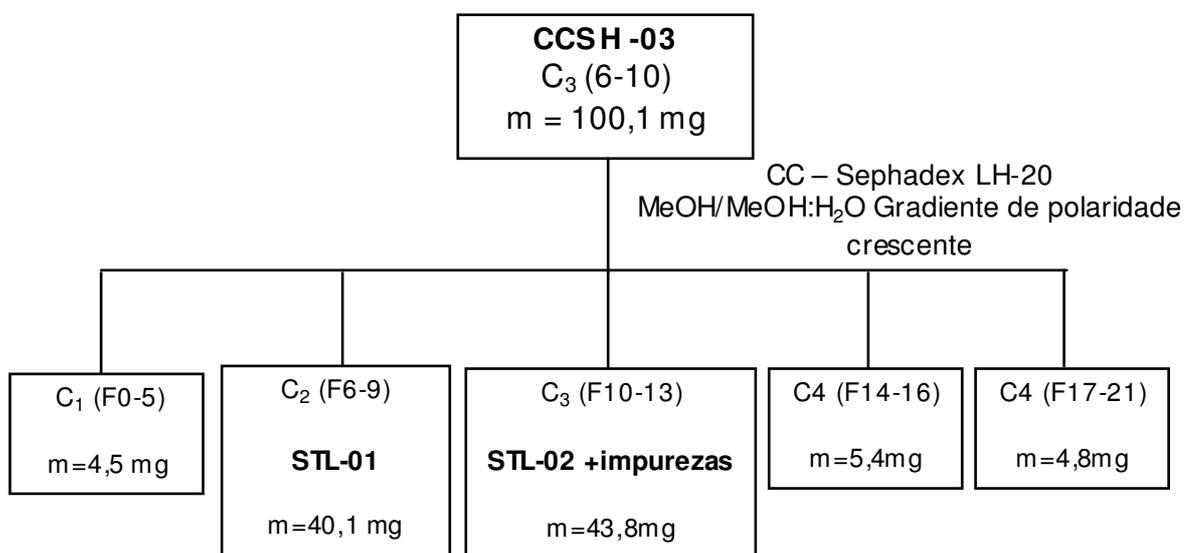
A fração C₃ (CCSH-01) foi novamente submetida a filtração em gel de sephadex LH-20 utilizando como eluente metanol (Esquema 07). Foram obtidas 44 frações reunidas em cinco conjuntos de substância segundo a identidade de R_f em CCDA (Esquema 07).

Esquema 7. Fracionamento cromatográfico CCSH-02 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*



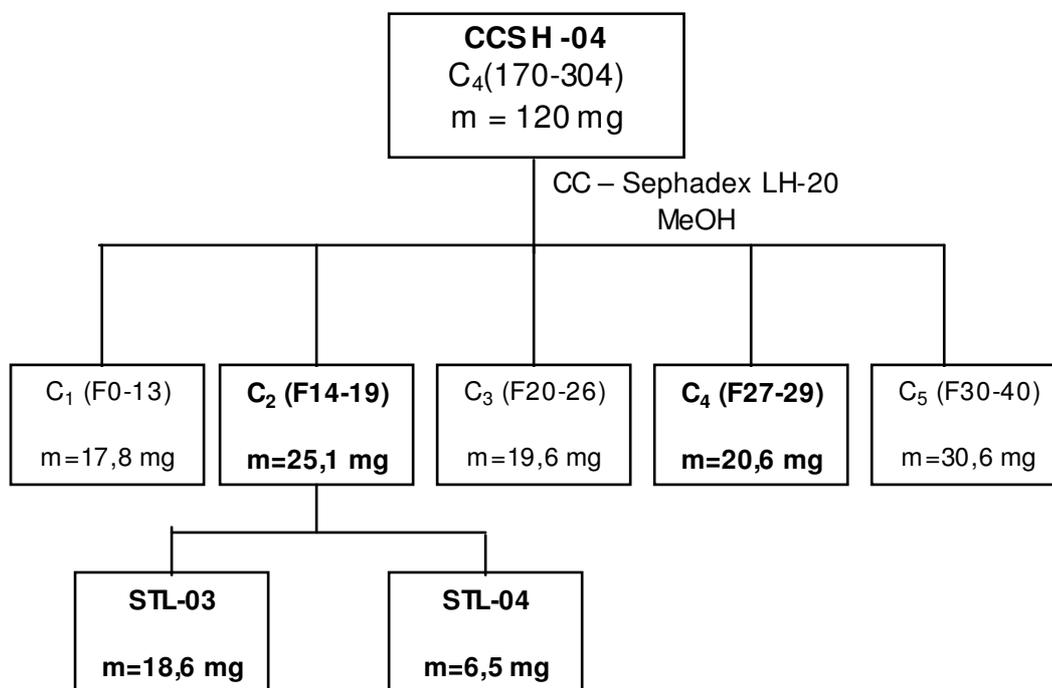
A fração C₃ foi submetida à filtração em gel de sephadex LH-20 utilizando como eluente metanol/ metanol:H₂O em gradiente crescente de polaridade (Esquema 08). Foram obtidas 21 frações reunidas em cinco conjuntos de substância segundo a identidade de R_f em CCDA. As purificações das frações 6-9 e 10-13 forneceram as substâncias purificadas STL-01 e STL-03 (Esquema 08).

Esquema 8. Fracionamento cromatográfico CSH-03. Purificação das substâncias STL-01 e STL-02



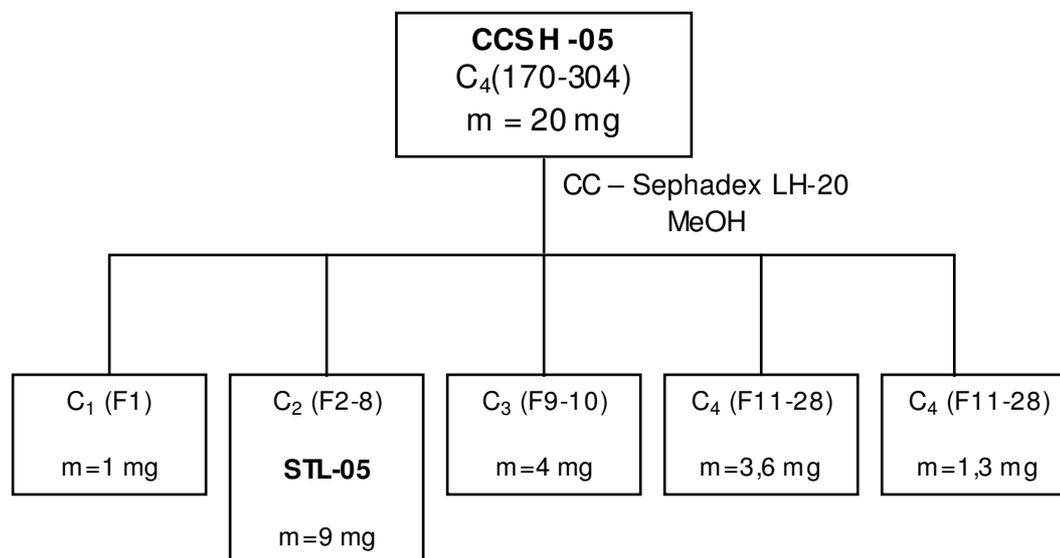
O conjunto de frações C₄ (F.170-304) obtido da Cromatografia em coluna CCFA-01, foi submetida à filtração em gel de sephadex LH-20 utilizando como eluente metanol (Esquema 09). Foram obtidas 40 frações reunidas em cinco conjuntos de substância segundo a identidade de R_f em CCDA. A amostra C₂ foi submetida à lavagem química com THF para eliminação de impurezas originando as substâncias purificadas STL-03 e STL-04.

Esquema 09. Fracionamento cromatográfico CESH-04 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*. Purificação das substâncias STL-03 e STL-04



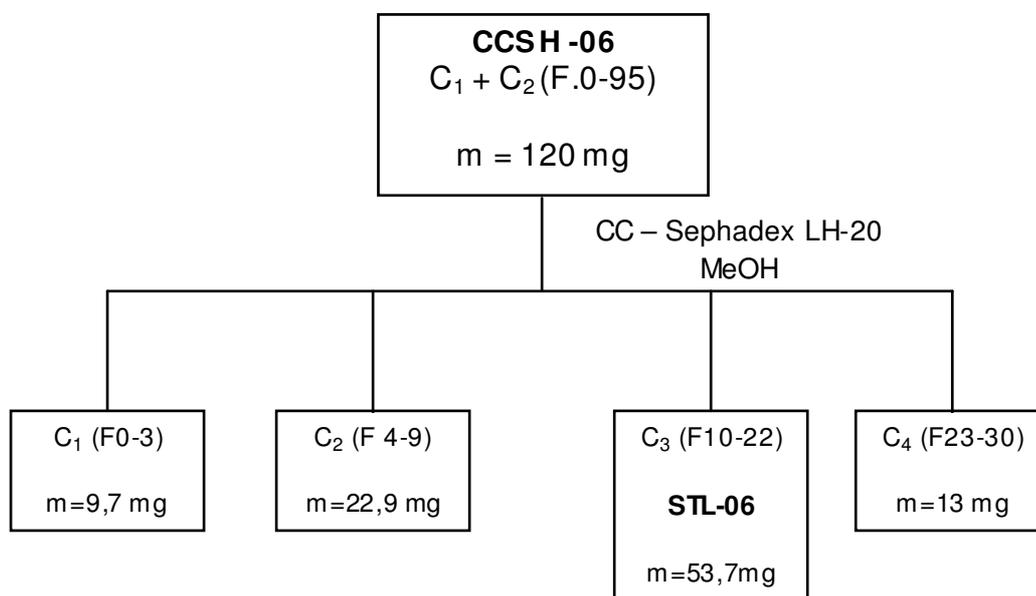
A fração C₄ (F27-29) foi submetida a fracionamento cromatográfico através de coluna de filtração em gel de sephadex LH-20 utilizando como eluente metanol (Esquema 10). Foram obtidas 23 frações reunidas em cinco conjuntos de substância segundo a identidade de R_f em CCDA. A fração 2-8 forneceu a substância purificada STL-05 (Esquema 10).

Esquema 10. Fracionamento cromatográfico CESH-05 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*. Purificação da substância STL-05



O fracionamento cromatográfico prosseguiu com a junção das frações C₁ e C₂ da coluna CCFA-01 (Esquema 11), um total de 122 mg de amostra foi submetido à cromatografia em coluna de filtração em gel de sephadex LH-20 utilizando como eluente metanol. Foram obtidas 24 frações reunidas em cinco conjuntos de substância segundo a identidade de R_f em CCDA. A purificação da fração 10-22 forneceu a substância purificada STL-06 (Esquema 11).

Esquema 11. Fracionamento cromatográfico CSH-06 da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*. Purificação da substância STL-06



3.6. Avaliação da pureza das substâncias por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para avaliação da pureza das amostras isoladas as mesmas foram submetidas à avaliação cromatográfica através da análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Todas as amostras foram analisadas à concentração de 1mg/mL. O aparelho utilizado foi Shimatzu, Detector SPD – M10A, controlador SCL -10A e bombas LC-10 AT. A coluna utilizada foi RP-18 Lichrospher 100 Merck 250 x 4 mm, partículas 5 µm e a fase móvel foi água Milli Q acidificada com H₃PO₄ (pH-3,2) (Reagente A) e acetonitrila (Reagente B); o volume de amostra injetado foi de 20 µl. O método utilizado é descrito na tabela 01 e com porcentagem do reagente B variando em relação ao tempo de corrida. O tempo de corrida para cada amostra foi de 15 minutos a um fluxo de 1 mL/min. Foram analisadas as substâncias químicas purificadas STL-01, STL-02, STL-03, STL-04, STL-05 e STL-06.

Tabela 1. Método utilizado nas análises de cromatografia líquida de alta eficiência

<i>Tempo (min)</i>	<i>Concentração de A (%)</i>	<i>Concentração de B (%)</i>
0,01	100	0
3	70	30
10	50	50
12	0	100
15	100	0

3.7. Avaliações alelopáticas

3.7.1. Avaliação da atividade alelopática *in vitro*

Os ensaios foram realizados em câmara de incubação (B.O.D.), com temperatura de 20° C para a espécie *Lactuca sativa* e a 25°C /27°C para a espécie *Bidens pilosa*, sendo utilizado para ambas fotoperíodo de 8/16 horas.

Os extratos e frações obtidos de *S. terebinthifolius* foram analisados quanto à possível alelopatia em relação da germinação e crescimento de sementes *Lactuca sativa* (alface). A espécie *Bidens pilosa* (picão-preto) foi avaliada apenas em ensaio preliminar qualitativo e frente ao decocto de folhas de *S. terebinthifolius*.

Foram utilizadas placas de *Petri* previamente preparadas com papel germiteste e esterilizadas em autoclave. A parcela experimental foi constituída de placas de *Petri*, de 9 cm de diâmetro e 30 sementes cada irrigada inicialmente com 2 mL de cada extrato avaliado, sendo posteriormente irrigadas com água destilada de acordo com a necessidade.

Foram discriminados quatro ensaios que englobam diferentes faixas de concentração. O ensaio qualitativo foi realizado na concentração de 100 mg/L, e foram avaliados decocto, extrato metanólico, fração em acetato de etila e fração butanólica, utilizando-se água como testemunha. Após sua realização os extratos e frações foram avaliados em diferentes faixas de concentração. O decocto obtido a (20 % p/v) foi avaliado na concentração de 100 e diluído as concentrações 75, 50, 25 e 12,5%, utilizando-se como dose inicial água (dose zero). As frações em acetato de etila e butanol foram avaliadas em duas faixas de concentração para maior detalhamento da interação entre as substâncias presentes e as espécies avaliadas. No Ensaio 01 (E₁) foram utilizadas as concentrações de 8; 4; 3; 2 e

1mg/L e no Ensaio 02 (E₂) as concentrações de 200; 100; 50; 25 e 12,5mg/L, utilizando em ambos ensaios água como dose inicial (dose zero).

Antes da realização dos ensaios as soluções foram avaliadas quanto à acidez, através da determinação do pH, e também quanto à concentração de íons dispersos nas soluções, através da medida da condutividade elétrica.

Para os ensaios de germinação as avaliações em todos os ensaios realizados se deram através da avaliação diária do número de sementes germinadas, para posterior determinação do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e do Percentual de Germinação.

Nos ensaios de crescimento foram utilizadas as mesmas condições descritas na metodologia do bioensaio de germinação, porém as avaliações foram realizadas no décimo dia, com medições do comprimento da parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm) e biomassa fresca (g). Após a realização das medidas biométricas, as plantas foram alocadas em sacos de papel e levadas à estufa a 36 °C durante 72h. Decorrido este período, o material vegetal foi pesado em balança analítica, obtendo-se assim os valores da biomassa seca total das plântulas (g).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições simultâneas de 30 sementes de alface.

3.7.2. Avaliação da atividade alelopática *in vivo*

O ensaio foi realizado em casa-de-vegetação. As sementes foram dispostas em células de bandejas de poliestireno contendo como substrato Plantmax[®].

A parcela experimental foi constituída de 30 sementes da espécie *L. sativa* dispostas em bandejas de poliestireno, devidamente, delimitadas de acordo com as concentrações avaliadas. As sementes foram irrigadas inicialmente com 0,5 mL de extrato na avaliação do decocto e 2 mL de extrato para os demais ensaios.

As plântulas foram irrigadas diariamente pela manhã e à tarde durante dez minutos, utilizando-se o sistema de micro-aspersão.

O decocto obtido (20 % p/v) foi avaliado na concentração de 100 e diluído as concentrações 75, 50, 25 e 12,5%, utilizando-se como dose inicial água (dose zero). As frações em acetato de etila e butanol foram avaliadas em duas faixas

de concentração assim como os bioensaios realizados *in vitro*. No Ensaio 01 (E_1) foram utilizadas as concentrações de 8; 4; 3; 2 e 1mg/L e no Ensaio 02 (E_2) as concentrações de 200; 100; 50; 25 e 12,5mg/L, utilizando em ambos os ensaios água como dose inicial água (dose zero).

Foram realizados bioensaios de germinação e de crescimento. No bioensaio de germinação a avaliação da atividade alelopática foi determinada pelo índice de velocidade de emergência (IVE) e percentagem de emergência (%E).

No bioensaio de crescimento foi utilizada a mesma metodologia do bioensaio de germinação, porém as avaliações foram realizadas no vigésimo dia após a semeadura, com medições da altura da parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm), biomassa fresca (g). Após a realização das medidas biométricas, as plantas foram alocadas em sacos de papel e levadas à estufa a 60°C durante 72h. Decorrido este período, o material vegetal foi pesado em balança analítica, obtendo-se assim os valores da biomassa seca total das plântulas (g).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições simultâneas de 30 sementes de alface.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Avaliações da pureza das substâncias químicas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As amostras purificadas STL-01, STL-02, STL-03, STL-04, STL-05 e STL-06 foram submetidas à análise cromatográfica para confirmação prévia da pureza antes da realização de análises de ressonância magnética nuclear para determinação da estrutura das mesmas.

Tais análises permitiram verificar que as amostras STL-01 (Figura 14) e STL-02 (Figura 16) isoladas apresentaram perfis cromatográficos semelhantes nas análises de CLAE, devido a uma mesma substância majoritária com tempo de retenção próximo (5,22 e 5,24 min). A amostra STL-02 apresentou 91,10 % de pureza. As análises de ressonância magnética nuclear confirmaram que estas amostras eram a mesma substância química. Os espectros de absorção em UV mostraram λ_{max} 210 e 274 nm para a substância STL-01 (Figura 15) e 210,0 e 272,9 para a substância STL-02 (Figura 17).

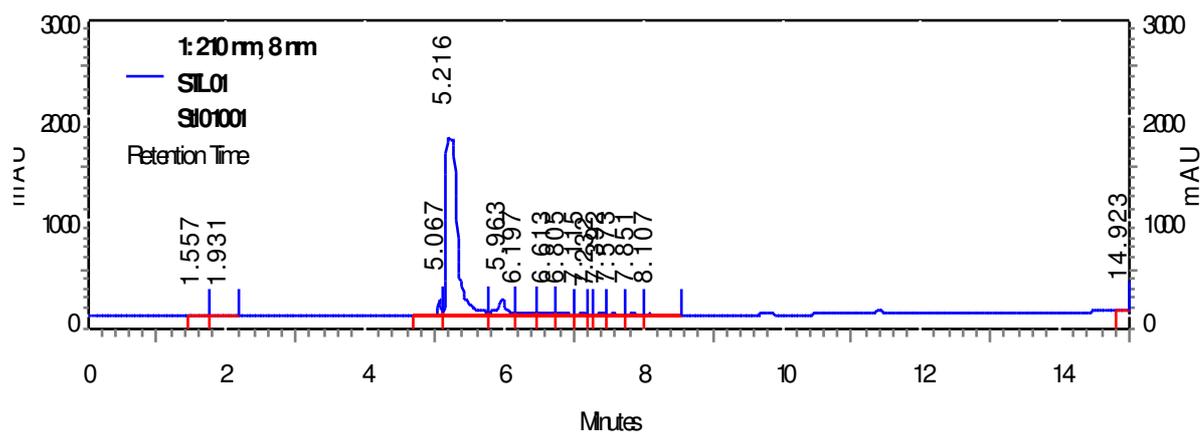


Figura 14. Cromatograma obtido para a substância STL-01.

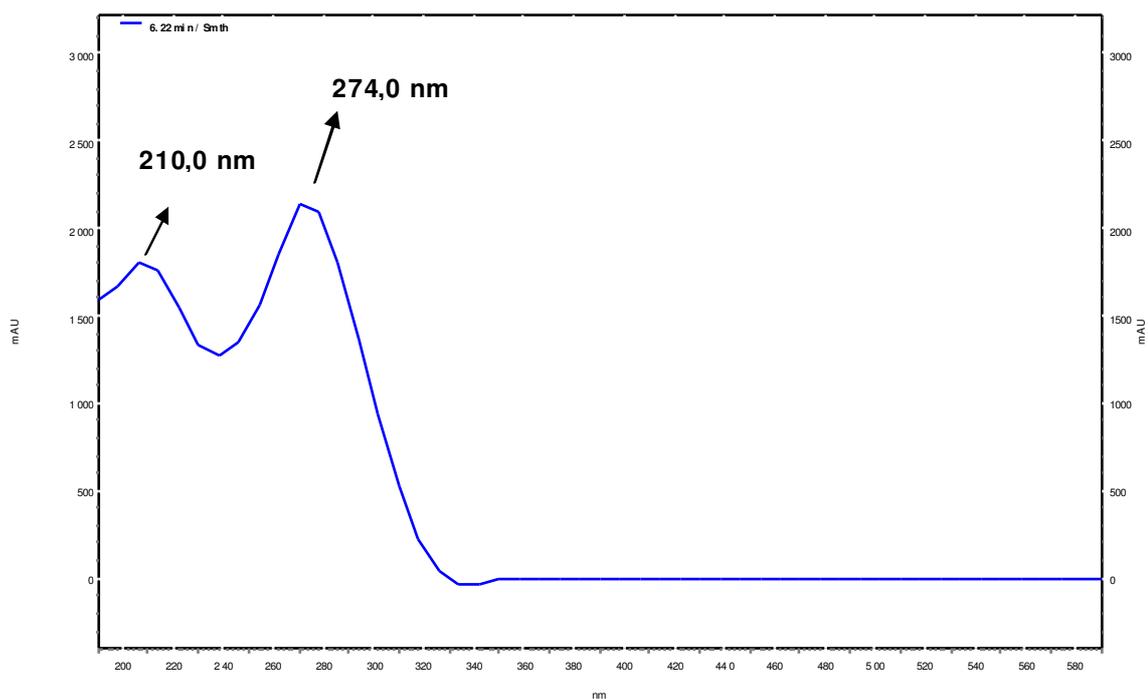


Figura 15. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-01.

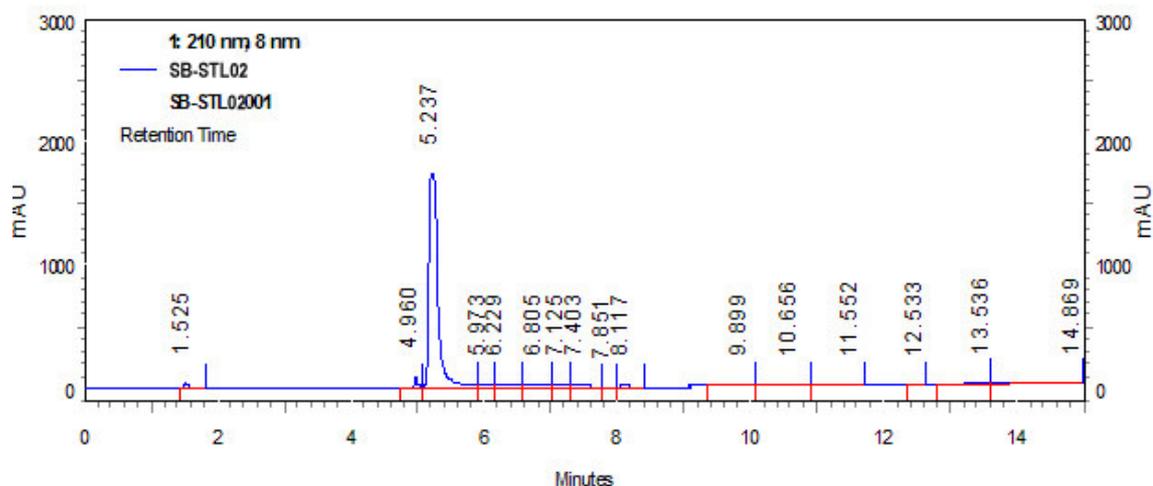


Figura 16. Cromatograma obtido para a substância STL-02.

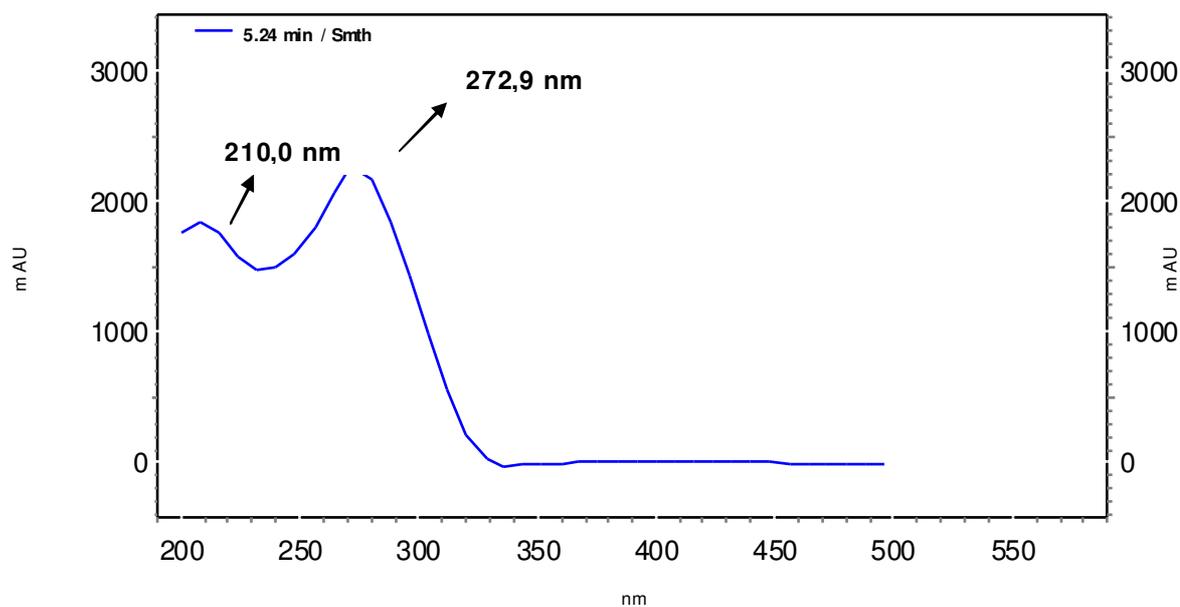


Figura 17. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-02.

As amostras STL-03 (Figura 18, Figura 19) e STL-04 (Figura 20, Figura 21) apresentaram perfis cromatográficos muito semelhantes e tempos de retenção em 5,22 e 5,21 min, respectivamente. A amostra STL-03 apresentou mesmo tempo de retenção da amostra STL-01 sendo atribuída, devido a características cromatográficas, que se trata de uma mesma substância química.

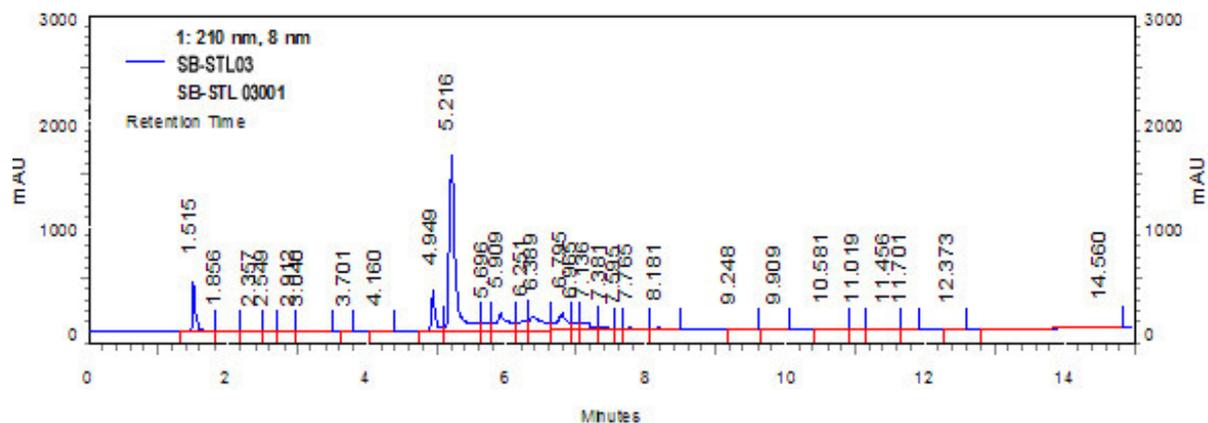


Figura 18. Cromatograma obtido para a substância STL-03.

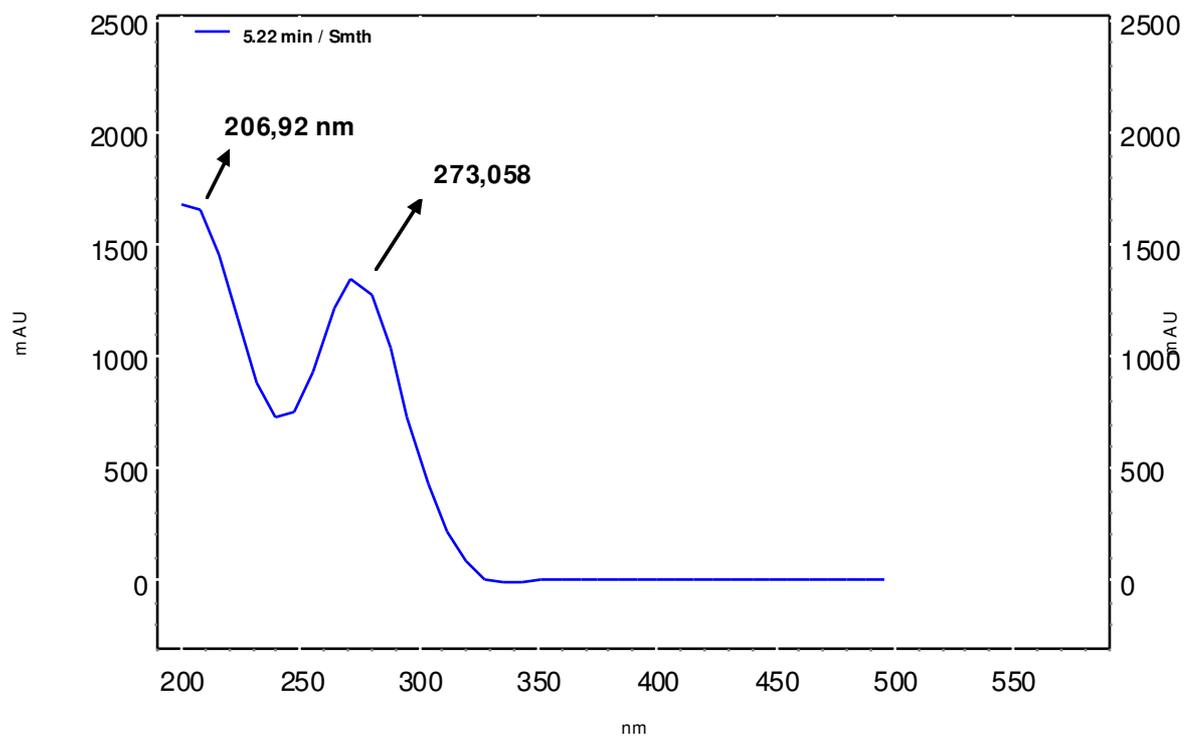


Figura 19. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-03.

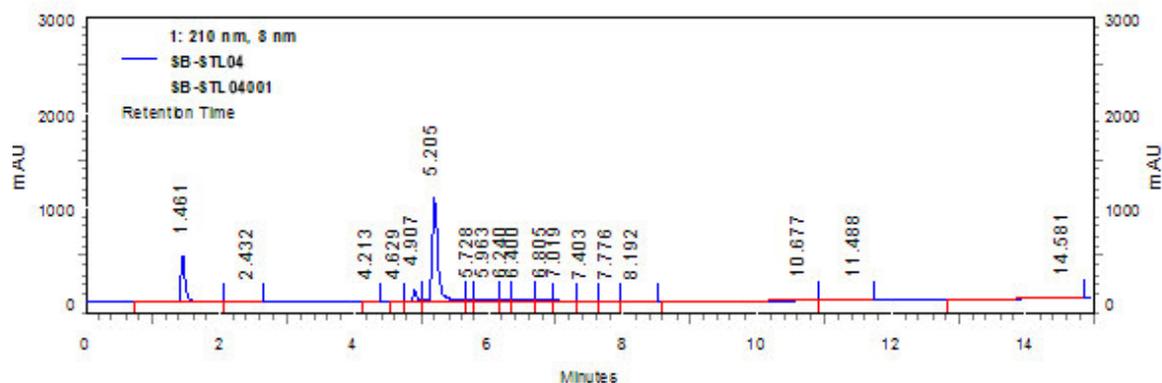


Figura 20. Cromatograma obtido para a substância STL-04.

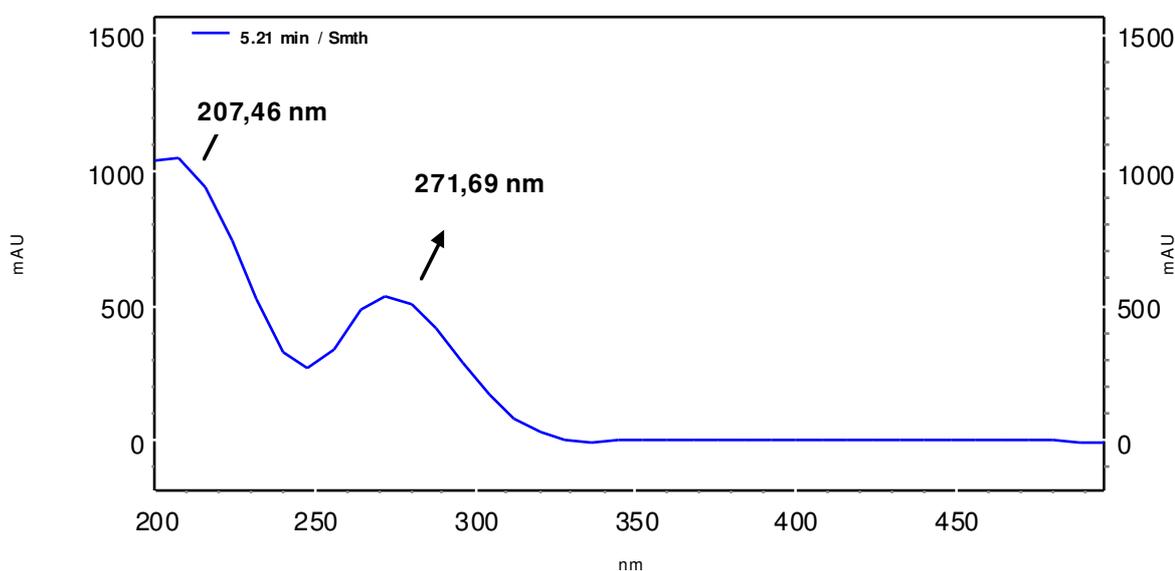


Figura 21. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-04.

A amostra STL-05 (Figura 22) que aparentemente apresentava-se pura nas análises em CCDA, na análise em CLAE apresentou-se na forma de mistura apresentando três picos cromatográficos com T_R em 5,21; 6,79 e 7,40 min, respectivamente. Através da observação de três bandas (200, 250 e 350 nm) características de esqueleto flavonoídico no espectro de UV (Figura 23) pode-se atribuir a presença de flavonóides nessa mistura. Devido ao fato de terem sido isolados apenas 9,0 mg dessa mistura seu fracionamento cromatográfico e análises de RMN se tornaram inviáveis de serem realizados.

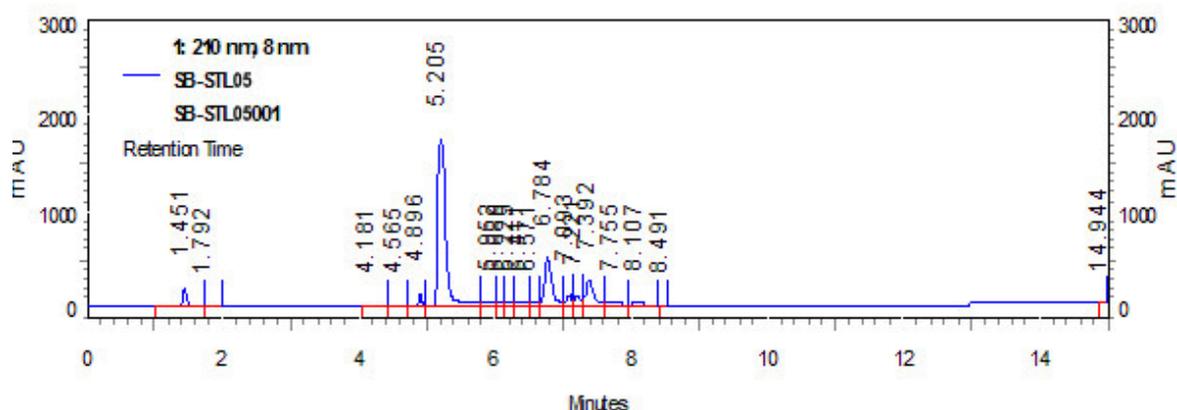


Figura 22. Cromatograma obtido para a substância STL-05.

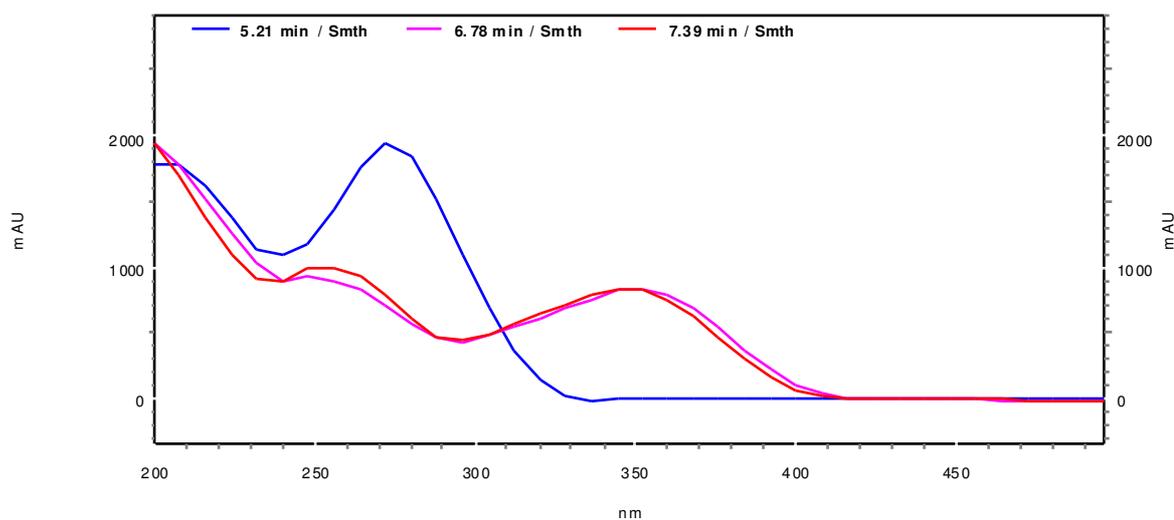


Figura 23. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-05.

O cromatograma referente à substância STL-06 (Figura 24) indicou a presença de duas substâncias químicas com tempos de retenção de 5,79 e 6,92 min, respectivamente. Por apresentar massa suficiente para novo fracionamento cromatográfico (53,7 mg) a amostra foi reservada para análises posteriores. O pico majoritário (T_R 5,79 min) apresentou 69,44% de pureza, não sendo possível a detecção do λ_{max} (Figura 25) para essa amostra.

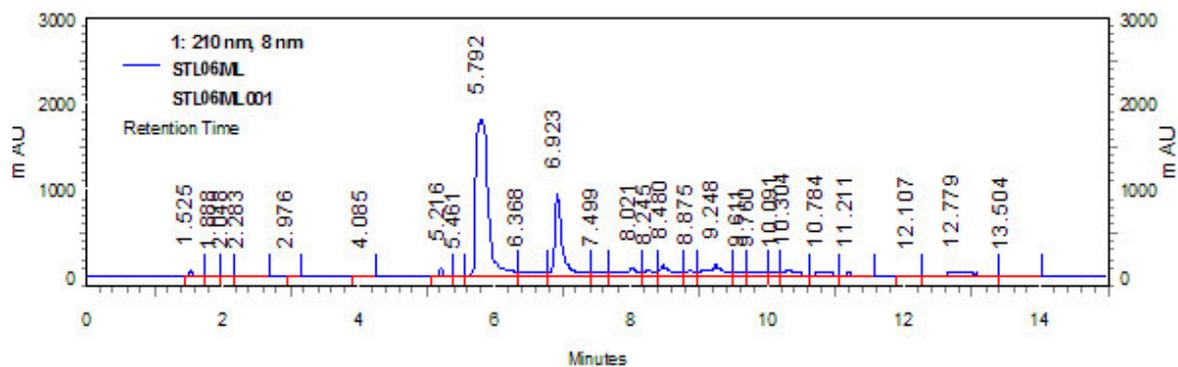


Figura 24. Cromatograma obtido para a substância STL-06.

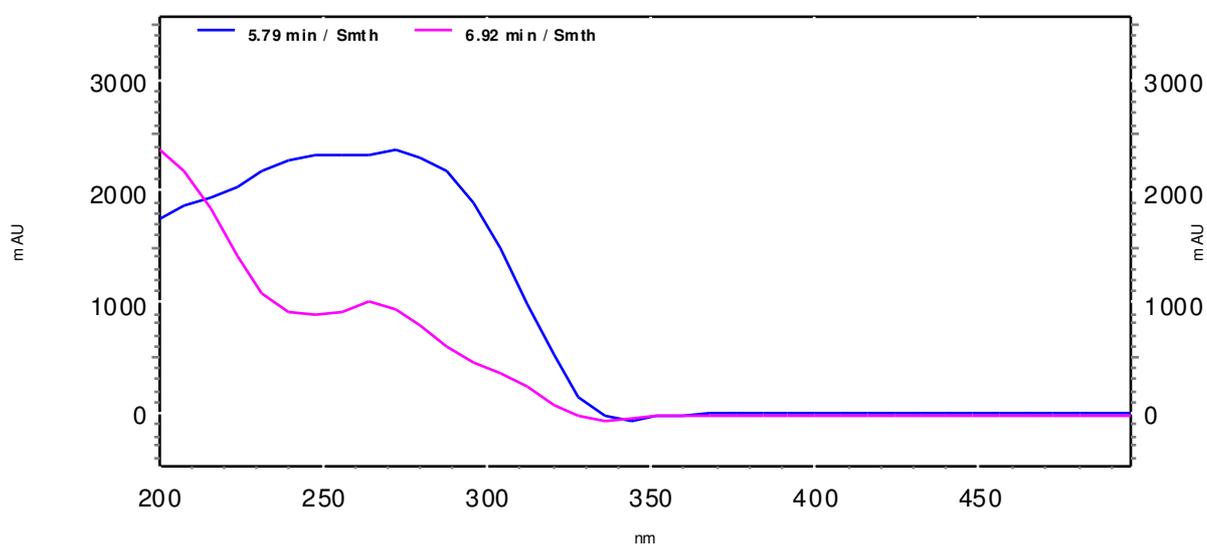


Figura 25. Espectro na região do ultravioleta da amostra STL-06.

Observa-se no cromatograma referente ao decocto de folhas de *S. terebinthifolius* (Figura 26) um pico em 5,20 min referente à substância STL-01.

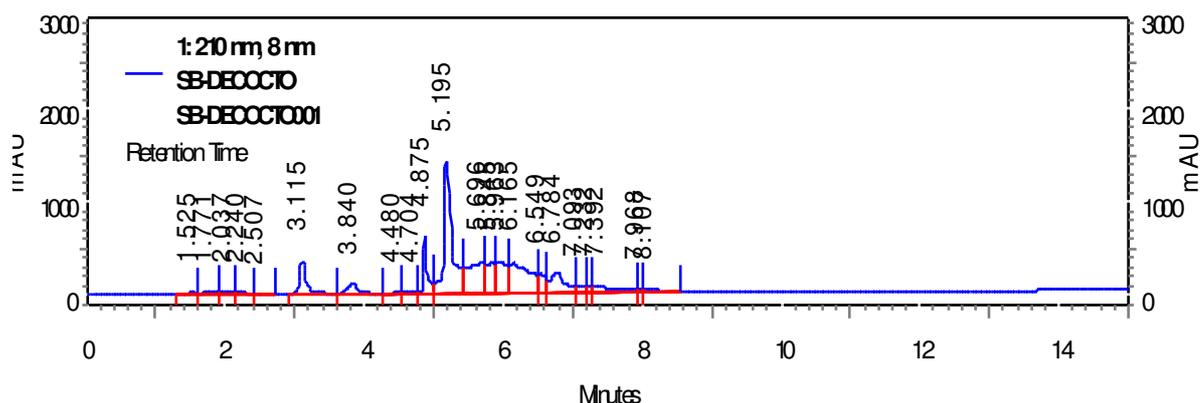


Figura 26. Cromatograma obtido para o decocto de folhas de *S. terebinthifolius*.

No cromatograma obtido para a fração em acetato de etila (Figura 27) observa-se o um pico em 5,22 min referente à substância STL 01. Conforme observado nos espectros de UV (Figura 27, Figura 28) outras substâncias fenólicas minoritárias são observadas a 6,29; 6,43; 6,58; 6,74; 7,11; 7,24; 7,40 e 8,12 min.

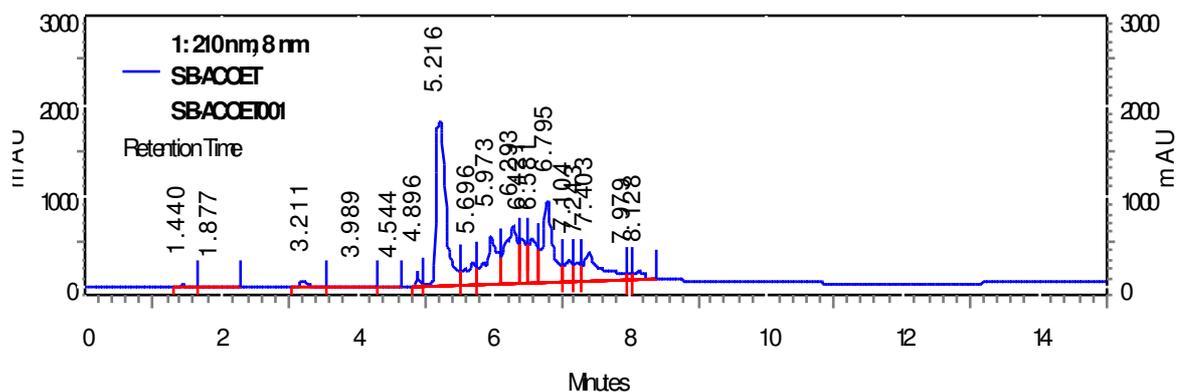


Figura 27. Cromatograma obtido para a fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*.

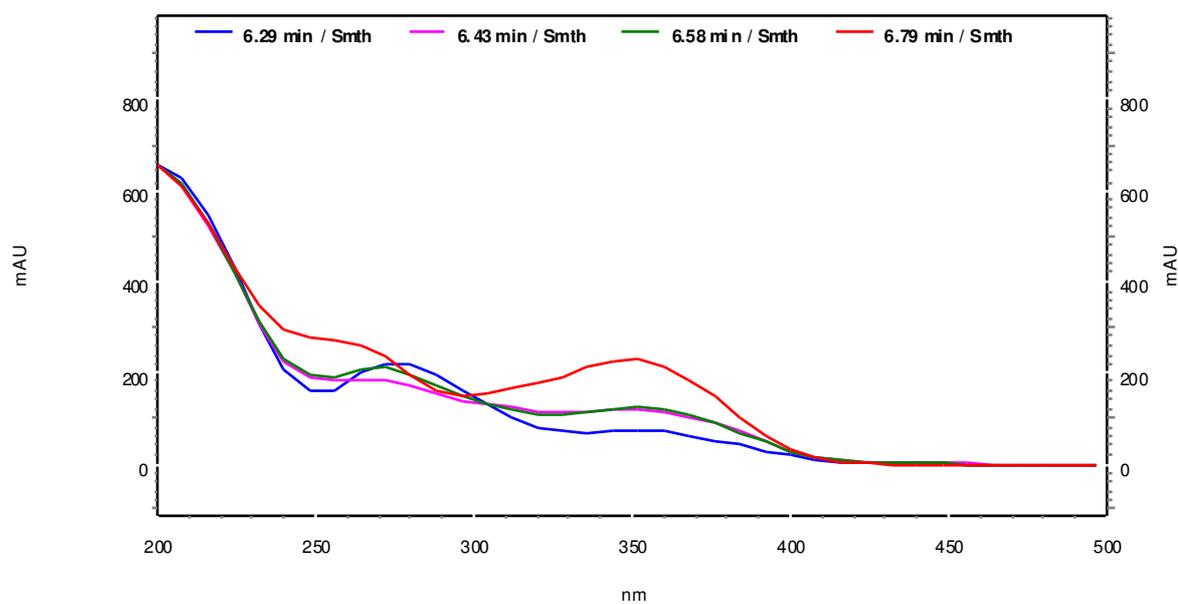


Figura 28. Espectro na região do ultravioleta da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*.

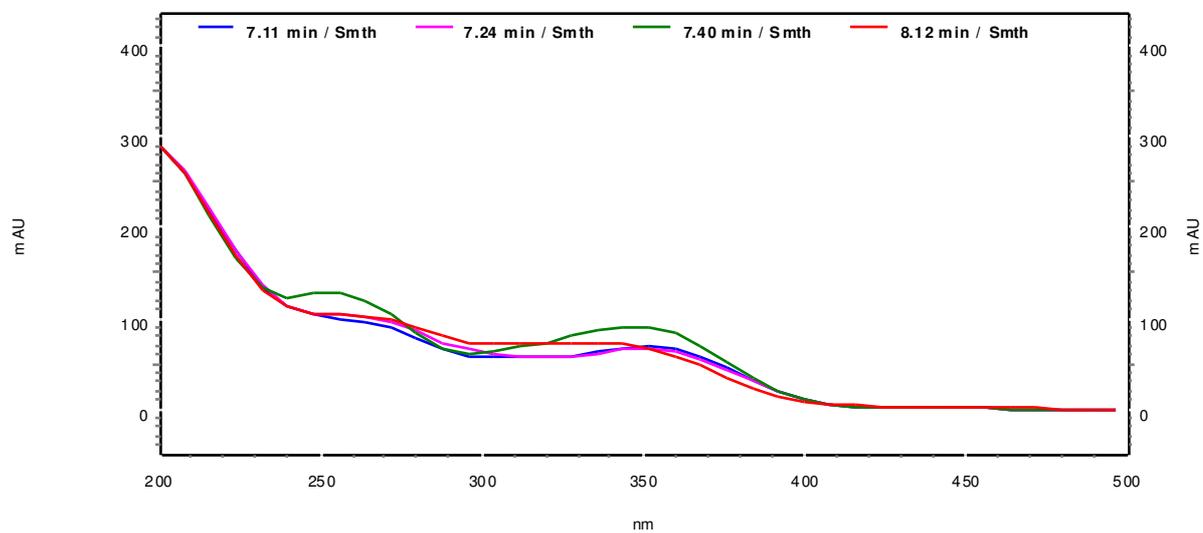


Figura 29. Espectro na região do ultravioleta da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

A fração butanólica (Figura 30) apesar de não ter sido fracionada apresenta em seu perfil químico a presença de várias substâncias. Pelo aspecto apresentado pelo espectro de UV (Figura 31) pode-se prever a presença de flavonóides nesta fração.

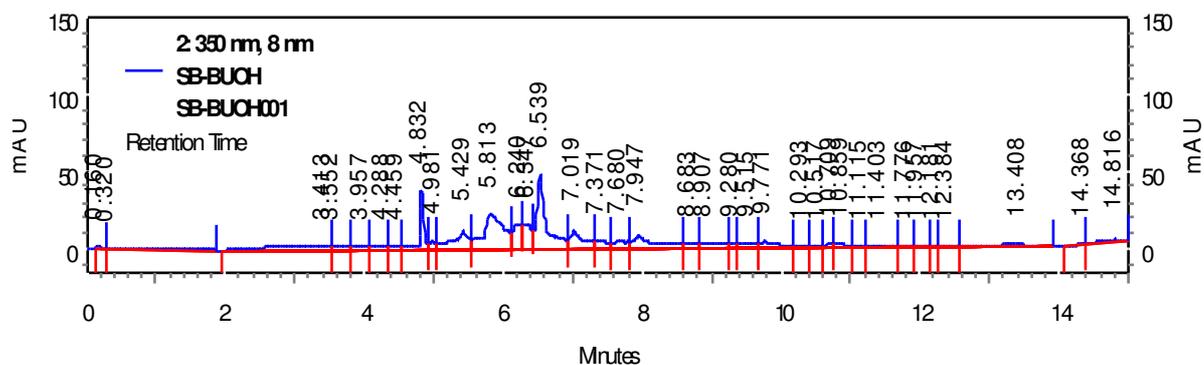


Figura 30. Cromatograma obtido para a fração butanólica do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*.

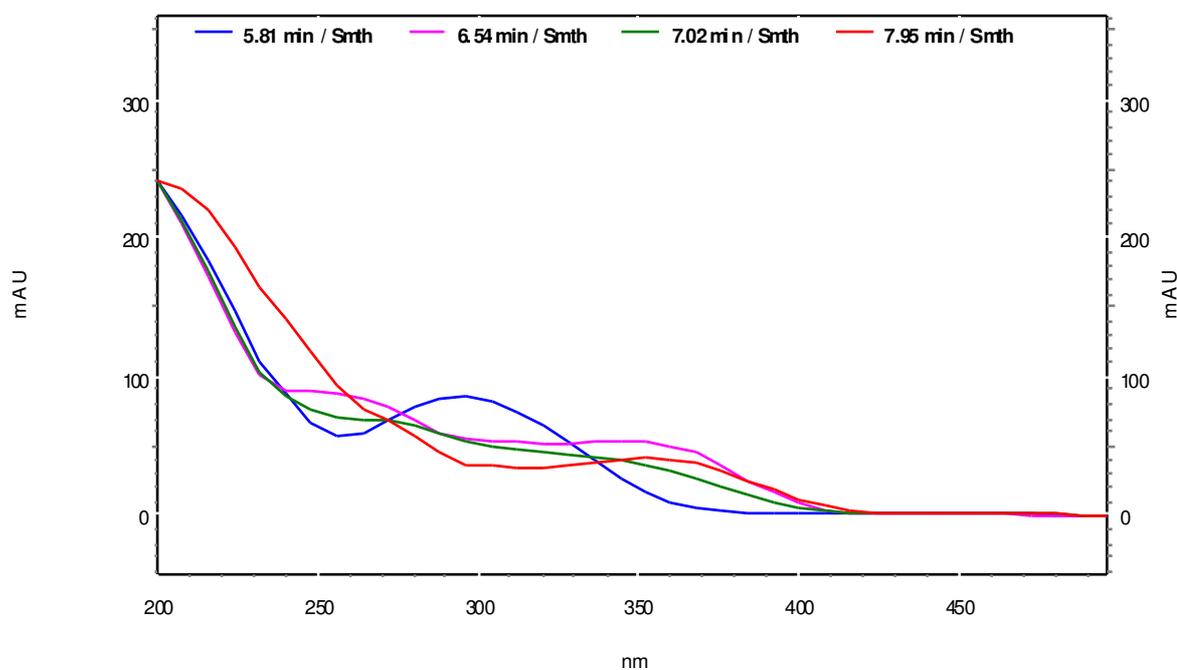


Figura 31. Espectro de ultravioleta para a fração butanólica do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*.

Na última década, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi uma das técnicas mais utilizadas para análise e isolamento de produtos naturais a exemplo de matrizes complexas como extrato de plantas. A utilização de cromatogramas na determinação do perfil químico de uma determinada amostra poderá ajudar no isolamento e determinação dos diversos compostos que a compõe (Hostettmann et al., 2003).

A CLAE é uma técnica analítica que compreende uma grande variedade de modos de separação, os quais poderão ser escolhidos de acordo com a natureza química dos compostos, sendo de extrema utilidade na análise de compostos polares e não voláteis. O sistema mais freqüentemente utilizado em análises de CLAE é a fase inversa, o qual separa através de grupos silanol não protegidos. Os compostos são adsorvidos à fase estacionária (de menor polaridade) até serem eluídos pela fase móvel com polaridade adequada (Yunes e Calixto, 2001).

A cromatografia líquida de alta eficiência permite análises qualitativas e quantitativas de misturas complexas com alta resolução e sensibilidade. Esta técnica é amplamente utilizada na detecção de substâncias como flavonóides, terpenos, ácidos fenólicos e carotenóides (Chaves, 2006).

A espectroscopia de ultravioleta fornece informações sobre a classe de substâncias presentes no extrato e no caso de compostos fenólicos propicia a identificação de hidroxilas livres e sobre a posição das oxigenações (Hostettmann, et al., 2003). Espectros na região de absorção nas regiões visível e ultravioleta são úteis para detecção de certos grupos funcionais que atuam como cromóforos (Skoog et al., 2002).

4.2. Elucidação estrutural da substância STL- 01

A determinação estrutural da substância **STL-01** baseou-se na análise de dados espectrométricos principalmente de RMN de ^1H e ^{13}C (Tabela 02) em comparação com dados da literatura e na análise cromatográfica realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência em comparação com padrão de ácido gálico (Sigma G-7384).

O espectro de RMN ^1H da substância **STL-01** (Figura 29) mostrou apenas um intenso singleto em δ_{H} 6,92, atribuído aos dois hidrogênios equivalentes (H-2 e H-6) do anel aromático.

No espectro de APT (Figura 30, Figura 31) foram observados: um sinal em δ_C 109,1 ppm relativo aos carbonos equivalentes C-2 e C-6; um sinal em δ 121,9 referente a C-1; um sinal em δ 145,8 ppm referente aos outros dois carbonos equivalentes: C-3 e C-5; e um sinal em δ_C 168,0 ppm característico de carbono carbonílico. Esses dados em comparação aos da literatura (Souza-Filho et al, 2006), levaram à identificação da substância como sendo o ácido gálico (Figura 26).

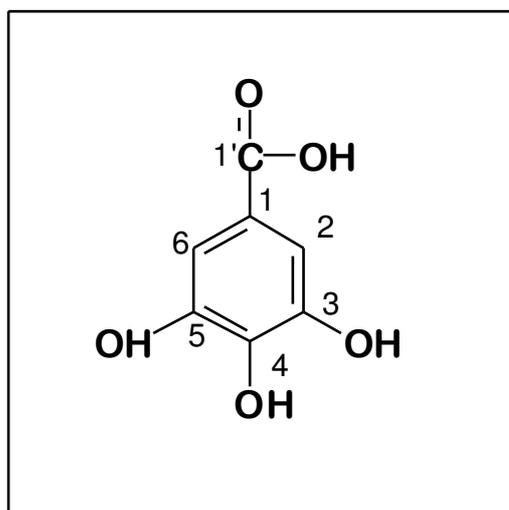


Figura 32. Estrutura química da substância **STL 01**.

Tabela 2. Dados espectrais de RMN ^1H e RMN ^{13}C (400MHz e 100 MHz, CDCl_3) para a substância **STL-01**. Deslocamentos químicos δ_H (em ppm)

	STL - 01		Ácido Gálico (Souza-Filho et al., 2006)	
	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) m	δ_C	δ_H
1	121,0		121,9	
2	109,2	6,92 s	110,3	7,05 s
3	145,8		146,4	
4	138,4		139,6	
5	145,8		146,4	
6	109,2	6,92 s	110,3	7,05 s
1'	167,9		170,4	

O espectro de HMQC permite estabelecer a correlação entre o sinal de cada carbono protonado com o sinal do respectivo próton (Yunes e Calixto, 2001). Observou-se no espectro de HMQC da substância STL-01 apenas um sinal referente aos carbonos protonados no esqueleto da molécula (Figura 35, Figura 36) estabelecendo uma correlação entre o δ_H 6,92 (H-2 e H-6) e o δ_C (C-2 e C-6).

Os espectros de HMBC permitem correlacionar os sinais de carbono, especialmente os quaternários, com os sinais dos carbonos dos prótons vizinhos, geralmente a 2-3 ligações (correlações C-H; 2J ou 3J). Tal correlação é importante para uma localização exata dos carbonos quaternários na estrutura do esqueleto (Yunes e Calixto, 2001). Observou-se no espectro de HMBC da substância STL-01 (Figura 33, Figura 34) a correlação entre o sinal dos hidrogênios CH-2 e CH-6 referente aos carbonos protonados C-2 e C-6 correlacionando com os C-1 (δ_C 121,0), C-3 (δ_C 145,8) e C-4 (δ_C 138,4) e C-1' (δ_C 167,9).

Em análise cromatográfica através de CLAE realizada com a amostra STL-01 a presença de apenas um pico no cromatograma (Figura 14) demonstra a pureza da amostra injetada. Após análise de RMN¹H e RMN¹³C e determinação da estrutura da substância como sendo o ácido gálico, a amostra foi injetada juntamente com diversos padrões de ácido (Figura 33), o pico referente apresentou tempo de retenção bem próximo ao do ácido gálico, para detalhamento da amostra, como sendo o ácido gálico, uma co-injeção com o padrão de ácido gálico foi realizada (Figura 34), a presença de apenas um pico referente às substâncias injetadas confirma a amostra como sendo o ácido gálico.

Os espectros de UV (Figura 15) e IV (Figura 41) foram obtidos no intuito de confirmar a estrutura da substância STL-01 como sendo o ácido gálico.

Observou-se no espectro de UV (Figura 15) os λ_{max} de 210nm e λ_{max} 274nm. Os resultados encontrados corroboram com Verza et al. (2007) em estudo realizado encontraram valores de λ_{max} de 215,3 e λ_{max} 271,9 para o ácido gálico. A diferença encontrada entre os valores devem a diferenças nas condições de análise e aparelhos utilizados para a realização da mesma.

No espectro de IV (KBr) foram encontradas bandas em 3466 cm^{-1} referente à presença de grupamentos hidroxila, 1701 cm^{-1} referente à carbonila. Valores semelhantes foram encontrados por Almeida et al. (2005); observou-se para o espectro IV (KBr) do ácido gálico valores $\nu_{max} cm^{-1}$ 3466, 1701, 1545, 1043.

Compostos fenólicos pertencem à classe de compostos que inclui grande diversidade de estruturas, simples e complexas que possuem pelo menos um anel aromático, ao menos um hidrogênio substituído por um grupamento hidroxila (Simões et al., 1999). Correspondem à classe de metabólitos secundários na qual se encontra a maior parte dos compostos apontados como tendo atividade alelopática, incluindo desde fenóis simples até taninos de estrutura complexa. Alguns compostos quando degradados hidroliticamente possuem acentuado efeito alelopático sobre uma série de espécies vegetais (Mazzafera, 2003).

Taninos são encontrados em muitas plantas utilizadas pelo homem na forma de ervas medicinais, na alimentação e na fabricação de bebidas. Nas plantas os taninos podem ser encontrados em raízes, flores, frutos, folhas, cascas e na madeira. Contribuem para o sabor adstringente em comidas e bebidas. Alguns estudos provaram que os taninos atuam protegendo as plantas contra os herbívoros e doenças patogênicas (Queiroz et al., 2002).

Os taninos naturais podem ser encontrados em diversas partes do vegetal. Os taninos hidrolizáveis são poliésteres da glicose e são classificados, dependendo do ácido que formam em taninos gálicos ou taninos elágicos (Paes et al., 2006).

Os galotaninos resultam da união entre unidades de ácido gálico via ligações *meta*-depsídicas. O grau de substituição total de 10 a 12 resíduos de ácido gálico por molécula de glicose pode ser alcançado conforme relatado para os galotaninos de *Rhus semialata* (Simões et al., 1999).

Em estudo realizado por Silva e Áquila (2005), a avaliação alelopática da espécie *Dodonaea viscosa* mostrou efeito inibitório na germinação de aquênios de alface tanto pelos extratos obtidos a frio como em extratos obtidos a quente. A análise fitoquímica dos extratos foi positiva indicando a presença de saponinas e de taninos em ambos os extratos.

A avaliação do potencial alelopático de *Myrcia guianensis* foi realizada, juntamente ao fracionamento fitoquímico da mesma levando ao isolamento dos ácidos gálico e protocatecuico. Os extratos brutos em acetato de etila e metanólico apresentaram maiores atividades alelopáticas nas germinações das sementes, principalmente, da espécie malícia. Em face do maior efeito inibitório do extrato bruto acetato de etila, optou-se pelo fracionamento deste. A avaliação do potencial alelopático das três partições obtidas desse extrato indicou intensas

inibições nas germinações das sementes das espécies daninhas, na ordem de 100%, exceto a partição hexânica, que inibiu em 21% a germinação da espécie mata-pasto. A atividade alelopática inibitória dos ácidos protocatecuico e gálico esteve associada a dois fatores: concentração e planta receptora. A tendência geral observada foi de relação positiva entre intensidade de inibição e a concentração do ácido, com efeitos máximos obtidos na concentração de 60 ppm. Semelhantemente, a espécie malícia tendeu a ser mais sensível aos efeitos dos dois ácidos do que mata-pasto, embora diferenças estatísticas não tenham sido detectadas em diversas comparações (Souza-Filho et al., 2006).

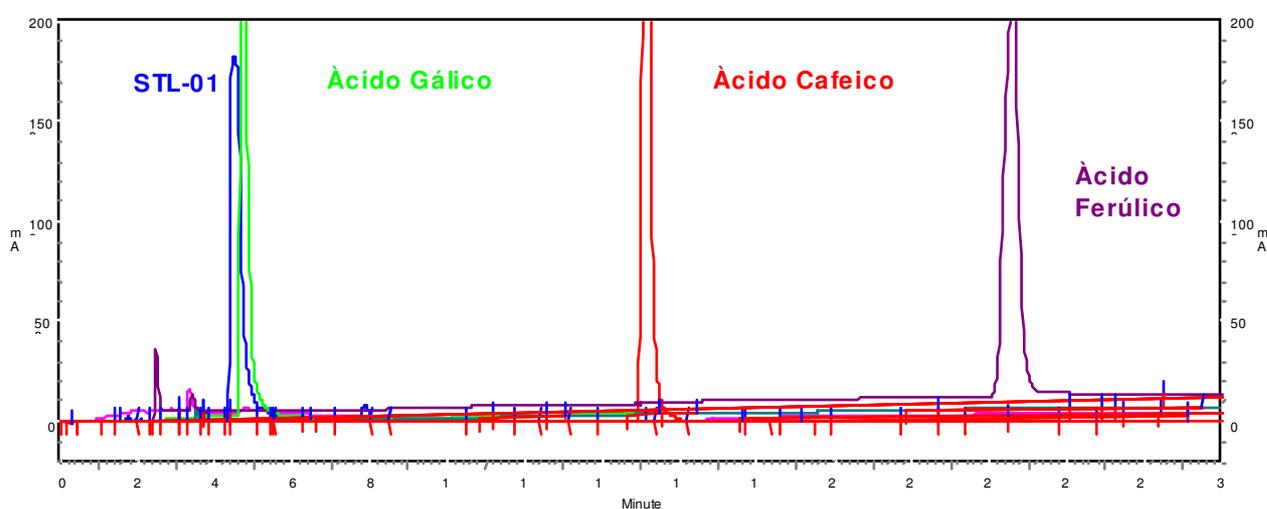


Figura 33. Cromatograma da amostra STL-01 comparada a alguns padrões de ácidos fenólicos.

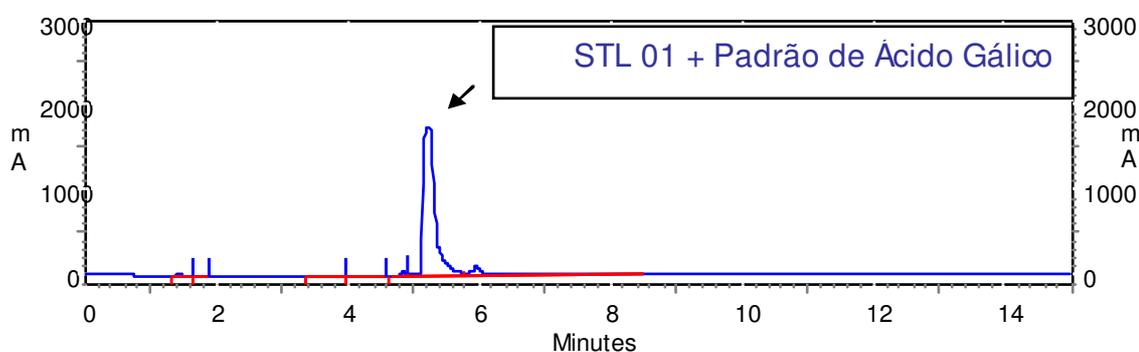
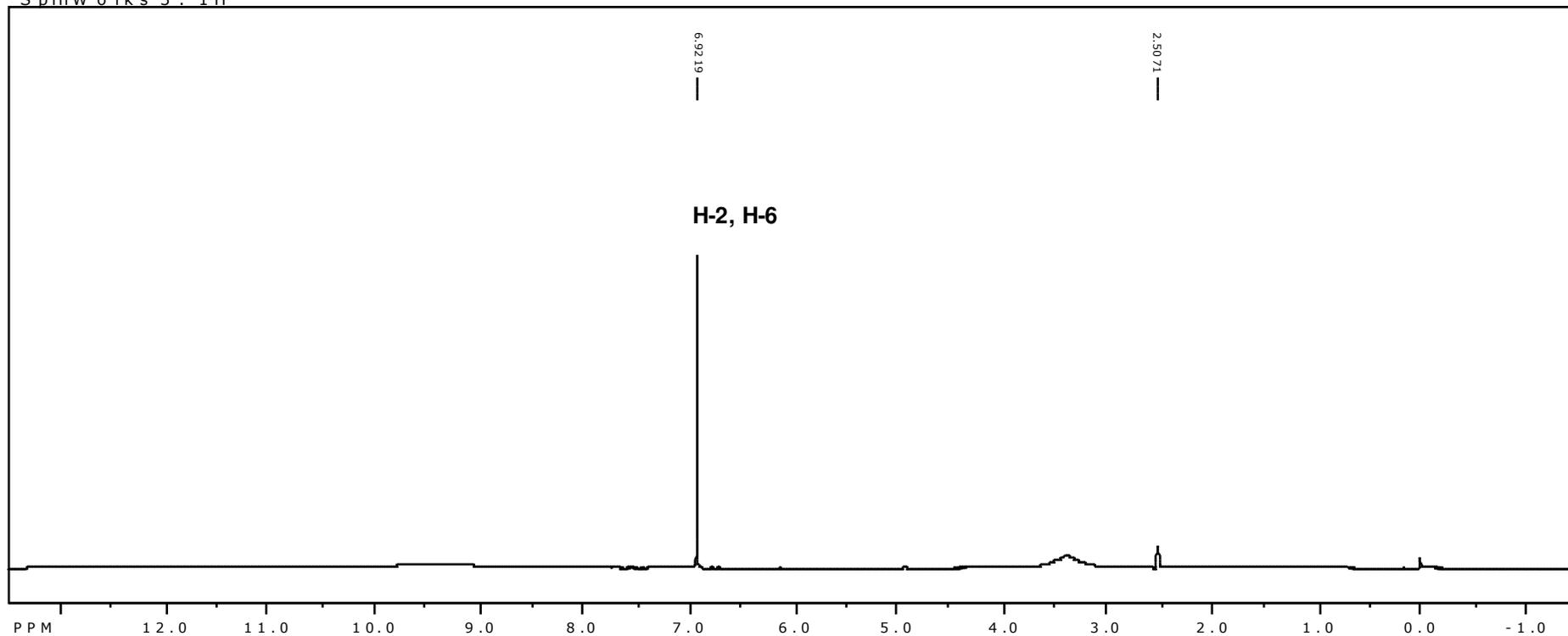


Figura 34. Cromatograma da co-injeção da amostra STL-01 + padrão de ácido gálico.

SpinWorks 3 : 1H

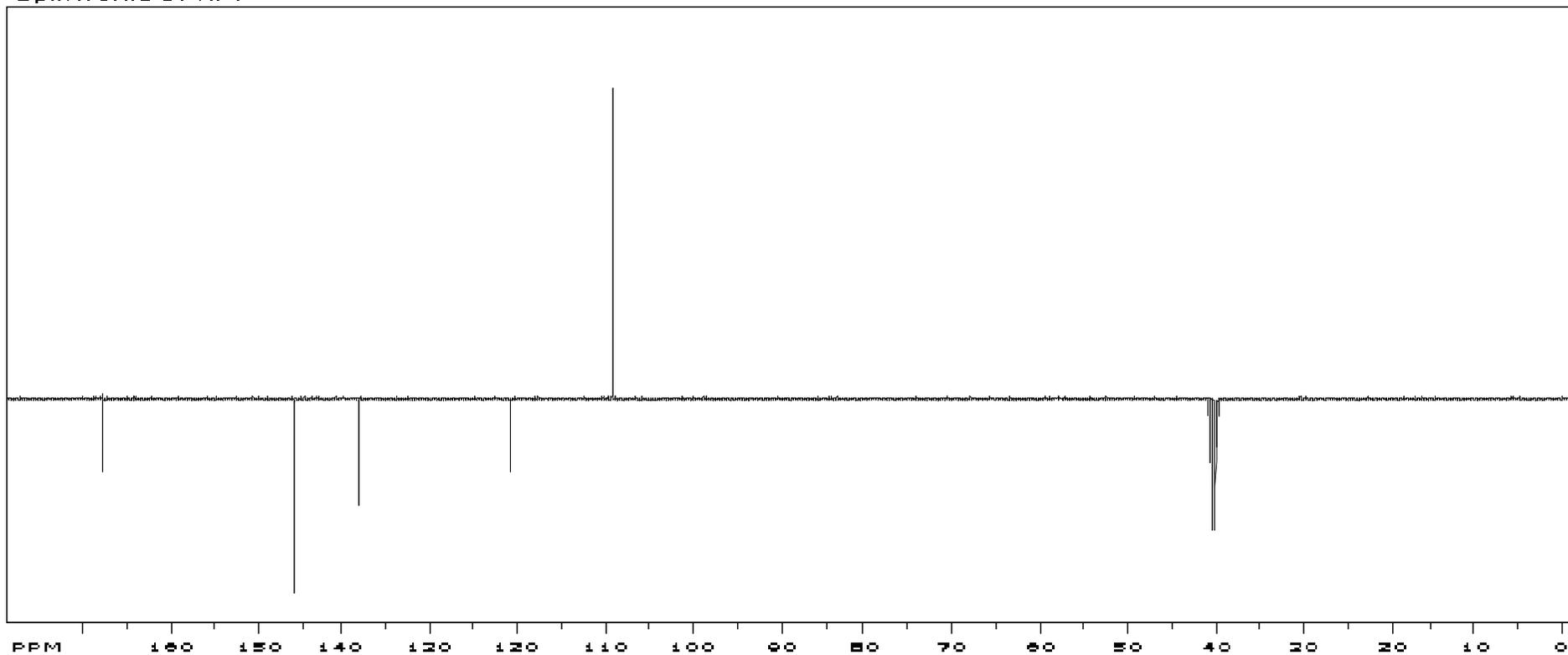


file: ...mentos\Luciana Moreno\stl_01\1\fid_expt: <zg>
transmitter freq.: 400.132401 MHz
time domain size: 32768 points
width: 6009.62 Hz = 15.0191 ppm = 0.183399 Hz/pt
number of scans: 64

freq. of 0 ppm: 400.130000 MHz
processed size: 32768 complex points
LB: 0.000 GF: 0.0000
Hz/cm: 240.385 ppm/cm: 0.60076

Figura 35. Espectro de RMN¹H da substância STL-01.

SpinWorks 3: APT

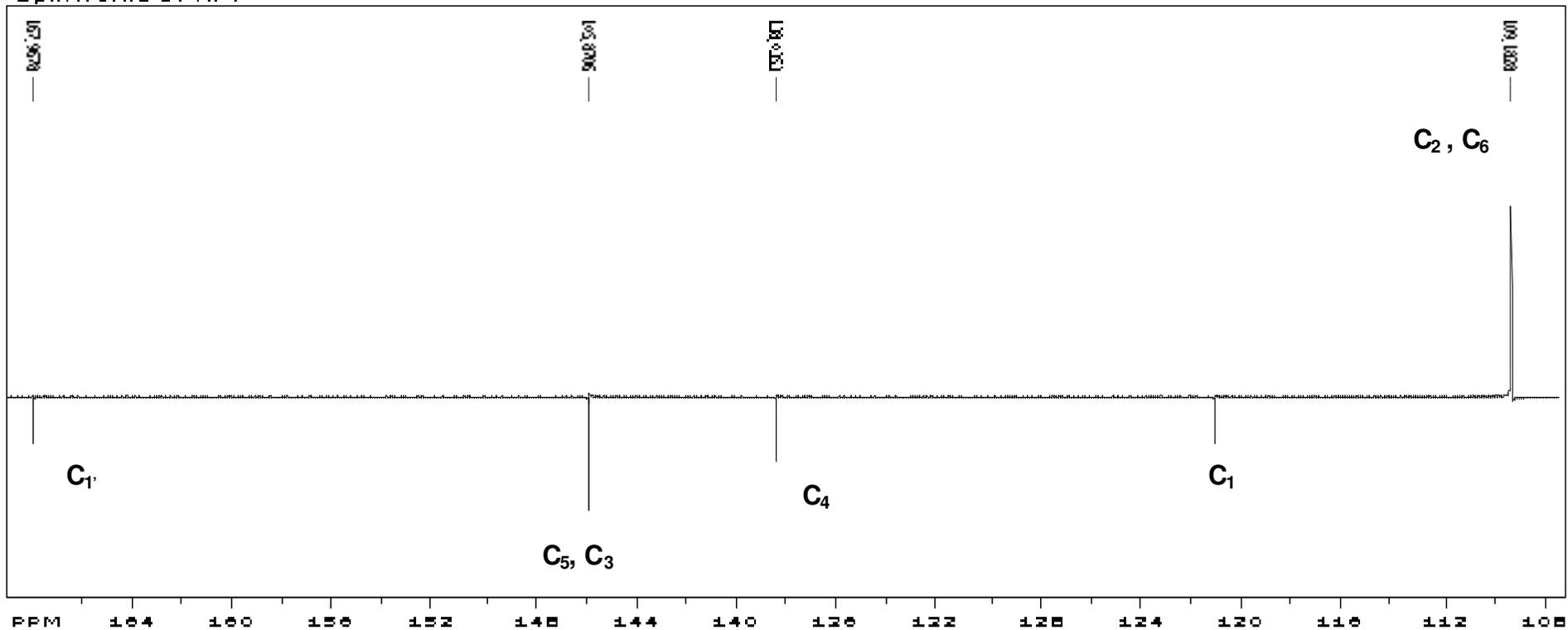


file: G:\jet_LD1\6\file - export - caloria-
transmission2.fid.: 100.622800 MHz
time domain size: 32768 points
width: 25062.56 Hz - 249.0753 ppm - 0.764852 Hz/pt
number of scans: 40960

freq. of D. lock: 100.613769 MHz
processed size: 32768 complex points
IQ: 0.000 GF: 0.0000
Hz/pt: 726.924 ppm/pt: 7.22424

Figura 36. Espectro de APT da substância STL-01.

SpinWorks 3: APT



file: C:\jmrLD\1\6\file.apta - apert - 163.5000 MHz
transmitter freq.: 100.622000 MHz
time domain pts: 32768 points
width: 25062.66 Hz - 249.0750 ppm - 0.764052 Hz/pt
number of scans: 40960

freq. of D ppm: 100.613769 MHz
processed pts: 32768 complex points
LB: 0.000 GF: 0.0000
Hz/pt: 249.200 ppm/pt: 2.46744

Figura 37. Espectro de APT da substância STL-01 expansão da região δ_C 108-170.

SpinWorks 3: hsqc1h-13c editado para multibondeds

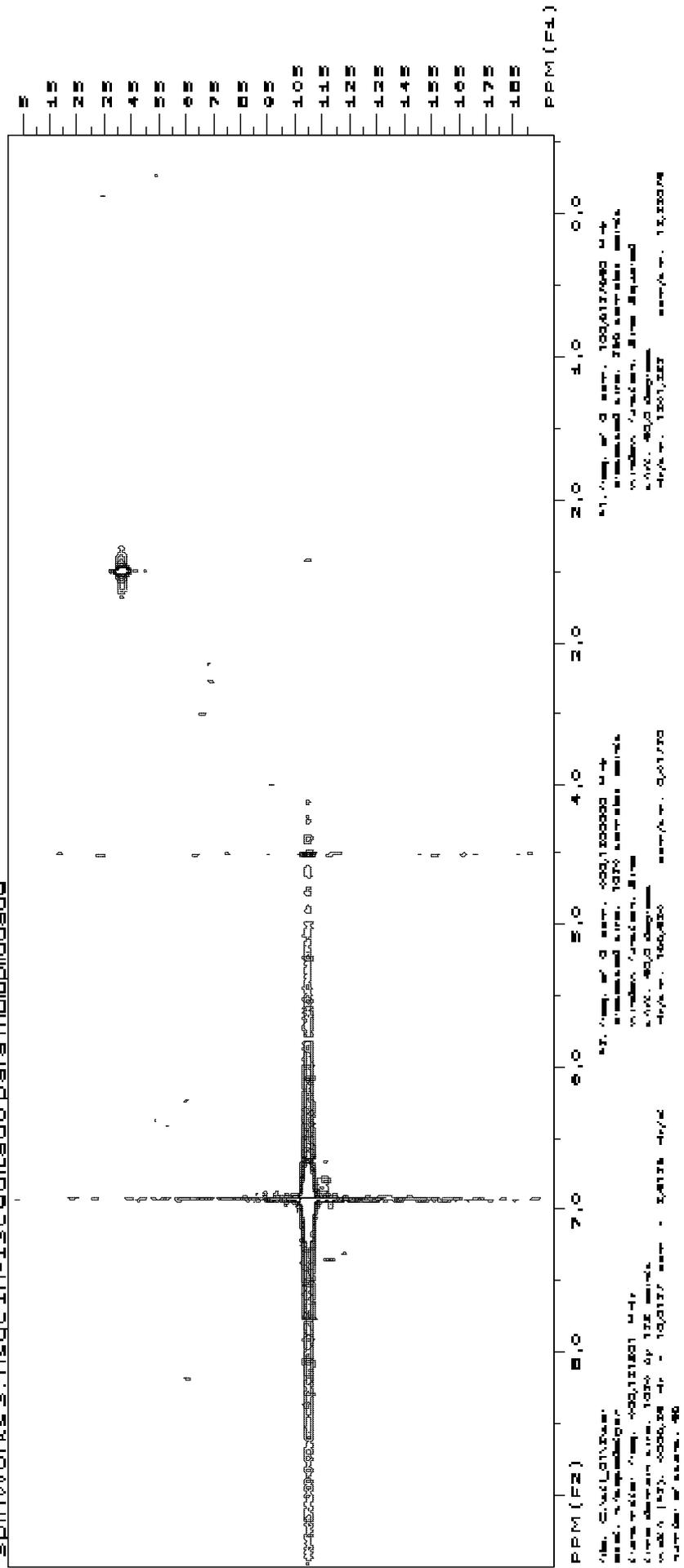


Figura 38. Espectro de HSQC da substância STL-01.

SpinWorks 3: HMBC

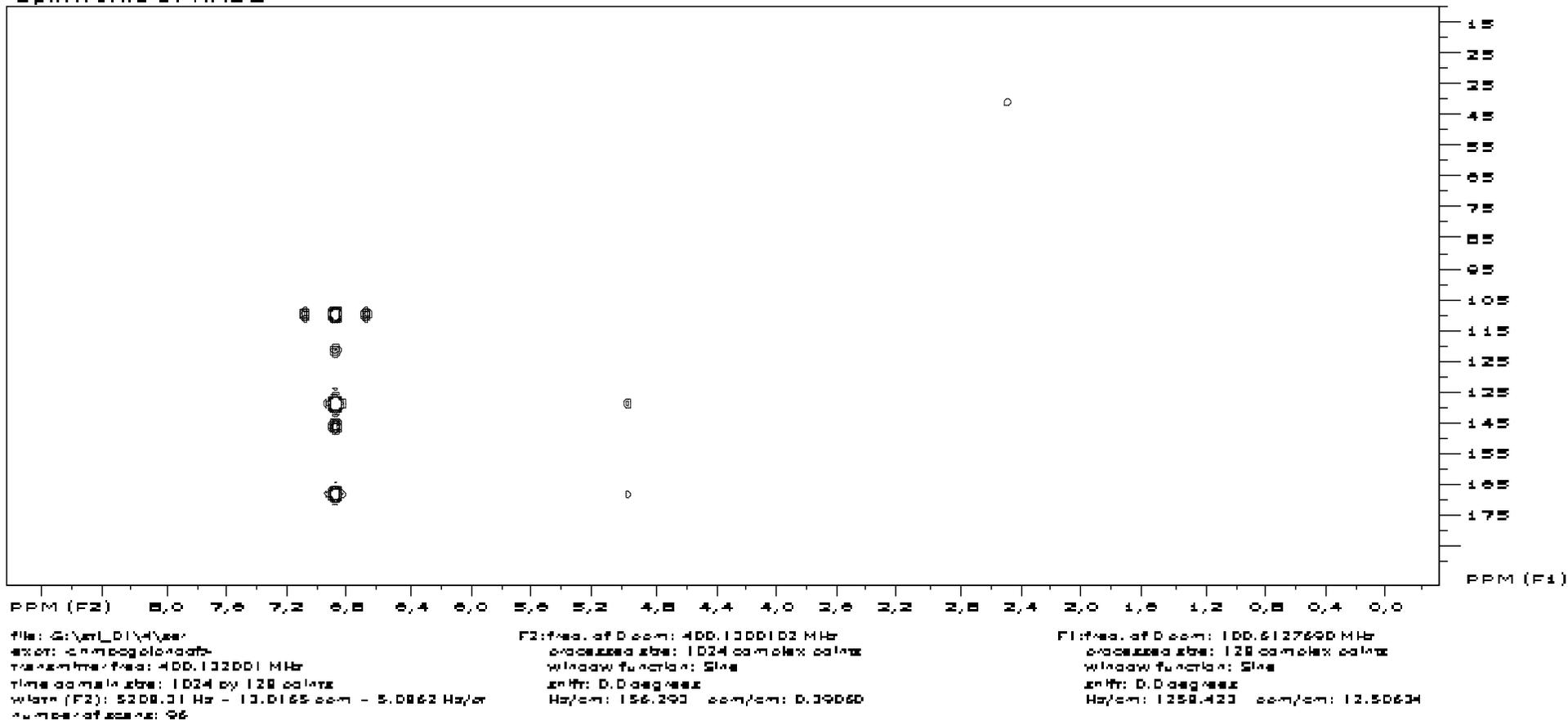


Figura 39. Espectro de HMBC da substância STL-01.

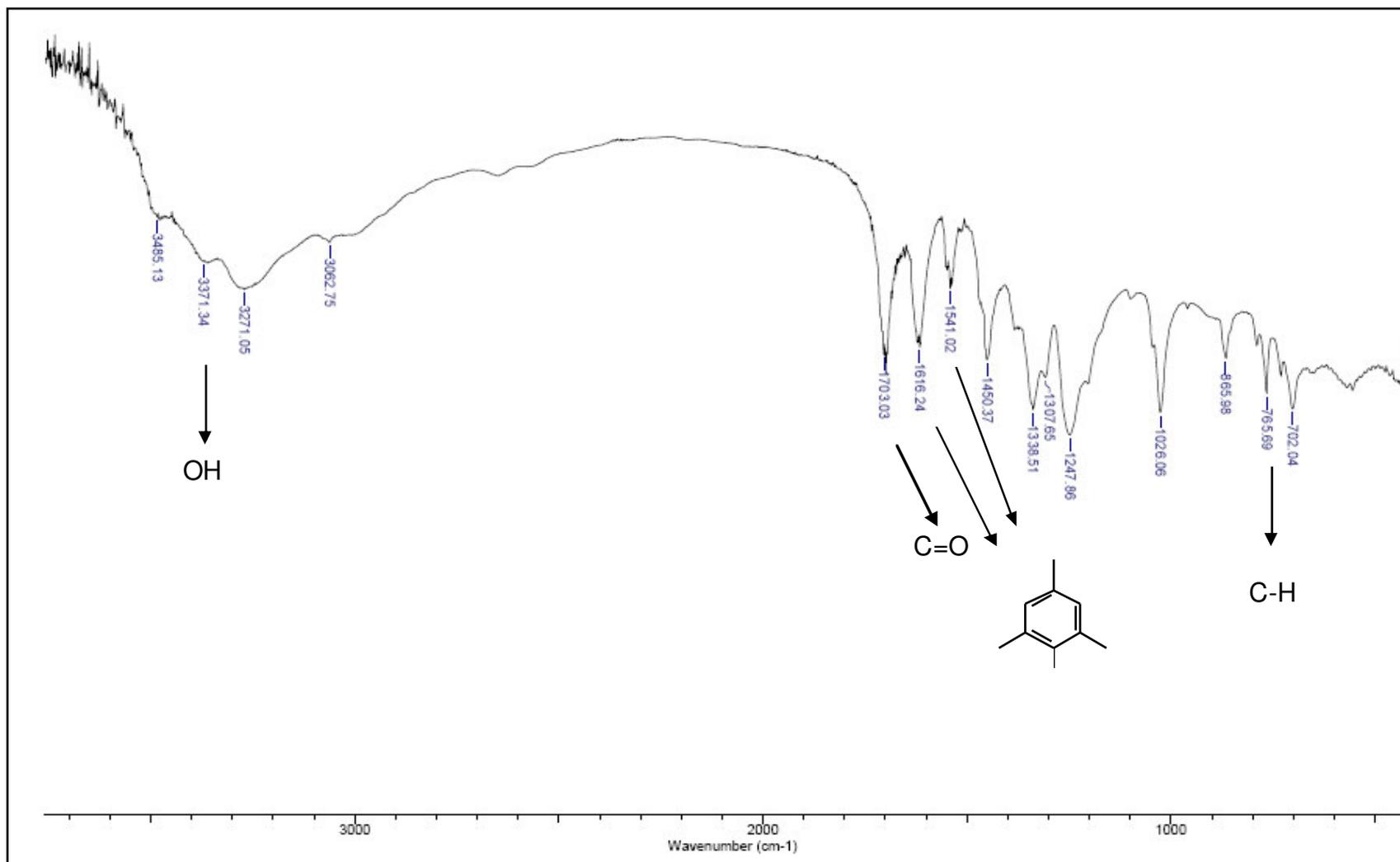


Figura 41. Espectro de IV da Substância STL-01.

4.3. Avaliações físico-químicas dos extratos

As avaliações físico-químicas dos extratos foram realizadas de forma a se garantir que referidos valores encontrados para a condutividade elétrica e pH não influenciassem no efeito alelopático das substâncias presentes nos extratos. Os valores encontrados mantiveram-se em uma faixa de 4,01-5,60 para valores de pH e menores que 3,6 μS para condutividade elétrica.

Em estudo realizado por Santos et al. (2008) em ensaios realizados com as substâncias friedelina e com a mistura friedelina e epifriedelinol não foram observadas diferenças na atividade alelopática, na faixa de pH de 3,0 a 9,0, sobre a germinação das sementes de malícia.

Quanto a valores relativos à condutividade elétrica, segundo Dardengo (2008), valores inferiores a $20\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ não são considerados prejudiciais à germinação de sementes.

4.4. Avaliações da atividade alelopática dos constituintes químicos polares de *S. terebinthifolius* in vitro

Segundo Macias et al. (2007), mesmo uma taxa mínima de inibição de 40% pode ser considerada de grande importância em termos de fitotoxicidade. Neste trabalho os resultados obtidos são promissores. Os ensaios realizados indicam que a espécie *S. terebinthifolius* apresenta uma ou mais substâncias em seus extratos com propriedades alelopáticas. Tais substâncias podem ser utilizadas como base para o desenvolvimento de novos produtos, levando-se em consideração a atividade apresentada.

O fracionamento do decocto permitiu ainda a avaliação das frações em acetato de etila e butanólica que também apresentaram atividade. Foi realizada comparação das atividades apresentadas pelos extratos e frações obtidas do decocto com o extrato metanólico, o que permite afirmar que os constituintes químicos polares da espécie *S. terebinthifolius* apresentam atividade alelopática. Extratos e frações polares já foram citados como portadores de atividade alelopática (Santos e Rezende, 2008). Classes de substâncias tais como taninos, flavonóides e ácidos fenólicos possuem atividade alelopática podendo apresentar efeitos diversos na promoção ou inibição da germinação de sementes de diferentes espécies ou cultivares (Alves, et al., 2003).

4.4.1. Avaliação da atividade alelopática frente a *Lactuca sativa* (alface) e *Bidens pilosa* (picão-preto) em termos qualitativos

Os extratos e frações foram submetidos à avaliação alelopática preliminar *in vitro*. A espécie *L. sativa* apresentou diferença significativa (Quadros 1B) entre os extratos nos parâmetros CPA, CR, BF, % G e IVG (Tabela 03).

Na avaliação do CPA o maior efeito na redução foi apresentado pelo decocto. O resultado foi equivalente à inibição obtida pela fração butanólica seguida pelo extrato metanólico e fração em acetato de etila, respectivamente.

O parâmetro CR foi inibido de forma expressiva pela fração butanólica que apresentou resultado equivalente à fração em acetato de etila; seguido do decocto e extrato metanólico, respectivamente.

A avaliação da BF mostrou que o decocto e a fração butanólica apresentaram maior influência na redução de biomassa seguida pela fração em acetato de etila. O extrato metanólico apresentou efeito equivalente ao apresentado pela testemunha.

O extrato metanólico foi o que apresentou maior inibição na % G das plântulas de alface. O IVG foi inibido de forma expressiva pela fração em acetato de etila, os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha.

A espécie *B. pilosa* mostrou diferença significativa (Quadros 2B) apenas nos parâmetros CR, %G e IVG (Tabela 04). Para o CR observou-se que o decocto e a fração em acetato de etila acarretaram inibição expressiva no comprimento das plântulas, seguido do extrato metanólico e da fração em acetato de etila.

A fração em acetato de etila e extrato metanólico apresentaram resultados referentes a inibição equivalentes para os parâmetros porcentagem de germinação (%G) das plântulas, seguidos do decocto e da fração butanólica.

Na avaliação do IVG observou-se que o decocto e a fração em acetato de etila levou a uma maior diminuição da velocidade de germinação das plântulas seguido da fração butanólica e do extrato metanólico. Para os parâmetros CPA, BS e BF não foi observada diferença estatística entre os tratamentos.

Observou-se que o decocto e a fração do decocto em acetato de etila foram os que apresentaram melhores resultados em relação à inibição dos parâmetros avaliados, tendo sido, portanto, escolhido para o início do fracionamento fitoquímico.

Os resultados corroboram com Souza et al. (2007), que verificaram atividade alelopática para a espécie *S. terebinthifolius*; o estudo foi realizado apenas com extratos fervidos e não fervidos sem avaliação de suas frações e extratos orgânicos; foram avaliados somente os parâmetros percentual germinação e índice de velocidade de germinação. A alelopatia foi descrita apenas em relação à espécie *L. sativa* não tendo sido relatado até o momento atividade em relação à espécie *B. pilosa*.

Tabela 3. Efeito da atividade alelopática de extratos brutos e frações de *S. terebinthifolius* frente à espécie *Lactuca sativa*

Tratamentos	CPA	CR	BF	BS	% G	IV G
H₂O	2,274 A	3,594 A	0,207 AB	0,010 A	98,35 A	75,982 A
Decocto	1,571 D	2,654 B C	0,184 B	0,0106 A	96,7 A B	73,005 A
AcOEt	1,926 B	2,435 C D	0,196 AB	0,010 A	93,3 A B C	63,84 B
BuOH	1,673 C D	2,263 D	0,183 B	0,011 A	94,975 B C	70,917 A
MeOH	1,866 B C	2,848 B	0,219 A	0,011 A	92,492 C	70,62 A

*Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan em nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 4. Efeito da atividade alelopática de extratos brutos e frações de *S. terebinthifolius* frente à espécie *Bidens pilosa*

Tratamentos	CPA	CR	BF	BS	% G	IV G
H₂O	2,415 A	2,474 A	0,044 A	0,003 A	72,475 A	40,417 A
Decocto	2,468 A	1,611 B	0,059 A	0,005 A	50,825 AB	23,767 C
AcOEt	2,585 A	1,490 B	0,04815 A	0,003 A	42,917 B	23,057 C
BuOH	2,820 A	1,890 A B	0,063775 A	0,004 A	59,900 AB	28,767 B C
MeOH	2,320 A	1,705 A B	0,064 A	0,005 A	69,975 B	31,845 B

*Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan em nível de 5 % de probabilidade.

4.4.2. Avaliação da atividade alelopática frente a *Lactuca sativa* (alface) *in vitro*

4.4.2.1. Avaliação da atividade alelopática do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Observou-se que de todos os parâmetros avaliados foram afetados pelo decocto de folhas de *S. terebinthifolius* (Quadro 3B) sendo, portanto influenciados pela ação dos aleloquímicos presentes. Os resultados obtidos corroboram com Silva e Silva (2007) no que se refere à ação alelopática de substâncias oriundas de extratos polares. Tais metabólitos já foram evidenciados como responsáveis pela atividade alelopática em diversos trabalhos. Ácidos fenólicos foram avaliados quanto à atividade alelopática, sendo consideradas substâncias alelopáticas descritas como herbicidas naturais (Santos e Rezende, 2008).

Os parâmetros CPA (Figura 42), BF (Figura 44) e BS (Figura 45) foram estimulados inicialmente quando submetido a baixas concentrações do extrato. No conceito de alelopátia estão embutidos dois tipos de efeitos, que são os inibitórios e estimulatórios. Os efeitos estimulatórios podem estar relacionados à concentração, manifestando-se principalmente em condições de baixas concentrações (Benilelo et al., 2008).

Em estudo realizado por Rizzardi et al. (2008), observaram que a baixas concentrações de extratos estimularam tanto o crescimento da radícula quanto a porcentagem de germinação dos aquênios; em altas concentrações, os genótipos não diferiram na germinação dos aquênios e no comprimento da radícula. A concentração dos extratos submetidos à avaliação alelopática pode diferir em relação aos efeitos causados pela concentração de extratos e espécies avaliadas (Ferreira e Áquila, 2000). Extratos de falso-boldo, tiririca, babosa e açoita-cavalo, estimularam o crescimento de plântulas de alface, sugerindo a presença de compostos bioestimuladores nestes extratos (Mairesse, et al., 2007). Efeitos de estímulo na primeira contagem de germinação também foram observados em concentrações mais baixas e inibição à medida que se aumentava a concentração de extrato. Isto sugere que as menores concentrações não são fitotóxicos e que tal efeito somente aparece em concentrações mais altas (Hoffmann et al., 2007)

Os parâmetros CR (Figura 43), %G (Figura 46) e IVG (Figura 47) foram inibidos com o aumento da concentração dos extratos. Tal comportamento é esperado visto que com o aumento da concentração uma maior quantidade de substâncias químicas entra em contato com as plântulas. Segundo Oliveira Jr. e Constantin (2001), a atividade biológica destes produtos depende da concentração da substância, pois um composto que apresenta toxidez a uma espécie vegetal pode ser inócuo à outra.

Os resultados corroboram com Rosa et al. (2007), que observaram em seu trabalho efeito evidente na porcentagem de germinação e comprimento de raiz; porém, todos os parâmetros avaliados foram sensíveis aos extratos de leucena. A concentração de 100% de extrato apresentou maior tempo e, portanto menor velocidade de germinação. Observou-se também diferença acentuada no comprimento de raiz em relação à testemunha, independente da concentração do extrato.

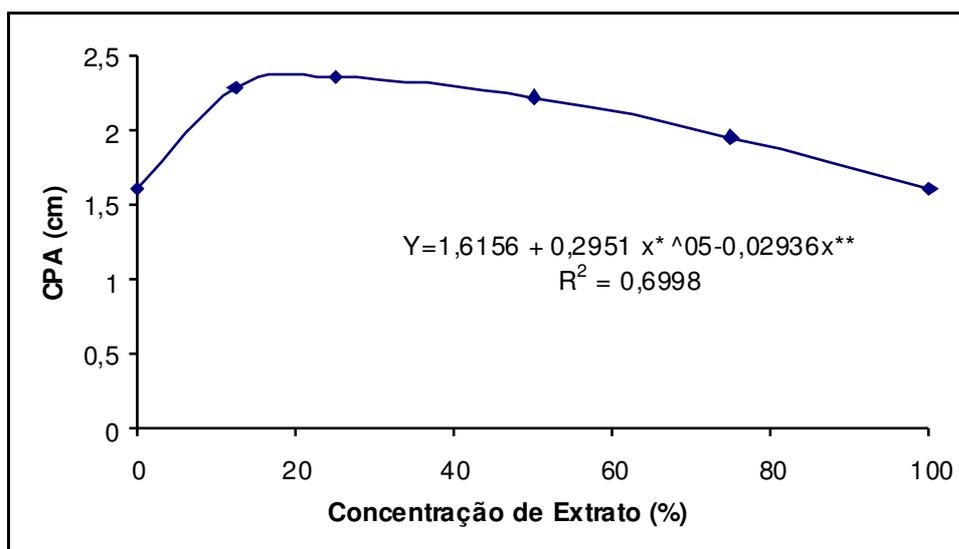


Figura 42. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa*.

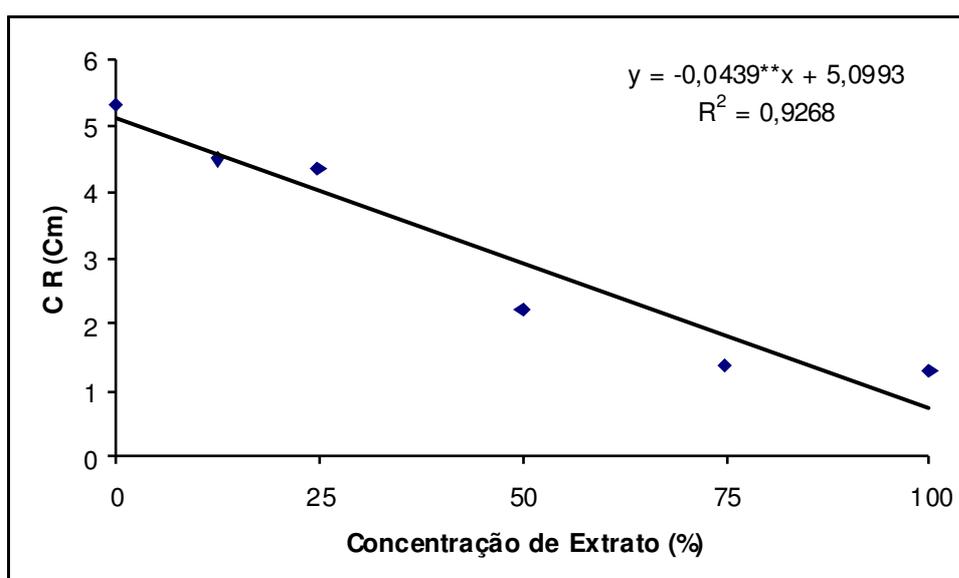


Figura 43. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa*.

*significativo a 5% de probabilidade pelo teste "t"

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste "t"

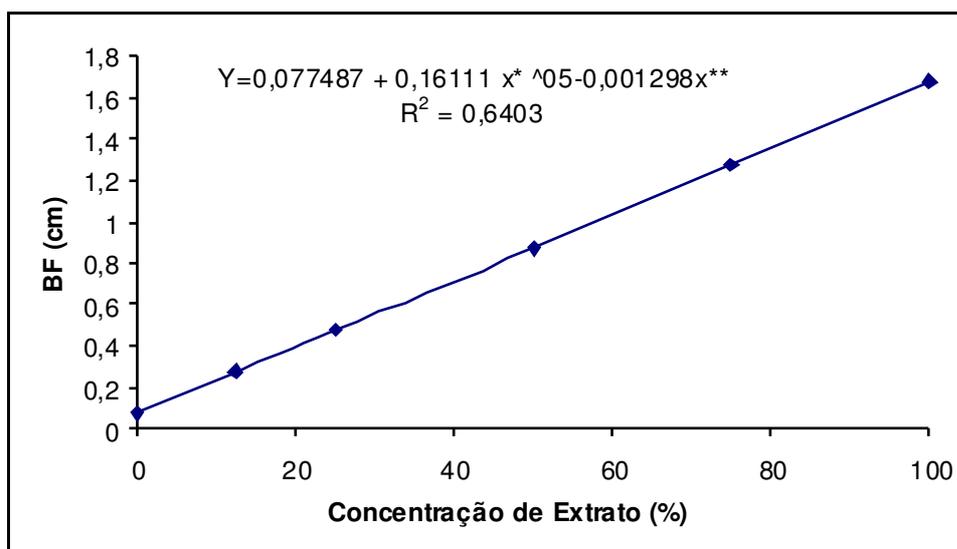


Figura 44. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *L. sativa*.

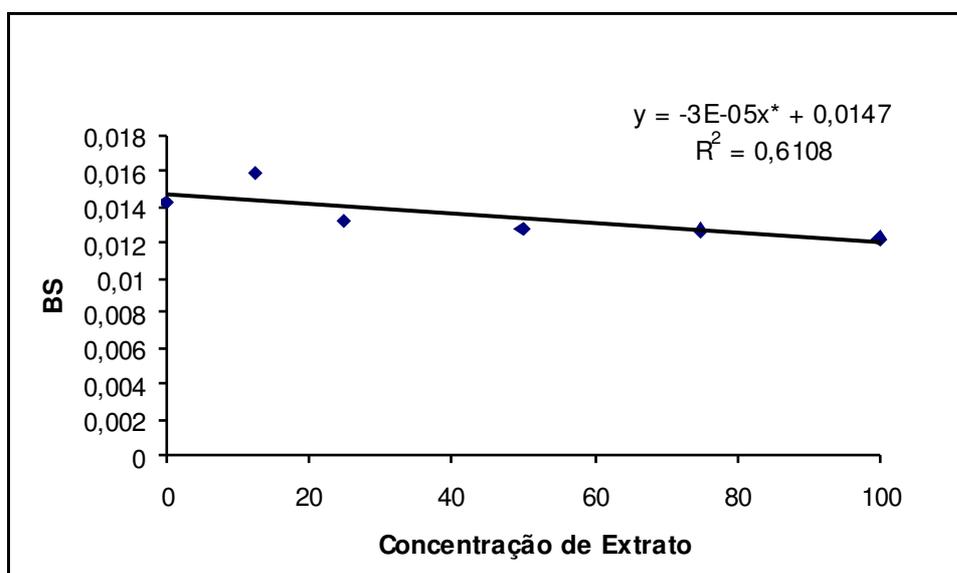


Figura 45. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BS de *L. sativa*.

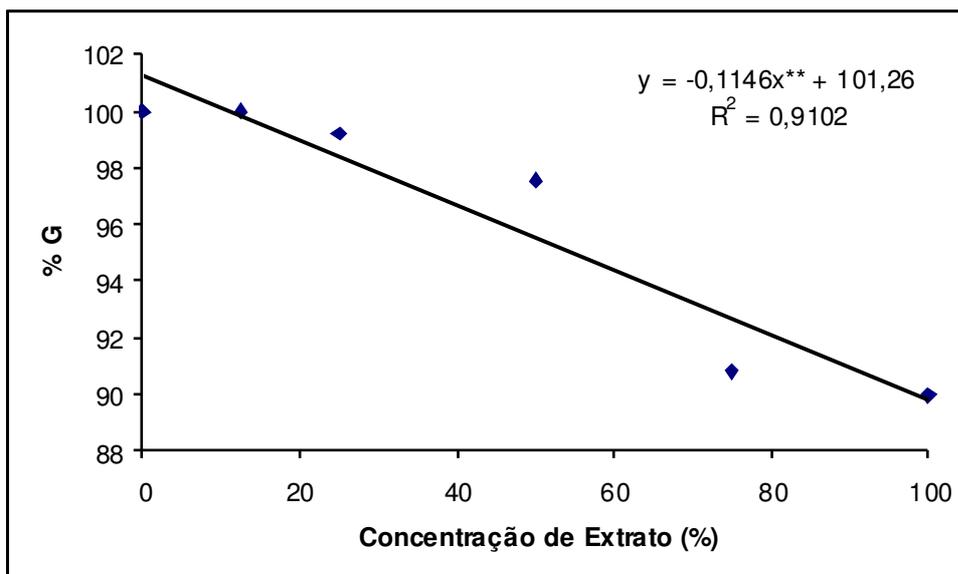


Figura 46. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a % G de *L. sativa*.

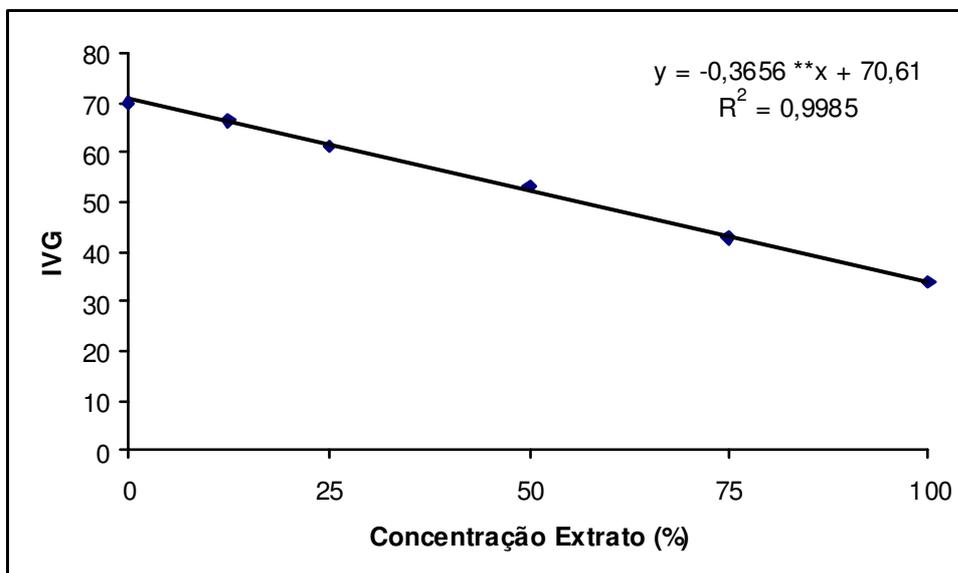


Figura 47. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a IVG de *L. sativa*.

4.4.2.2. Avaliação da atividade alelopática da fração em acetato de etila do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

4.4.2.2.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E₁)

A atividade alelopática da fração em acetato de etila (E₁) mostrou-se significativa (Quadro 4B) para os parâmetros CPA (Figura 48), CR (Figura 49) e %G (Figura 50). Os parâmetros IVG e BS apesar de significativos estatisticamente não se ajustaram a modelos de regressão.

Observou-se que os parâmetros CPA e CR ajustaram-se ao modelo quadrático; havendo inibição no comprimento das plântulas à medida que a concentração da fração foi aumentada. Observou-se o ponto de inibição máximo em 7,2 mg/L para o CPA, 6,5 mg/L para o comprimento de raiz. O % G ajustou-se ao modelo linear, foi observada inibição com aumento da concentração da fração.

Os resultados corroboram com Borges et al. (2007) em estudo realizado com neolignanas isoladas de *Virola surinamensis*, comprovaram a inibição da germinação de sementes em função da concentração e da substância avaliada. Observaram ainda, que independente da substância avaliada o desenvolvimento da radícula apresentou maior inibição em comparação com percentual de germinação.

Por apresentar compostos polares, a atividade alelopática da fração em acetato de etila já era esperada, sendo necessários ajustes em relação à concentração avaliada. Belineto et al. (2008) comprovaram por meio de testes de germinação e crescimento radicular que à medida que se aumenta a polaridade dos solventes, ou seja, são extraídos compostos mais polares, com a presença de grupos carboxilas e hidroxilas, o efeito de inibição para o sorgo foi acentuado. Dentre os compostos polares, os fenólicos e derivados correspondem à classe de metabólitos secundários, na qual se concentra a maior parte dos compostos apontados como tendo atividade alelopática, sendo considerados aleloquímicos desde fenóis simples até taninos de estrutura complexa.

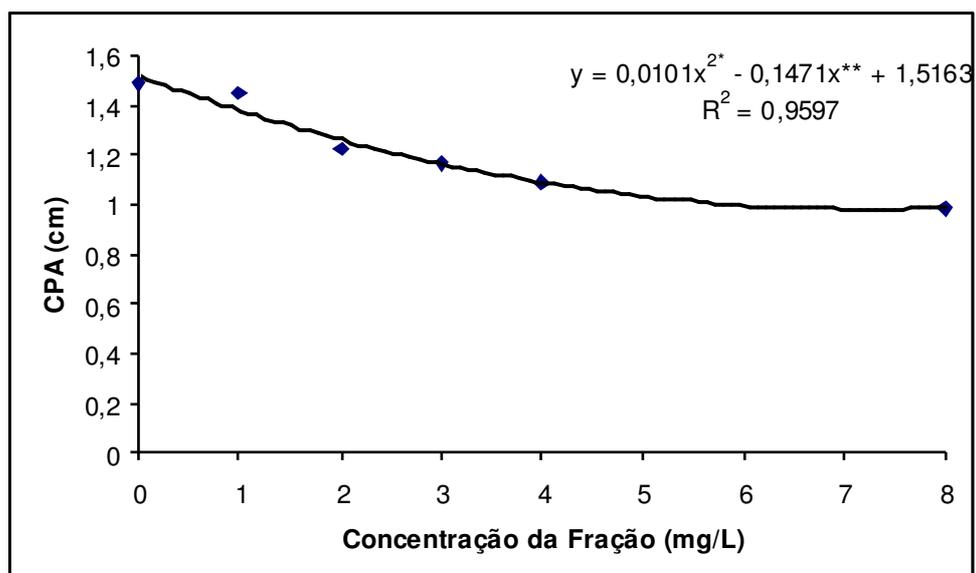


Figura 48. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa*.

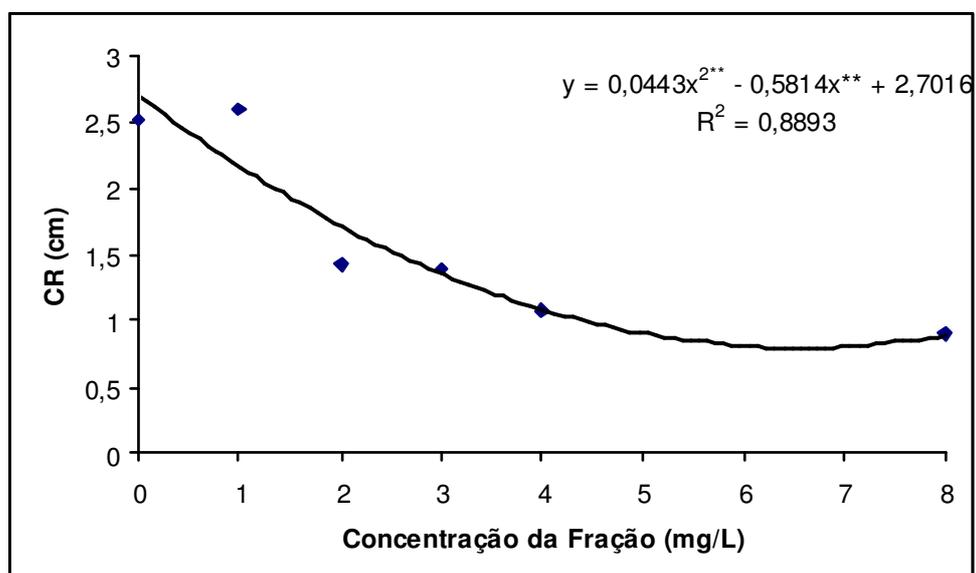


Figura 49. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa*.

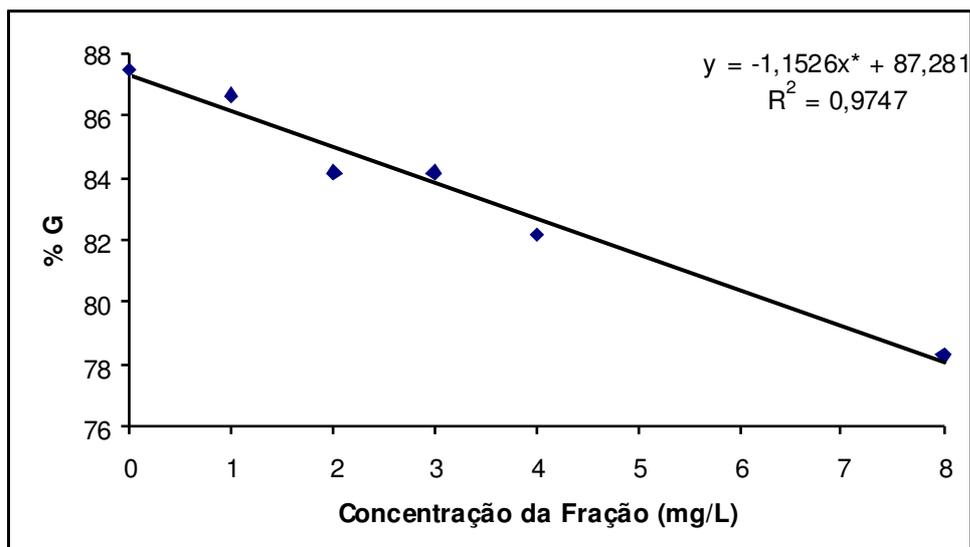


Figura 50. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %G de *L. sativa*.

4.4.2.2.2. Avaliação das concentrações de 0; 12,5; 25; 50; 100 e 200 mg/L (E_2)

Neste ensaio apenas os parâmetros CPA (Figura 51) e % G (Figura 52) foram significativos estatisticamente (Quadro 5B).

Observou-se para CPA inibição linear à medida que se aumentou a concentração da fração; o mesmo ocorreu com o %G, porém, o mesmo se ajustou ao modelo quadrático havendo diminuição no efeito da inibição a partir da concentração 140,9mg/L.

Embora os outros parâmetros avaliados também tenham sido afetados, tal interação ocorreu de forma menos expressiva, os parâmetros avaliados se encontravam bem próximos dos níveis de significância, porém não foram considerados significativos estatisticamente. O parâmetro BF embora tenha sido considerado significativo não se ajustou a modelos de regressão.

Considerando que os parâmetros avaliados tenham sido afetados significativamente pela concentração dos extratos os resultados obtidos corroboram com os apresentados pelo experimento 01 (E_1) da fração em acetato de etila, porém em menor intensidade, indicando que as substâncias presentes no extrato devem apresentar concentração ótima para inibição do crescimento.

Estudos já evidenciaram que uma mesma substância pode agir de forma diferente dependendo da concentração da mesma (Belineto et al., 2008). Assim, o conhecimento dos efeitos alelopáticos de variadas substâncias é muito importante para se entender as interações entre espécies de plantas tanto em ecossistemas naturais como agrícolas. O efeito na relação entre extrato e concentração pode ser maior quanto maior for seu efeito de inibição (Silva, et al., 2006).

Em estudo realizado por Mairesse et al. (2007) foi avaliada a bioatividade de diversos extratos vegetais sobre alface (*L. sativa*), resultados com extratos de caruru, murta, chá-de-bugre e grevilha-anã promoveram redução drástica na germinação das sementes. Extratos de capuchinho, pariparoba, hortelã-pimenta, pata-de-vaca, favia, salvia-da-gripe, terramicina e pinus impediram totalmente a inibição das sementes impedindo que os demais caracteres fossem avaliados. Extratos de jambolão, fumo-bravo e chá-de-bugre inibiram o crescimento de plântulas de alface.

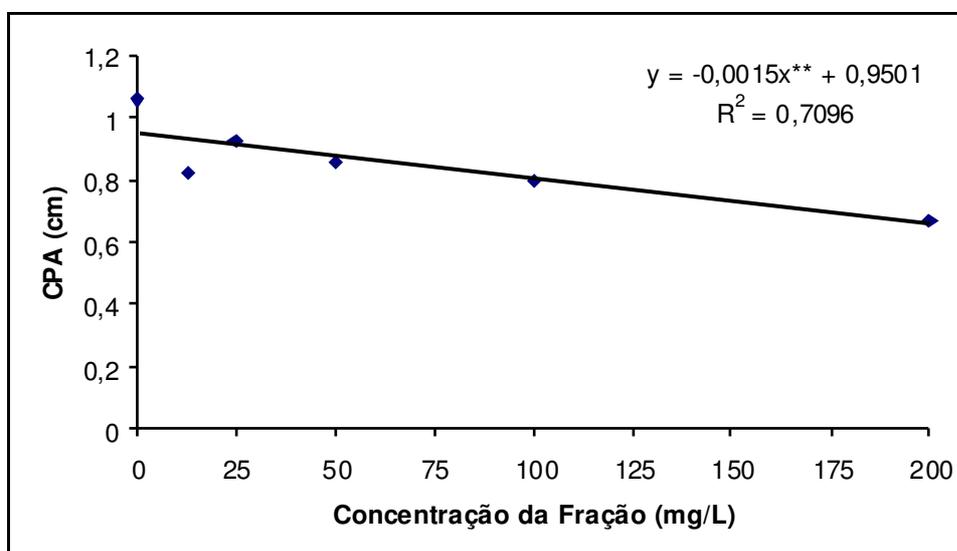


Figura 51. Efeito da fração em acetato de etila (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa*.

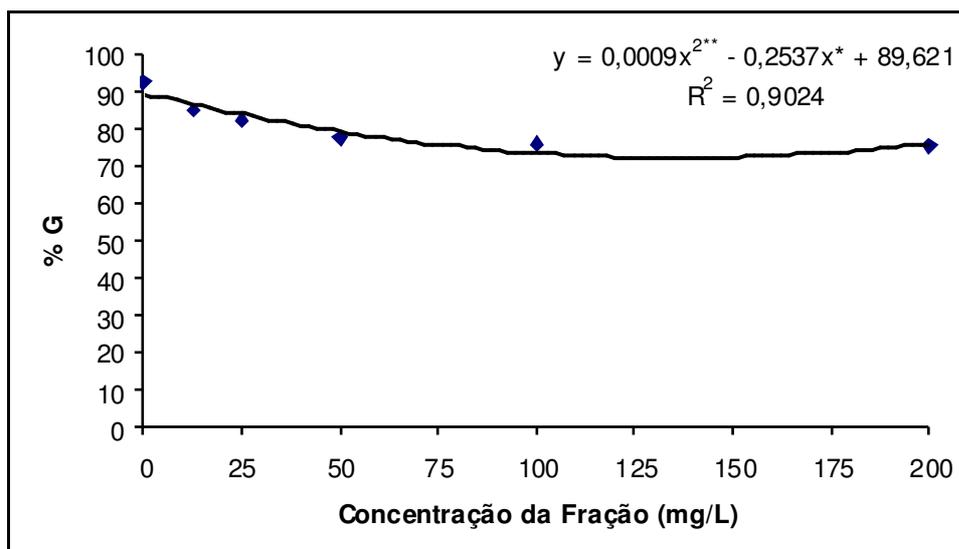


Figura 52. Efeito da fração em acetato de etila (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %G de *L. sativa*.

4.4.2.3. Avaliação da atividade alelopática da fração butanólica do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

4.4.2.3.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E_1)

Neste ensaio apenas os parâmetros BF e BS não foram significativos (Quadro 6B). Observou-se uma inibição no CPA (Figura 53), CR (Figura 54), %G (Figura 55) e IVG (Figura 56) à medida que aumentou a concentração do extrato, comprovando a presença de substâncias aleloquímicas nos mesmos. Os parâmetros CPA e IVG se ajustaram a modelo quadrático apresentando maior efeito inibitório a concentração de 6,6 mg/L.

Tais resultados corroboram com Souza-Filho et al. (2005), que em estudo realizado com o aleloquímico produzido por uma gramínea observaram maior sensibilidade ao alongamento da radícula em relação à germinação das sementes. Tal efeito foi atribuído à presença do ácido *p*-cumárico. Outros parâmetros tais como o comprimento de parte aérea, biomassa seca, biomassa seca e índice de velocidade de germinação não foram citados neste trabalho.

Os mesmos autores (Souza-Filho et al., 2005) em estudo realizado com folhas de *Tachigali mymecophyla* comprovaram sua atividade alelopática. Os resultados foram atribuídos à substância 4,5- diidroblumentol. Variações

observadas na intensidade dos efeitos foram atribuídas aos fatores concentração da substância e espécie invasora. A atividade biológica de determinado aleloquímico está associada tanto à concentração como ao limite da resposta da espécie afetada. A inibição variou positivamente em função do aumento da concentração da substância, embora estes não tenham sido correspondidos em alguns casos, a diferenças significativas.

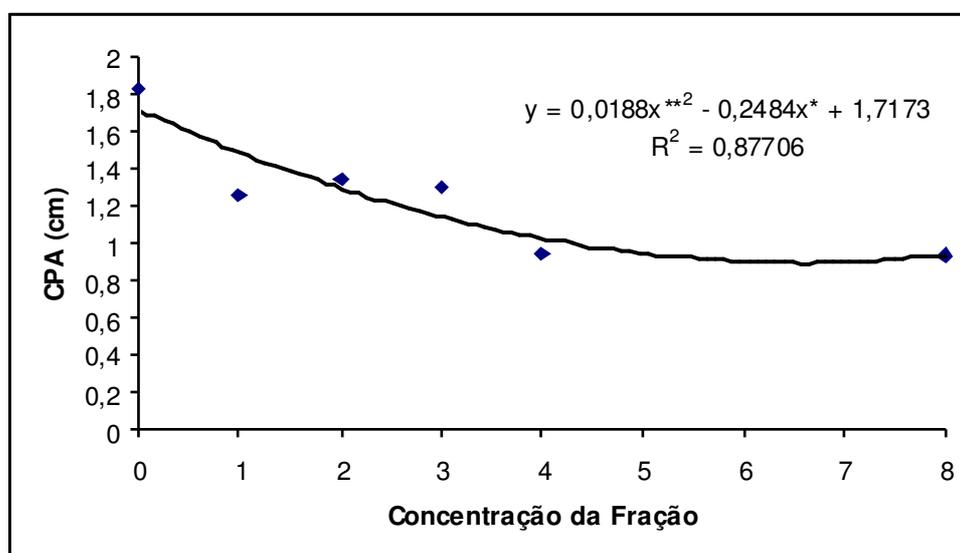


Figura 53. Efeito da fração butanólica (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa*.

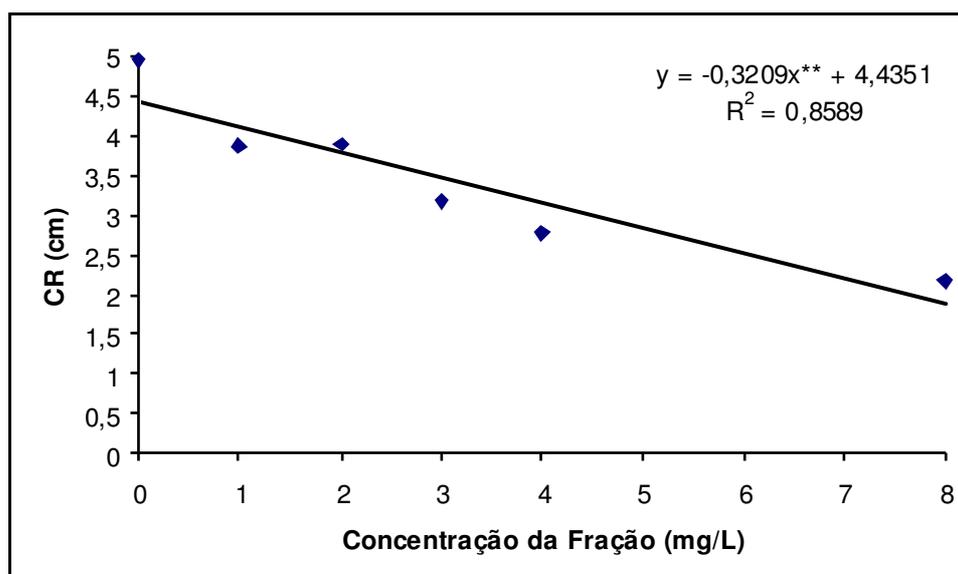


Figura 54. Efeito da fração butanólica (E₁) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa*.

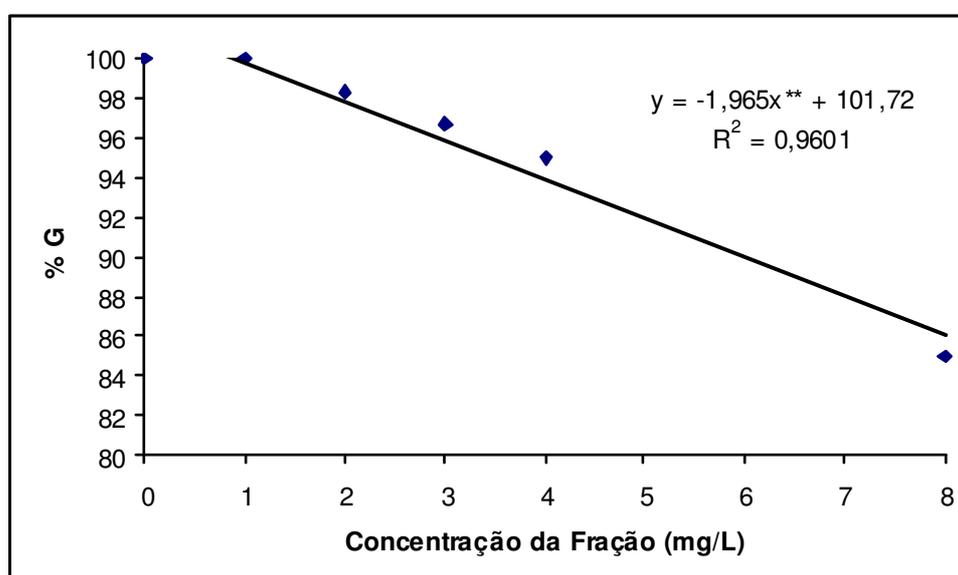


Figura 55. Efeito da fração butanólica (E₁) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %G de *L. sativa*.

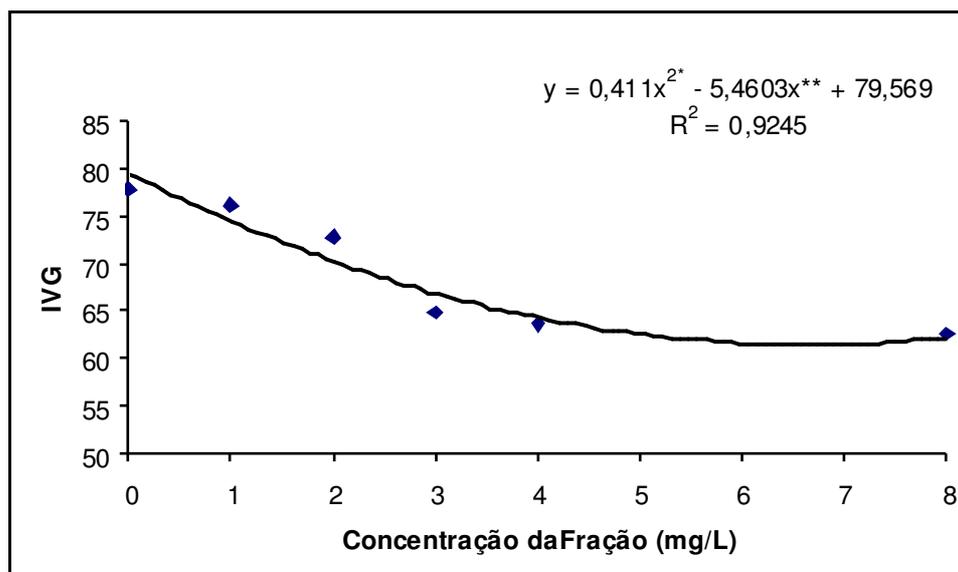


Figura 56. Efeito da fração butanólica (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o IVG de *L. sativa*.

4.4.2.3.2. Avaliação das concentrações de 0; 12,5; 50; 100 e 200 mg/L (E_2)

Observou-se neste ensaio que apenas os parâmetros BF (Figura 57), %G (Figura 58) e IVG (Figura 59) foram afetados significativamente pelos tratamentos (Quadro 7B), havendo inibição à medida que se aumentou a concentração da fração. Para os parâmetros BF e IVG observou-se diminuição no efeito de inibição a partir da concentração de 200mg/L e 150,3mg/L, respectivamente.

Estudos vêm ressaltando o efeito inibitório em relação à concentração e disponibilidade de substância disponível em contato com as espécies avaliadas (Pires et al., 2001).

Deve-se considerar, porém, que a germinação foi tida como menos sensível aos aleloquímicos que o crescimento da plântula. Neste contexto substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais. Portanto, estudos devem ser realizados para que a proporção entre o aleloquímico presente e o material biológico avaliado seja adequado (Ferreira e Áquila, 2000).

Os resultados corroboram com Souza et al. (2005), que observaram inibição da %G e do IVG à medida que se aumentava a concentração do extrato aquoso de espinheira-santa. Relatam ainda a presença de taninos em suas

folhas; os mesmos possuem propriedade de se ligar a proteínas, formando precipitados irreversíveis, atuando como bactérias nitrificadoras, acarretando efeito alelopático direto no solo.

Em estudo realizado por Tokuhsa et al. (2007) constaram redução significativa na germinação e no comprimento da raiz primária de plântulas de alface com aumento da concentração do extrato de sarcotesta de sementes de mamão, indicando efeito inibitório dos extratos na germinação das sementes de alface. Estes resultados reforçam que, compostos inibidores, provavelmente fenóis, presentes nas sarcotestas, influenciaram o processo germinativo de alface com aumento do efeito inibitório diretamente proporcional à concentração do extrato.

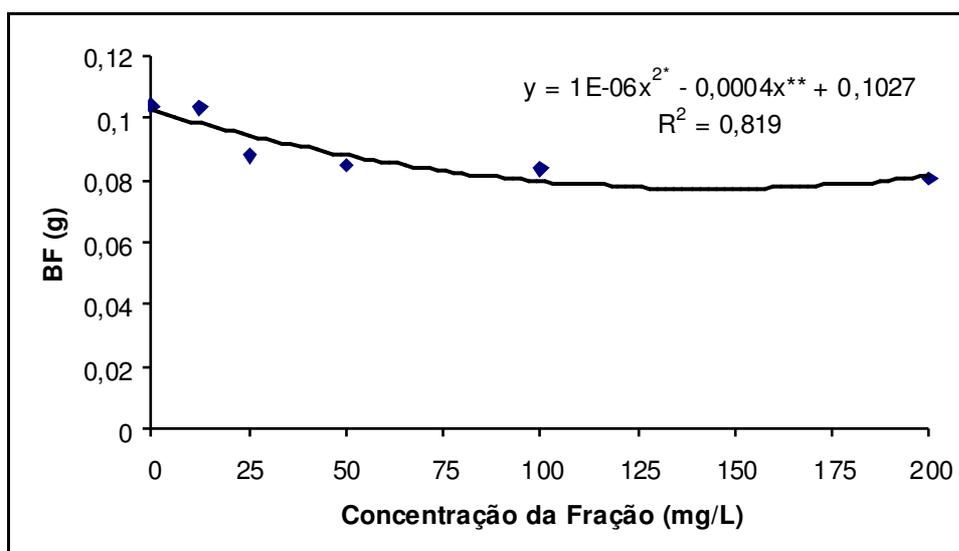


Figura 57. Efeito da fração butanólica (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *L. sativa*.

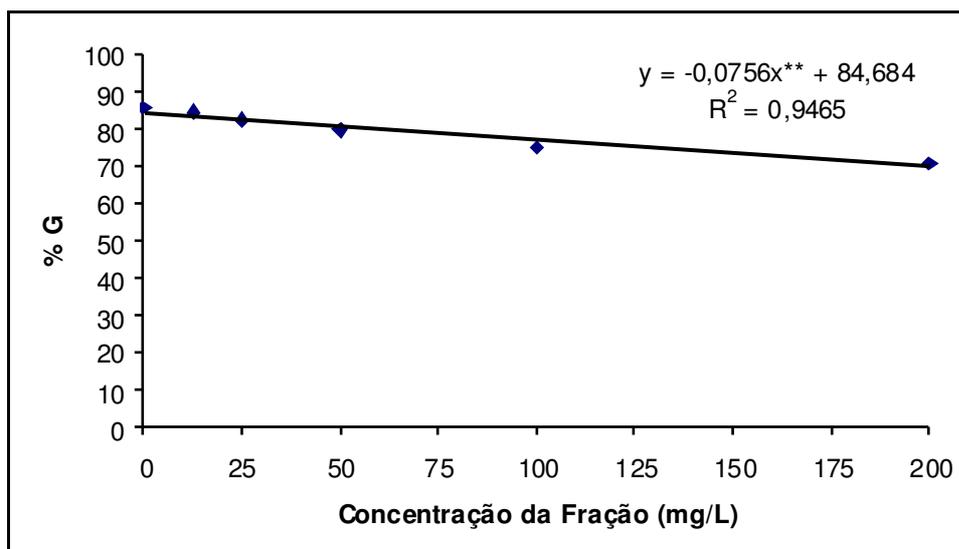


Figura 58. Efeito da fração butanólica (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %G de *L. sativa*.

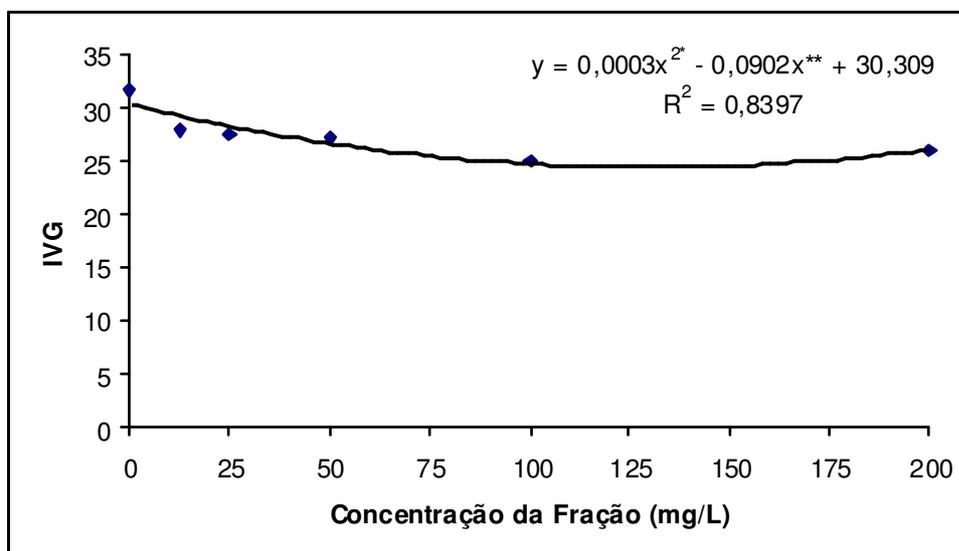


Figura 59. Efeito da fração butanólica (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o IVG de *L. sativa*.

4.4.3. Avaliação da atividade alelopática frente a *L. sativa* (Alface) *in vivo*

Após os testes em laboratório torna-se necessário uma avaliação da atividade alelopática em ambiente mais próximo das condições reais encontradas, sendo os ensaios em casa-de-vegetação um passo posterior à avaliação *in vitro*. Os ensaios realizados neste trabalho foram conduzidos com as mesmas concentrações avaliadas no laboratório para comparação dos resultados obtidos.

4.4.3.1. Avaliação da atividade alelopática do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Neste ensaio foram afetados significativamente pelos tratamentos os parâmetros CPA (Figura 60), CR (Figura 61), BF (Figura 62), % E (Figura 63) e IVE (Figura 64) (Quadro 8B). Todos os parâmetros avaliados sofreram inibição à medida que se aumentou a concentração do extrato. Para os parâmetros CR observou-se diminuição no efeito de inibição do extrato a partir da concentração de 50% do decocto.

Os parâmetros CPA, %E e IVE sofreram inibição linear à medida que houve aumento na concentração dos extratos. Os parâmetros CR e BF sofreram maior efeito inibitório a partir das concentrações e 75 mg/L e 84,75mg/L, respectivamente.

Os resultados obtidos corroboram com Lima e Moraes (2008) em estudo realizado com a espécie *Ipomea fistulosa*, nos ensaios em casa-de-vegetação observou-se que houve redução significativa na altura das plântulas, do número de folhas, da biomassa seca, da parte aérea e da raiz das plântulas em relação à testemunha com o aumento da concentração dos extratos avaliados.

Em estudo realizado por Pires et al. (2001) em casa-de-vegetação após um período de sete dias, as espécies daninhas caruru e picão-preto apresentaram maior sensibilidade aos efeitos do extrato do que a espécie desmódio, verificando que o efeito do extrato variou em função da espécie em estudo e da concentração do extrato. As concentrações de 50 e 100% foram as mais prejudiciais ao desenvolvimento das plântulas, observando-se redução no crescimento das plântulas e deformação do limbo foliar das espécies picão-preto e caruru.

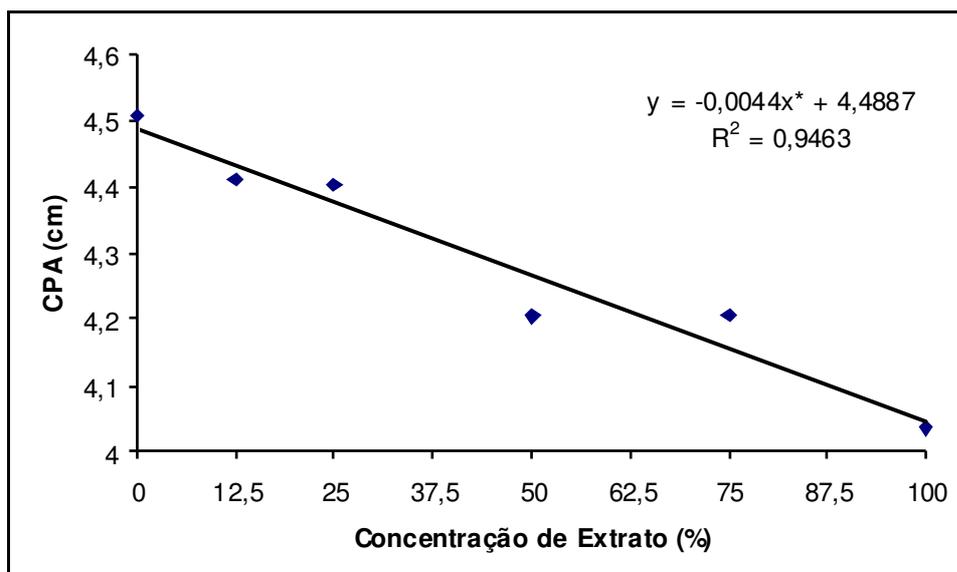


Figura 60. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa in vivo*.

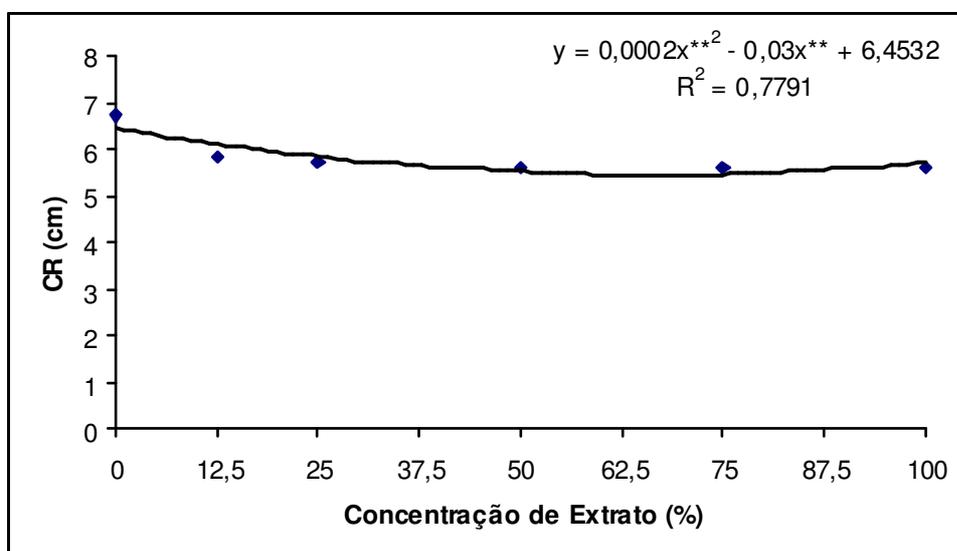


Figura 61. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa in vivo*.

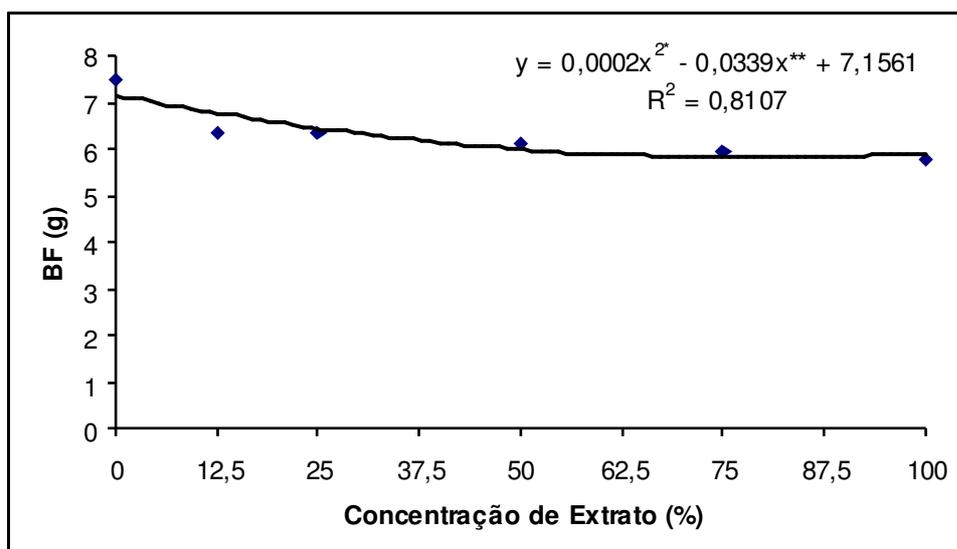


Figura 62. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *L. sativa in vivo*.

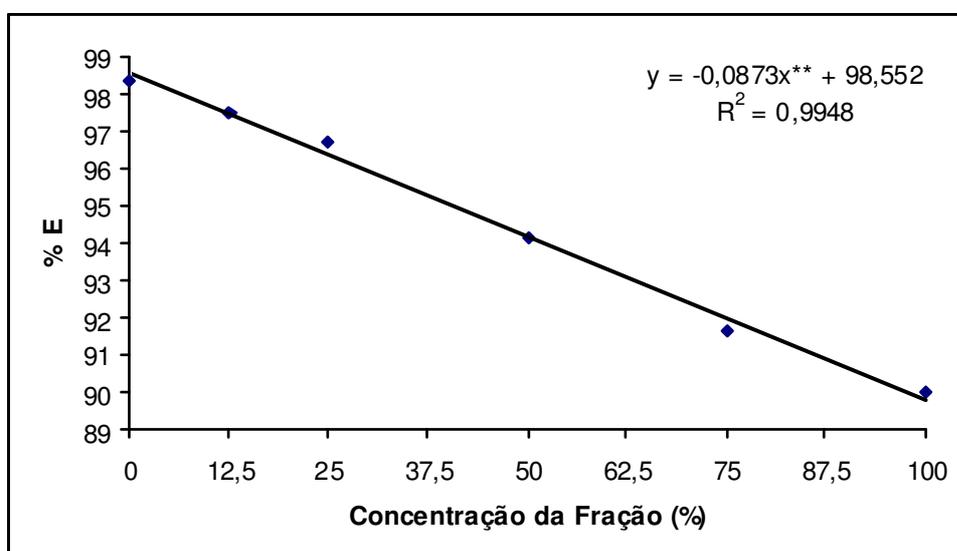


Figura 63. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %E de *L. sativa in vivo*.

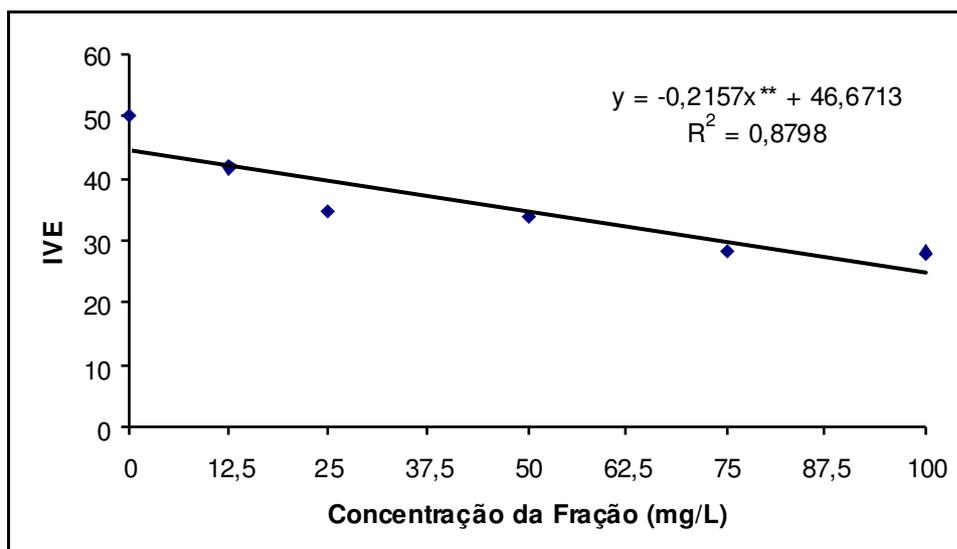


Figura 64. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o IVG de *L. sativa in vivo*.

4.4.3.2. Avaliação da atividade alelopática da fração em acetato de etila do decocto das folhas de *Schinus terebinthifolius*

4.4.3.2.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E_1)

De todos os parâmetros avaliados o CPA (Figura 65), CR (Figura 66), % E (Figura 67) e IVE (Figura 68) foram considerados significativos estatisticamente (Quadro 9B). Observou-se em todas as avaliações inibição com aumento da concentração da fração avaliada. O parâmetro CPA sofreu diminuição no efeito de inibição a partir da concentração 5,33mg/L. Embora tenham sofrido influência dos tratamentos os parâmetros BS e BF não foram considerados significativos estatisticamente.

Efeitos semelhantes foram encontrados por Dardengo (2008), que em trabalho realizado com avaliações em casa-de-vegetação verificou inibição linear no índice de velocidade de emergência de sementes de alface submetidas à ação de extratos de alfavaca e capim-limão. Observou ainda, redução na germinação e influência no crescimento das mesmas à medida que houve aumento na concentração dos extratos. Em relação à espécie *B. pilosa* relatou redução no

comprimento da parte aérea e de raízes, à medida que se aumentou a concentração dos extratos de capim-limão e alfavaca.

Andrade et al. (2003) observaram efeitos semelhantes ao encontrado neste trabalho em estudo realizado com flores de *Accacia podalyriaefolia*. O estudo da fração em acetato de etila apresentou efeito alelopático significativo. Plântulas anormais com necrose da radícula foram observadas nos ensaios com as frações em diclorometano e acetato de etila. Os resultados obtidos nos testes de germinação e crescimento indicaram a presença de aleloquímicos nesta fração provavelmente devido à presença de compostos fenólicos e flavonóides detectados através de *screening* fitoquímico.

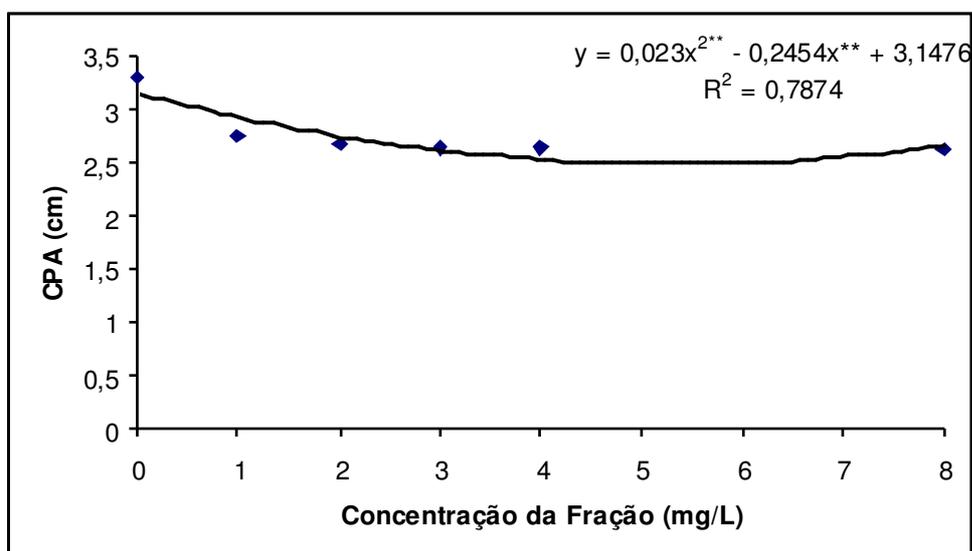


Figura 65. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa in vivo*.

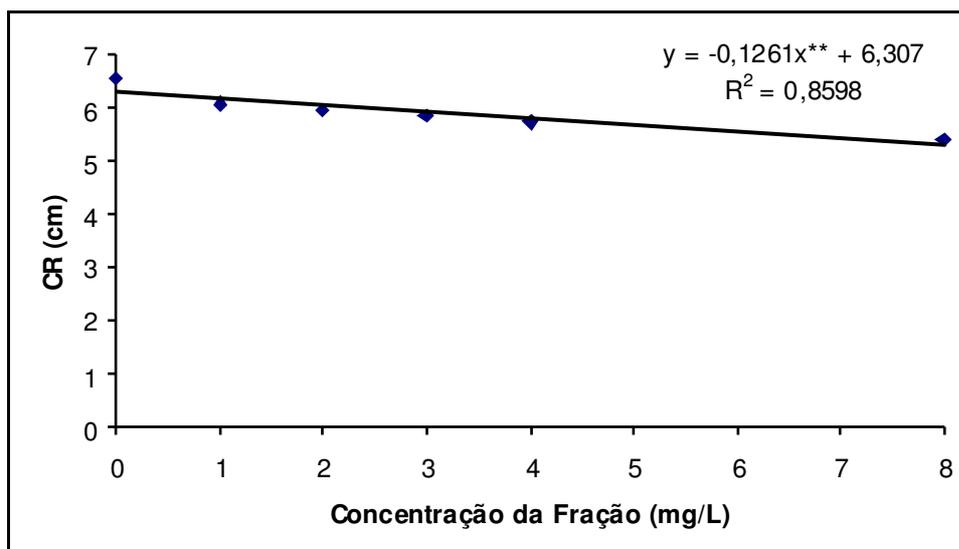


Figura 66. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa in vivo*.

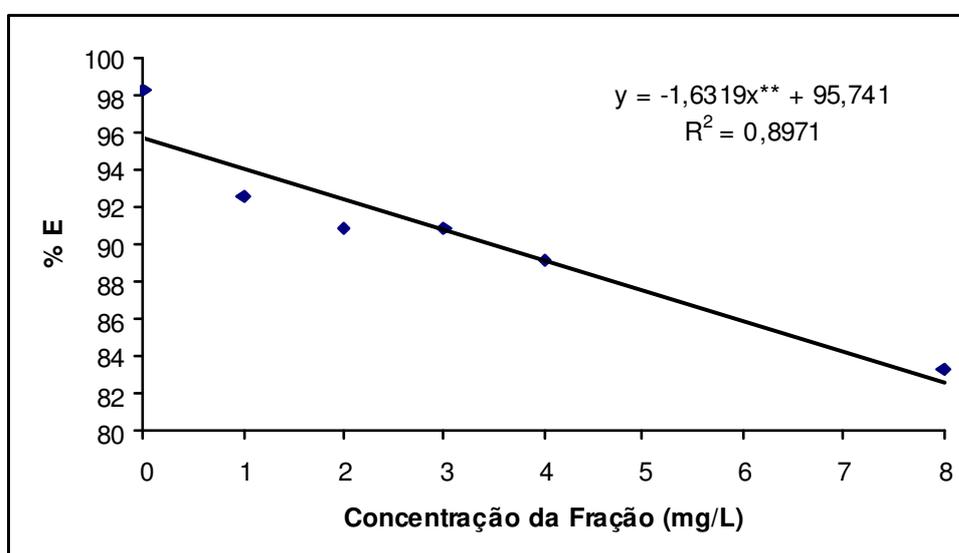


Figura 67. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %E de *L. sativa in vivo*.

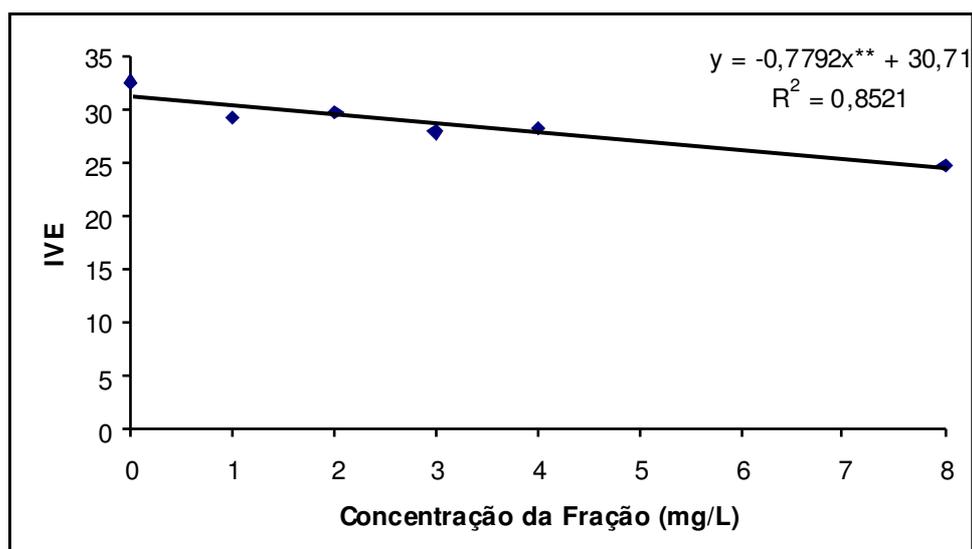


Figura 68. Efeito da fração em acetato de etila (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o IVE de *L. sativa in vivo*.

4.4.3.2.2. Avaliação das concentrações de 0; 12,5; 50; 100 e 200 mg/L (E_2)

Todos os parâmetros avaliados nesse ensaio foram considerados significativos estatisticamente (Quadro 10B). Observou-se a inibição linear do CPA (Figura 69), CR (Figura 70), BF (Figura 71), BS (Figura 72) e % E (Figura 73) em função do aumento da concentração da fração. O IVG também foi inibido com aumento da concentração da fração, porém não se ajustou ao modelo de regressão.

Tais resultados corroboram com Camo et al. (2007), que em estudo realizado com extratos aquosos de canela sassafrás indicam que os efeitos inibitórios sobre a germinação de plantas, desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea de *Sorghum bicolor* se deram devido à presença de terpenos, flavonóides, saponinas e taninos previamente identificados nessa espécie. Os compostos fenólicos estão implicados na inibição da germinação de sementes e no estabelecimento de comunidades vegetais; podem ser responsáveis ainda por efeitos inibitórios sobre o desenvolvimento radicular e da parte aérea das espécies. Influências na biomassa seca e fresca sugerem que as substâncias extraídas podem estar atuando sobre a permeabilidade das membranas e/ou balanço hídrico e aquisição de nutrientes pelo sistema radicular.

Em estudo realizado por Wandscheer e Pastorini (2008) demonstraram inibição do percentual de germinação, IVG e comprimento radicular de plântulas de alface. No processo de germinação, juntamente com a água, podem penetrar substâncias alelopáticas capazes de inibir ou retardar a multiplicação ou crescimento de células, podendo também retardar a germinação.

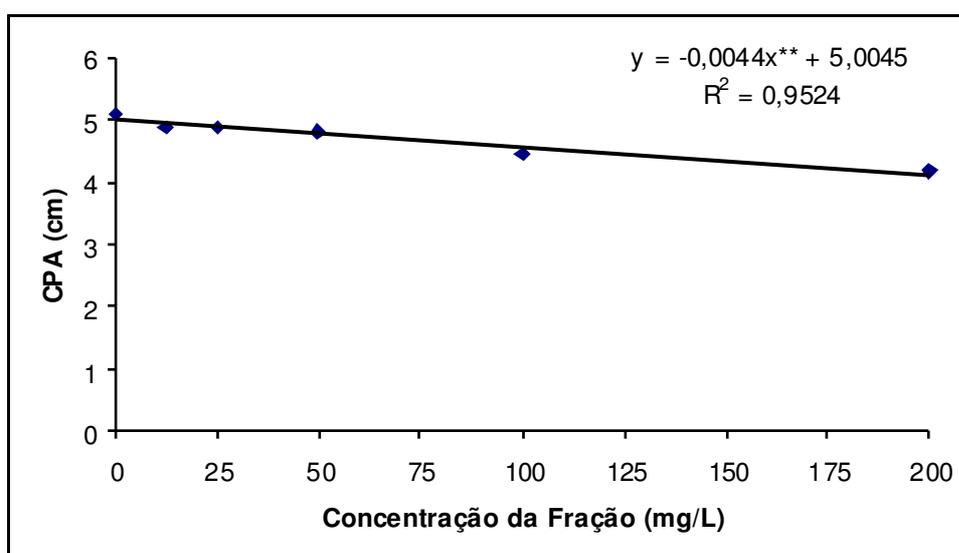


Figura 69. Efeito da fração em acetato de etila (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa in vivo*.

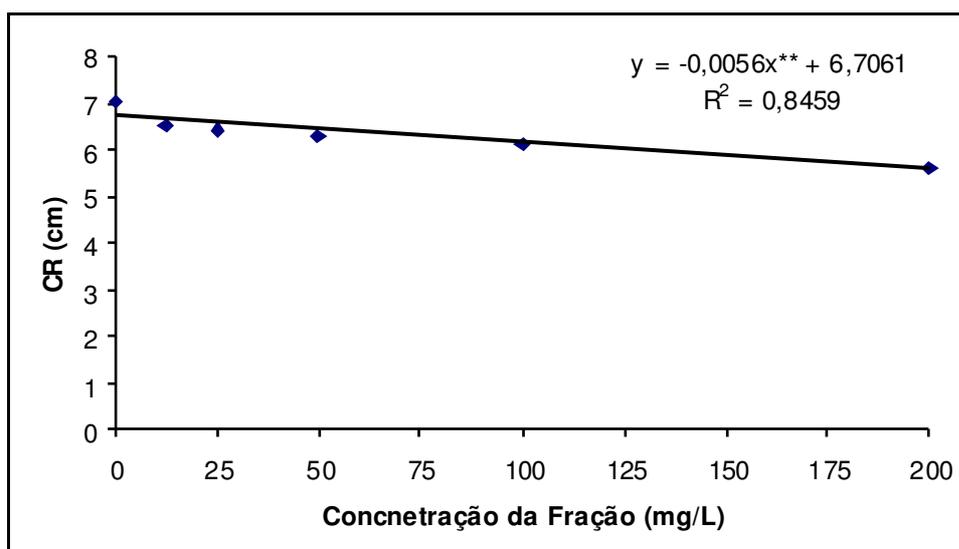


Figura 70. Efeito da fração em acetato de etila (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa* in vivo.

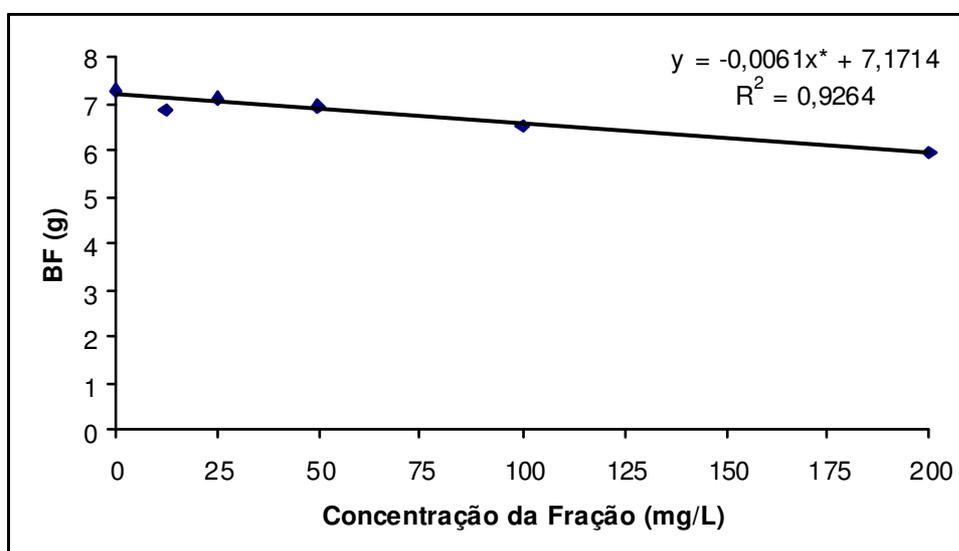


Figura 71. Efeito da fração em acetato de etila (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *L. sativa* in vivo.

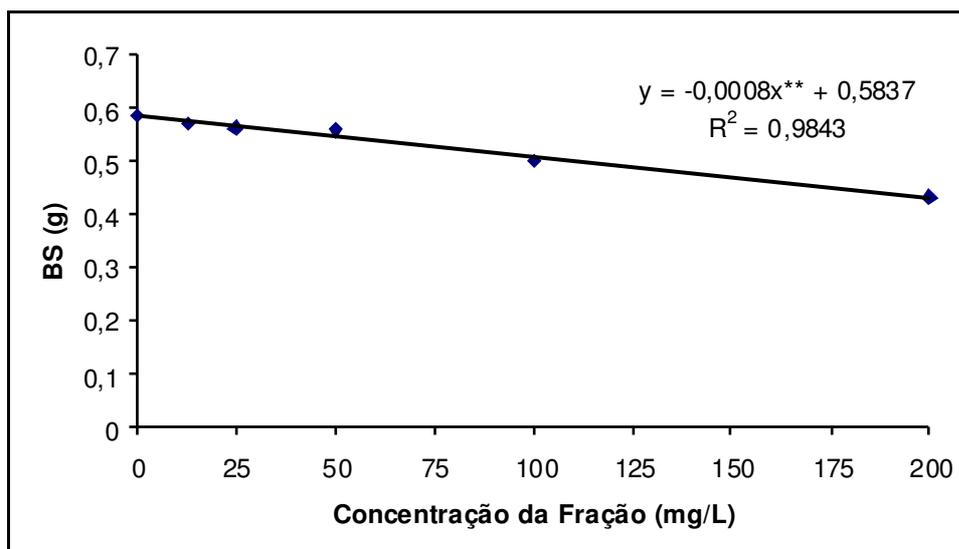


Figura 72. Efeito da fração em acetato de etila (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BS de *L. sativa* *in vivo*.

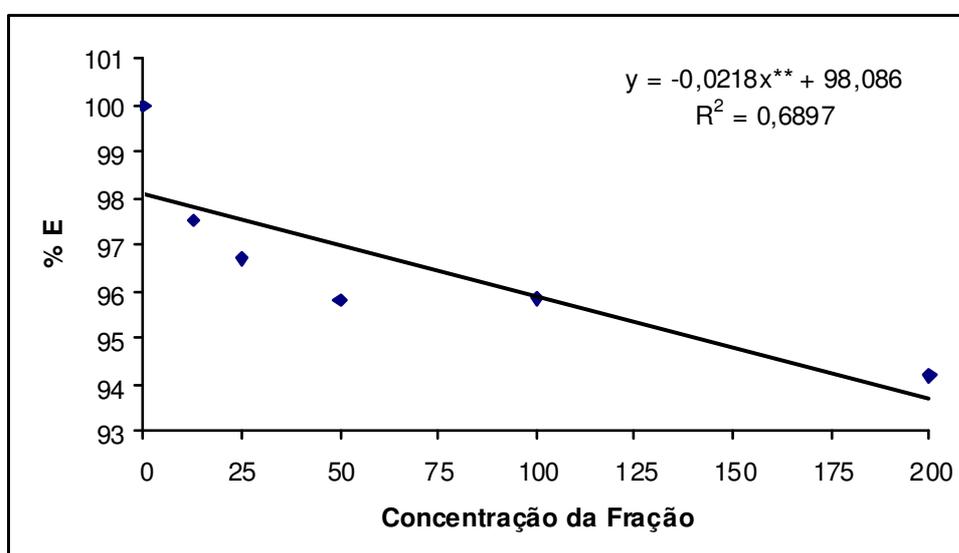


Figura 73. Efeito da fração em acetato de etila (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %E de *L. sativa* *in vivo*.

4.4.3.3. Avaliação da atividade alelopática da fração butanólica do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

4.4.3.3.1. Avaliação das concentrações de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 8 mg/L (E₁)

Observou-se neste ensaio que apenas os parâmetros CPA (Figura 74), BF (Figura 75) e BS (Figura 76) sofreram interferência significativa dos tratamentos (Quadro 11B). Todos os parâmetros apresentaram efeito inibitório com aumento da concentração da fração. Os parâmetros CPA, BF e BS se ajustaram ao modelo quadrático sendo observada redução no efeito da inibição da fração a partir da concentração 5,8mg/L, 7,3mg/L e 6,4mg/L, respectivamente.

Apesar de uma inibição de 20% nos parâmetros % E e IVE e 13% para o CR os mesmos não foram significativos estatisticamente.

Os resultados corroboram com Hemández-Terrones, et al. (2007) em estudo realizado para avaliação da ação alelopática de extratos da sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*) sobre a germinação e o desenvolvimento de raízes e parte aérea do capim-colonião (*Panicum maximum*). Bioensaios de germinação realizados em placas de *Petri* comprovaram que o extrato metanólico do tronco dessa planta, a 150 ppm, inibiu 83% do crescimento da raiz, 75% da parte aérea e 30% da germinação de sementes de capim-colonião. Em casa-de-vegetação, os resultados de inibição foram de 83% para a parte aérea, 80% para a raiz e 63% para a germinação, sendo somente considerada efetiva a concentração de 400 ppm.

Em estudo realizado a avaliação alelopática de nim (*Azadirachta indica*) sobre as espécies *L. sativa*, *Bidens pilosa* e Sorgo observaram que o acúmulo da biomassa para as espécies picão-preto, foi inversamente proporcional à concentração de extrato aplicado. O extrato metanólico foi o que promoveu menor acúmulo para a espécie picão-preto (França et al., 2008).

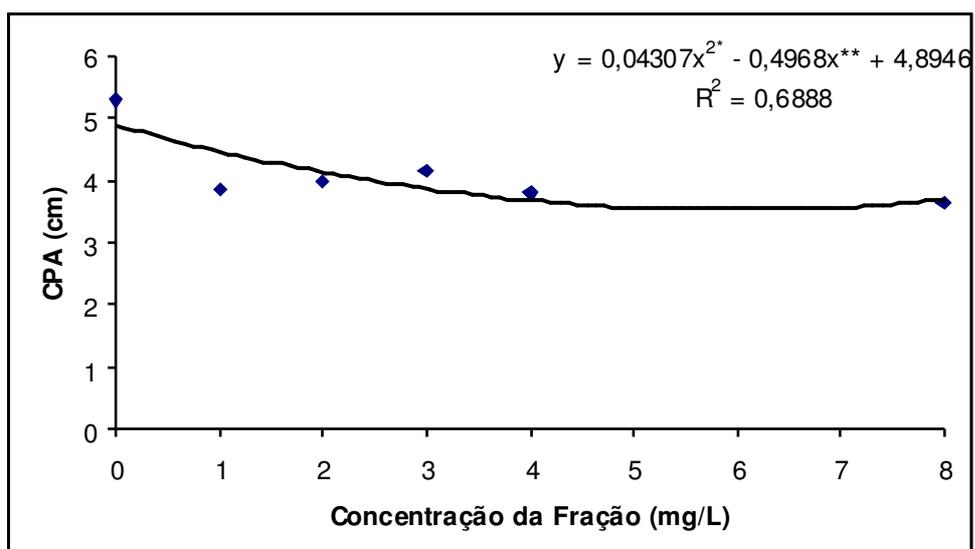


Figura 74. Efeito da fração em butanólica (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa in vivo*.

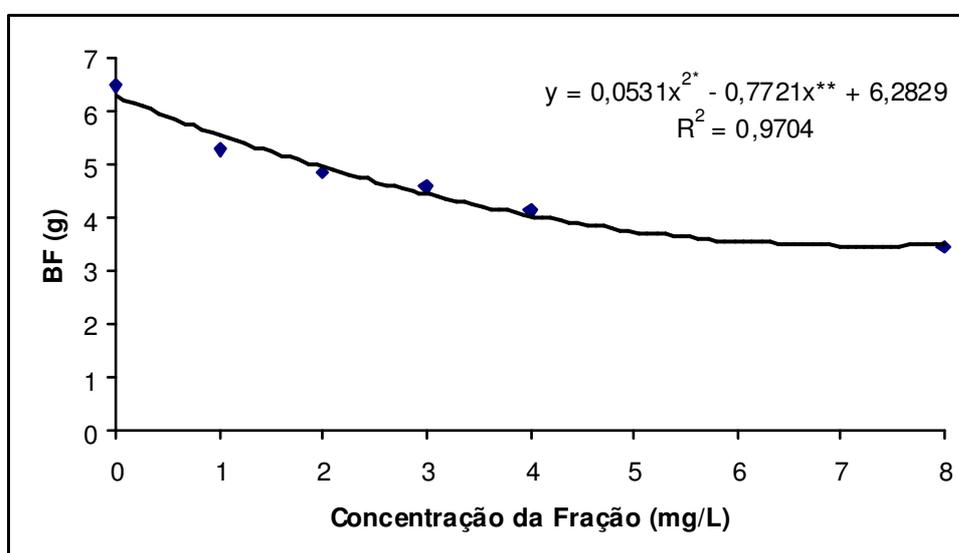


Figura 75. Efeito da fração em butanólica (E_1) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *L. sativa in vivo*.

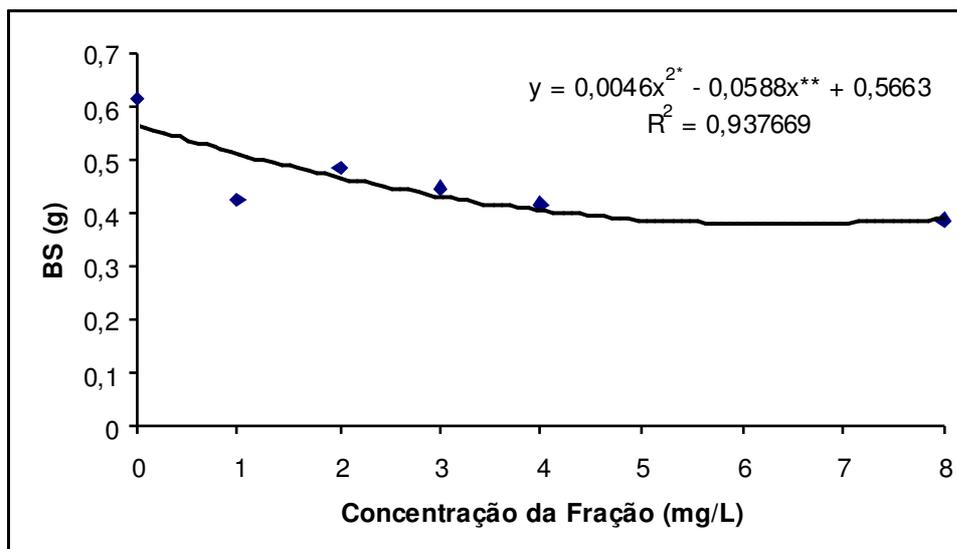


Figura 76. Efeito da fração em butanólica (E₁) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BS de *L. sativa in vivo*.

4.4.3.3.2. Avaliação nas concentrações de 0; 12,5; 50; 100 e 200 mg/L (E₂)

Todos os parâmetros avaliados neste ensaio diferiram estatisticamente em função dos tratamentos (Quadro 12B). A inibição foi acentuada à medida que se aumentou a concentração da fração. Os parâmetros CPA (Figura 77), BF (Figura 79), BS (Figura 80), e % E (Figura 81) variaram linearmente com o aumento da concentração da fração butanólica. O CR (Figura 78) também sofreu inibição, porém se ajustou ao modelo quadrático apresentando maior efeito inibitório na concentração 157,5mg/L.

Os resultados corroboram com Hernández-Terrones et al (2007a) demonstrando que o extrato bruto de *P. emarginatus* apresenta propriedades fitotóxicas tanto nos ensaios *in vivo* quanto naqueles *in vitro*. Porém nos ensaios *in vitro* foi requerida concentração bem maior que nos ensaios *in vivo*, provavelmente pela ação dos microorganismos presentes nos solos que absorvem e decompõem compostos fitotóxicos.

Em estudo realizado para avaliação da atividade alelopática do extrato de embaúba no crescimento de capim-colônia avaliou-se o potencial fitotóxico de

extratos metanólicos do tronco, cascas e raízes; o mesmo foi verificado por meios de bioensaios de germinação e crescimento da parte aérea de capim-colonião. O efeito inibitório dos extratos de embaúba sobre o desenvolvimento das sementes de capim-colonião geminadas foi ligeiramente mais acentuado do que sobre a germinação das sementes. No crescimento de parte aérea foram encontradas taxas de inibição de 26,2; 36,9 e 63,5% (Hemández-Terrones et al., 2007b)

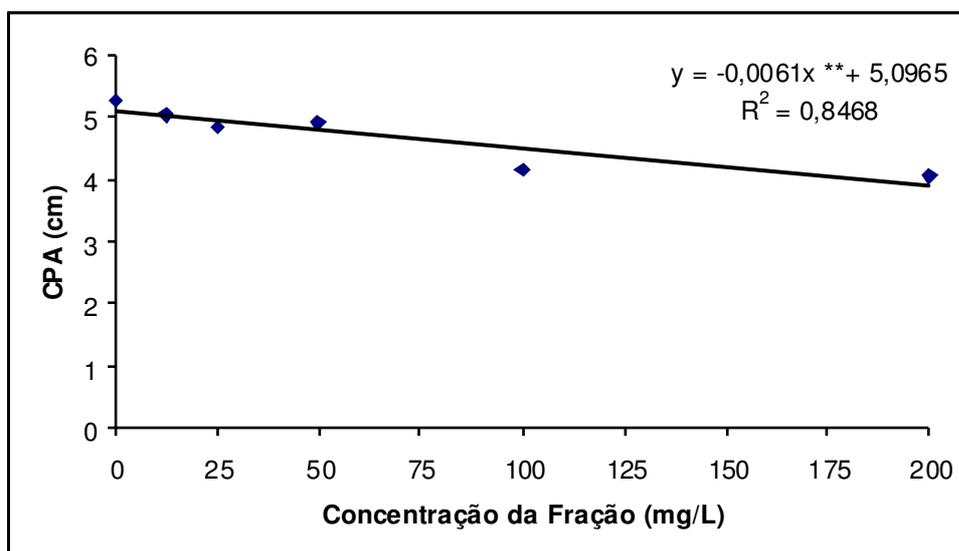


Figura 77. Efeito da fração butanólica (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CPA de *L. sativa in vivo*.

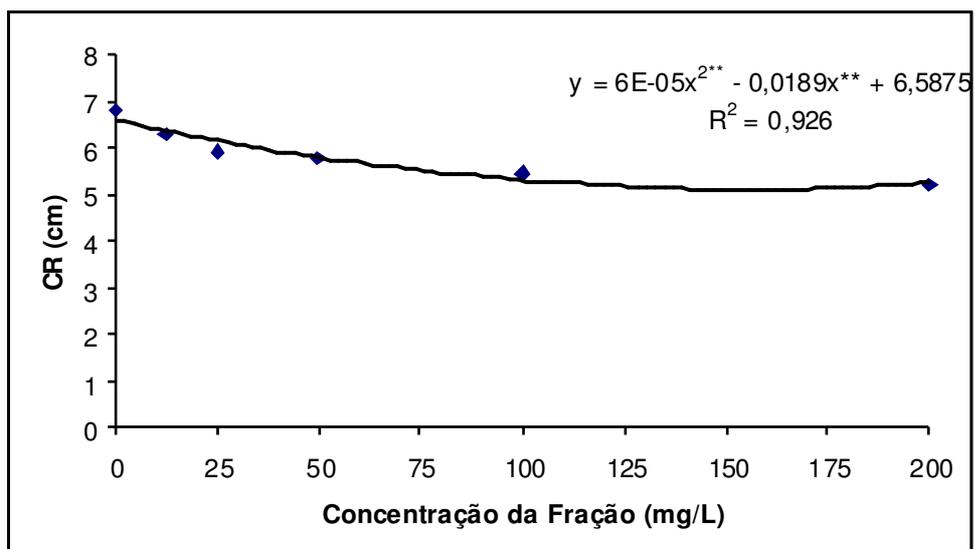


Figura 78. Efeito da fração butanólica (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *L. sativa in vivo*.

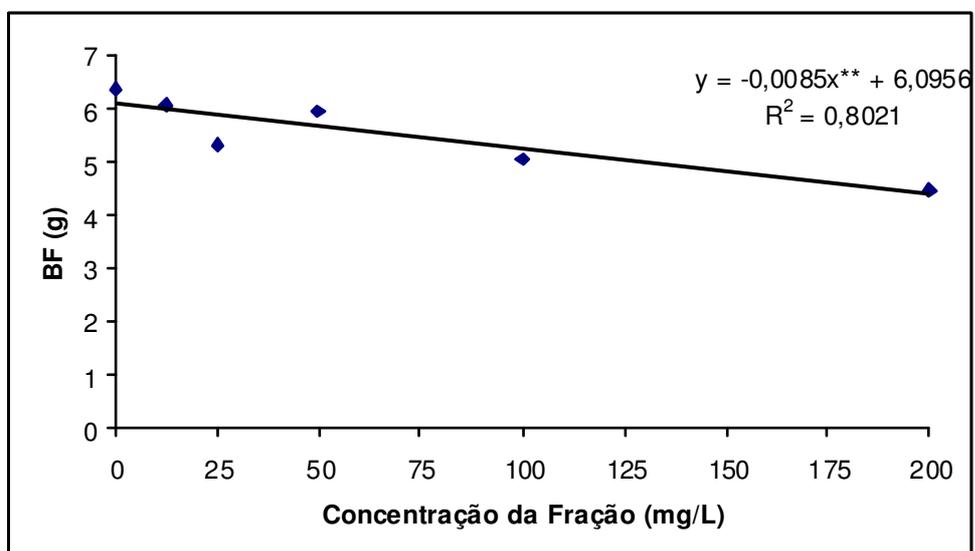


Figura 79. Efeito da fração butanólica (E_2) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *L. sativa in vivo*.

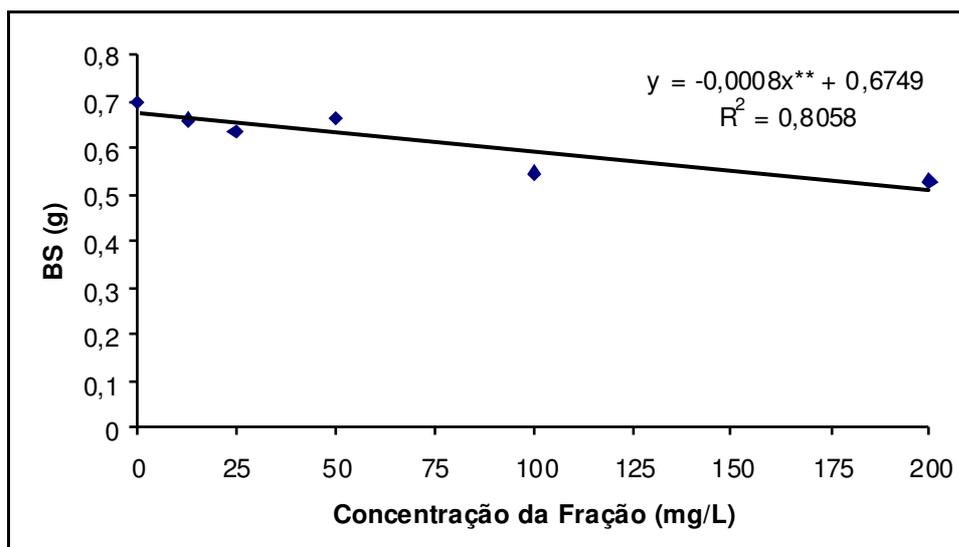


Figura 80. Efeito da fração butanólica (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BS de *L. sativa* in vivo.

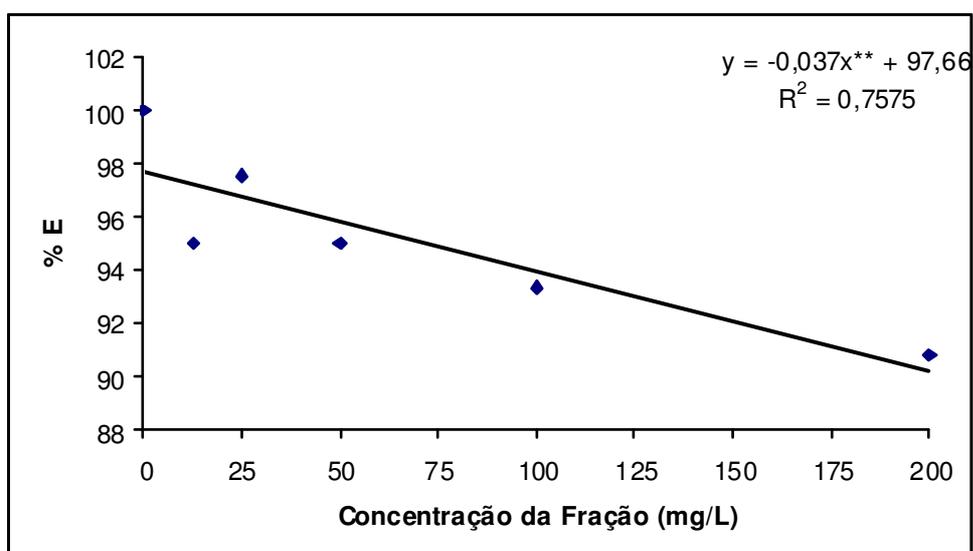


Figura 81. Efeito da fração butanólica (E₂) do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o %E de *L. sativa* in vivo.

Os resultados obtidos nos ensaios realizados *in vivo* confirmam os obtidos *in vitro* indicando a presença de uma ou mais substâncias alelopáticas presentes nos extratos polares de *S. terebinthifolius*. A atribuição do efeito à substância majoritária presente no extrato, o ácido gálico, só poderá ser confirmada após a realização de bioensaios *in vitro* e *in vivo* com a substância isolada.

4.4.4. Avaliação da atividade alelopática do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* frente a *Bidens pilosa* (picão-preto)

Todos os parâmetros avaliados foram significativos estatisticamente (Quadro 13B). O parâmetro CPA não se ajustou a nenhum modelo de regressão. Os parâmetros CR (Figura 82) apresentou maior efeito inibitório na concentração de 72,0 mg/L. Observou-se para os parâmetros BS e BF efeito estimulatório a baixas concentrações, porém com o aumento da concentração houve maior efeito inibitório nas concentrações de 100,0 mg/L e 33,3 mg/L, respectivamente. Os parâmetros % G (Figura 85) e IVG (Figura 86) responderam linearmente, aumentando a inibição à medida que se aumentou a concentração do extrato.

Os resultados corroboram com Rizzardi et al. (2008) em estudo com extratos aquosos de Canola sobre *B. pilosa*, mostraram que a porcentagem de germinação dos aquênios de picão-preto diminuiu, para todos os genótipos avaliados, à medida que se aumentou a concentração dos extratos. A atividade biológica dos extratos vegetais depende tanto da concentração do aleloquímico quanto do limite da resposta da espécie afetada, sendo este ponto de total relevância quando se observa a relação negativa entre concentração e inibição da germinação.

Estudo realizado por Ferreira et al. (2007) avaliaram o efeito de extratos vegetais no crescimento inicial de *B. pilosa* e velocidade de germinação das sementes de picão-preto, concluíram que o extrato de *E. citriodora* causou atraso significativo na germinação em todas as concentrações testadas quando comparadas com a testemunha. Em relação à variável comprimento de radícula das plântulas de picão-preto, tanto para o extrato de *P. elliotii* quanto para o de *E. citriodora* não observaram diferença significativa entre os tratamentos.

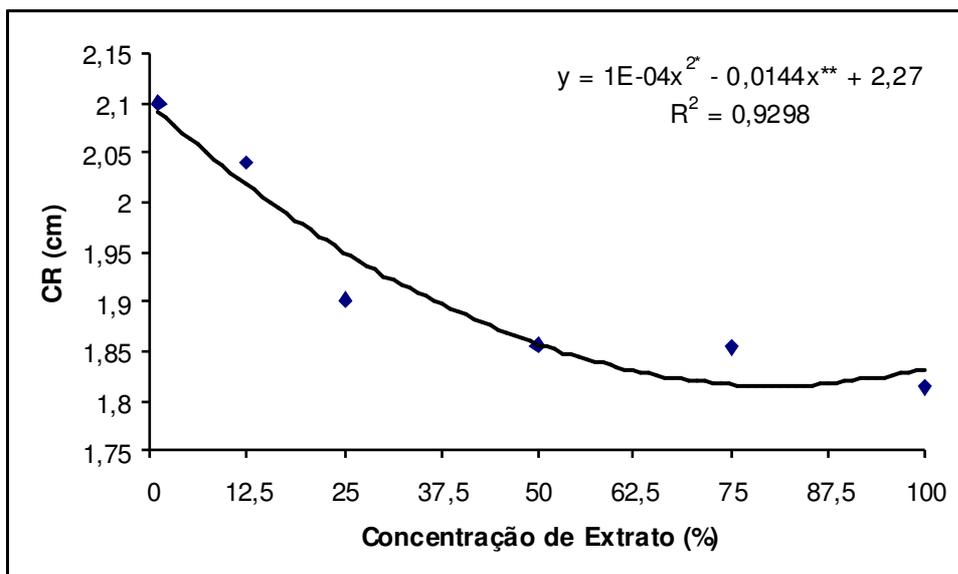


Figura 82. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre o CR de *B. pilosa*.

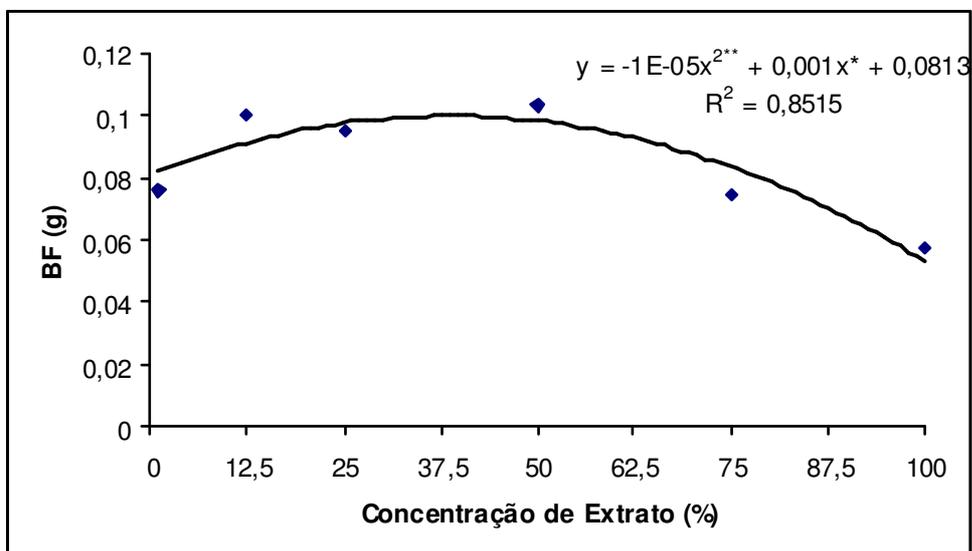


Figura 83. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BF de *B. pilosa*.

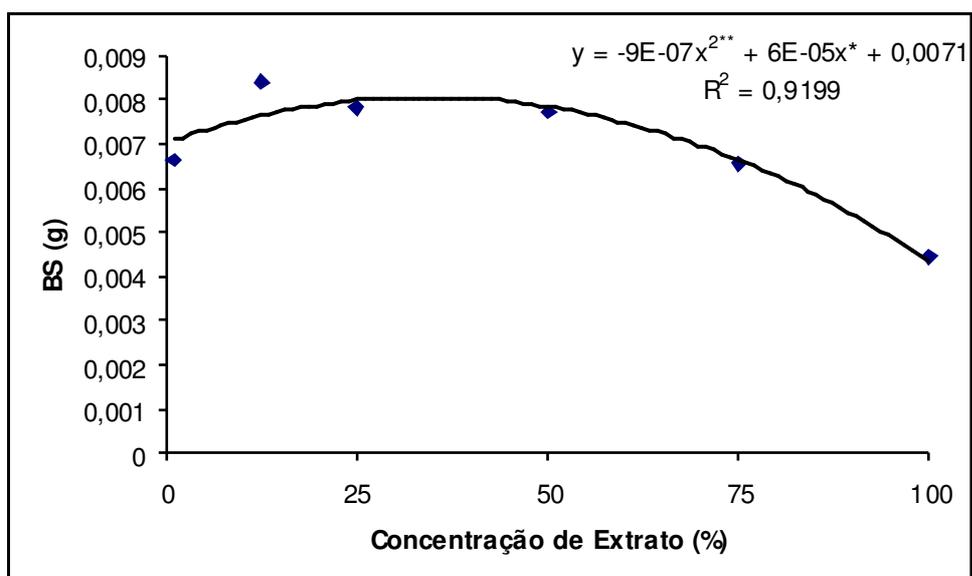


Figura 84. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a BS de *B. pilosa*.

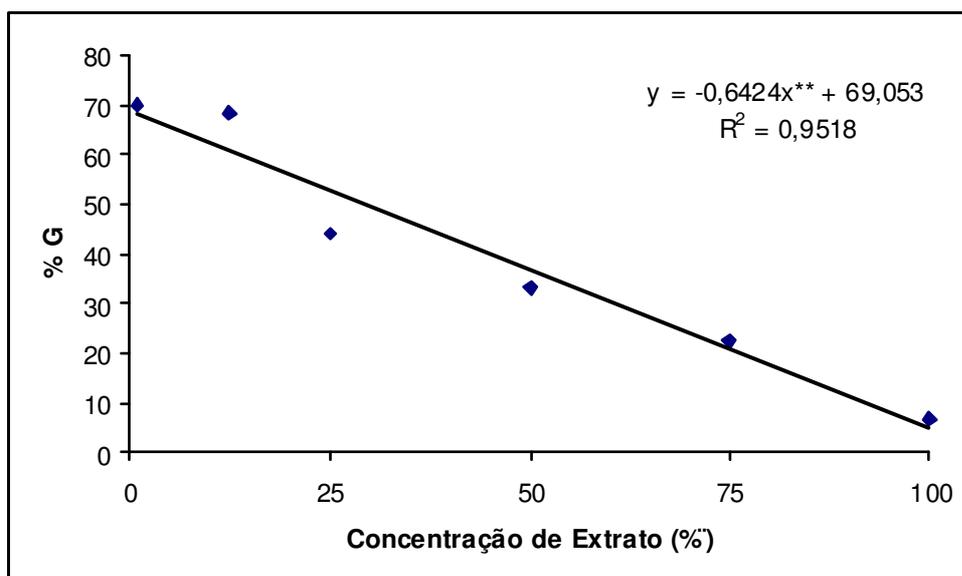


Figura 85. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a %G de *B. pilosa*.

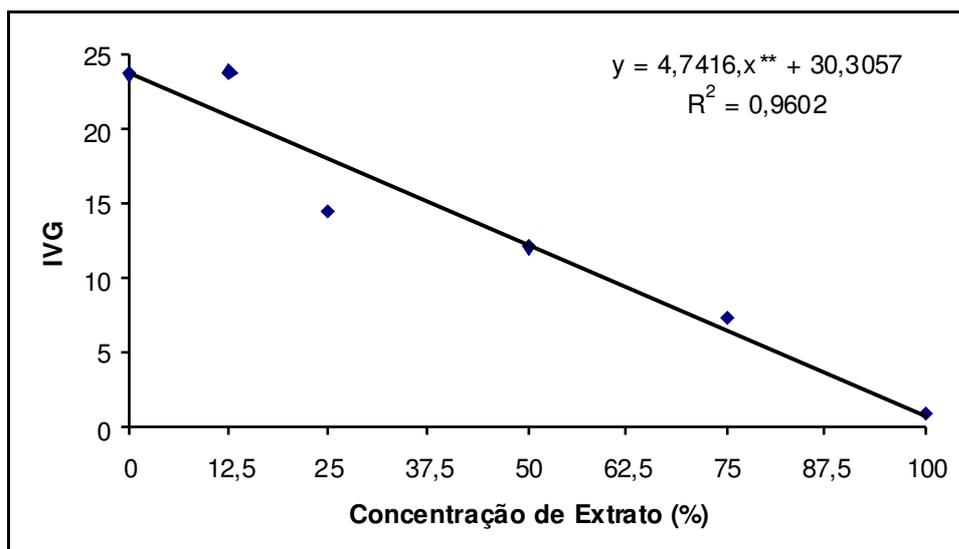


Figura 86. Efeito do decocto de folhas de *S. terebinthifolius* no IVG de *B. pilosa*.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi realizado na Universidade Estadual do Norte Fluminense, no intuito de avaliar a atividade alelopática dos constituintes químicos polares presentes no decocto de folhas de *S. terebinthifolius*. Para tal, o decocto foi submetido a procedimentos cromatográficos usuais, que permitiram a obtenção das frações em acetato de etila e butanólica; também foi realizada a extração das folhas de *S. terebinthifolius* com solvente metanol para a obtenção do extrato metanólico. Tais frações e extratos foram submetidos a testes preliminares com as espécies *L. sativa* e *B. pilosa* para avaliação da atividade alelopática. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que a atividade alelopática das frações em acetato de etila e a butanólica deveriam ser melhor investigadas, não só fitoquimicamente, mas também através de bioensaios que comprovassem a presenças de aleloquímicos.

O estudo fitoquímico da fração em acetato de etila levou à purificação de seis substâncias químicas. Tais substâncias foram submetidas à cromatografia líquida de alta eficiência para avaliação da pureza das mesmas. A substância química STL-01 foi submetida a análises de ressonância magnética nuclear caracterizada como sendo ácido gálico. Análise realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência com a utilização do padrão de ácido gálico confirmou a substância isolada.

As avaliações confirmaram a atividade alelopática da espécie *S. terebinthifolius*. Na maioria dos ensaios ocorreram inibições nos diferentes

parâmetros avaliados à medida que se aumentou a concentração do extrato, confirmando a presença de uma ou mais substâncias aleloquímicas oriundas da espécie *S. terebinthifolius*.

O decocto de folhas de *S. terebinthifolius* apresentou resultados expressivos na inibição dos parâmetros comprimento de raiz, percentual de germinação e índice de velocidade de germinação. As frações em acetato de etila e butanólica também apresentaram atividade alelopática. Para a fração em acetato de etila (E₁) observou-se que os parâmetros comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e percentual de germinação foram inibidos com o aumento da concentração da fração; no E₂ observou-se que os parâmetros comprimento de parte aérea e percentual de germinação foram influenciados pelas doses apresentando redução no comprimento das plântulas e inibição na germinação das mesmas à medida que se aumentou a concentração da fração. A fração butanólica apresentou na primeira avaliação (E₁) inibição nos parâmetros comprimento de parte aérea, percentual de germinação e índice de velocidade de germinação, no E₂ observou-se inibição na biomassa fresca, percentual de germinação e índice de velocidade de germinação de plântulas à medida que se aumentou a concentração das frações.

Nos ensaios de germinação e crescimento *in vivo* realizados em casa-de-vegetação, também se observou inibição com o aumento da concentração dos extratos em todos os ensaios realizados variando-se apenas os parâmetros afetados.

Os ensaios realizados neste trabalho comprovam que os constituintes químicos polares da espécie *S. terebinthifolius* apresentam atividade alelopática frente às espécies *L. sativa* e *B. pilosa*.

Ensaio a serem realizados com a substância isolada poderão confirmar se o efeito apresentado pelo decocto e suas frações é devido à mesma ou a outras substâncias presentes nos extratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, S. C. X., Lemos, T. L. G. L., Silveira, E. R., Loiola, P. (2005) Constituintes químicos voláteis e não voláteis de *Cohlospermum vitifolium* (Willdenow). *Química Nova*, 28(1):57-60.
- Alves, C. C. F., Alves, J. M., Silva, Silva, T. M. S., Carvalho, M. G., Neto, J. J. (2003) Atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. *Floresta e ambiente*, 10(1):93 -97.
- Alves, M. C. S., Filho, M. S., Innecco, R., Torres, S. B. (2004) Alelopatia de Extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento de raiz de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(11):1083-1086.
- Amorim, M. M. R., Santos, L. C. (2003) Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Ensaio clínico randomizado. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 25(2):95-102.
- Andrade, C. A., Miguel, M. D., Miguel, O. G., Ferronato, M. L., Peitz, C., Cunico, M., Dias, J. F. G., Balestrin, L., Kerber, V. A. (2003) Efeitos alelopáticos das flores de *Acaccia podalyriaefolia* A. CUNN. *Visão Acadêmica*, 4(2):93-98.

- Aquino, S. L., Pedlowski, M. A., Canela, M. C., Silva, I. L. A. (2006) Analisando os impactos sócioambientais resultantes do uso de agrotóxicos num assentamento de reforma agrária: http://www.anppas.org.br/encontro_anual/encontro3/arquivos/TA193-03032006 em 25/01/2008. página mantida pelo *Anais do III Encontro da ANPPAS*, Brasília.
- Assumpção, J., Nascimento, M. T. (2000) Estrutura e Composição Florística de Quatro formações de Vegetais de Restinga do Complexo Lagumar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta bot. Bras.* 14(3):301-315.
- Belinelo, V. J., Czepak, M. P., Filho, S. A. V., Menezes, L. F. T., Jamal, C. M. (2008) Alelopatia de *Arctium minus* BERNH (Asteraceae) na germinação inicial e crescimento radicular de sorgo e pepino. *Revista Caatinga*, 21(4):12-16.
- Borges, F. C., Santos, L. S., Corrêa, M. J. C., Oliveira, M. N., Souza Filho, A. P. S. (2007) Potencial alelopático de duas neolignanas isoladas de folhas de *Virola surinamensis* (Myristicaceae). *Planta Daninha*, 25(1):51-59.
- Brasil (1992) Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Ambiental. *Regras para Análise de Sementes Brasil*. Brasília, 1992. 365p.
- Camo, F. M. S., Borges, E. E. L., Takaki, M. (2007) Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorífera* (Vell.) Rohwer). *Acta Bot. Bras.*, 21(3):697-705.
- Carvalho, A. C., Braga, J. M. A. B., Gomes, J. M. L., Souza, J. S., Nascimento, M. T. (2006) Comunidade arbórea de baixada aluvial no município de Campos dos Goytacazes, R. J. *Cerne*, 12(2):157-166.
- Ceruks, M., Romoff, P., Fávero, O. F., G. Enrique, J. G. (2007) Polar phenolic constituents from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Química Nova*, 30(3):597-599.

- Chagas, A. C. S. (2004) Controle de parasitas usando extratos vegetais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 13(1):156-160.
- Chaves, D. S. A. (2006) Estudo Químico e potencial antitrombótico da espécie medicinal *Petroselinun crispum* (Apiaceae) Dissertação (Mestrado em Ciências) – Rio de Janeiro – RJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 138p.
- Dardengo, A. O. (2008) Efeito alelopático de plantas medicinais na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ – Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 55p.
- Degáspari, C. H., Waszczyński, N., Prado, M. R. M. (2005) Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Ciênc. Agrotec*, 29(3):617-622.
- Di Stasi, L. C., Hiruma-Lima, C. A. (2002) *Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2. ed. São Paulo: Unesp, 604p.
- Dias, J. F. C. Estudo alelopático aplicado a *Astes lanceolatus* Willd. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 108p.
- Duke, S. O., Dayan, F. E., Rimando, Schrader, K. K., Aliotta, G., Oliva, A., Romangi, J. G. (2002) Chemicals from nature for weed management. *Weed Science*, 50:138-151.
- Ewe, S. M. L., Sternberg, L. S. L. (2003) Seasonal Gas Exchange characteristics of *Schinus terebinthifolius* in a native and disturbed upland community in Everglades National Park, Florida. *Forest Ecology and Management*, 19:27-36.
- Fenner, R., Betti, A. H., Mentz, L. A., Rates, S. M. K. (2006) Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42(3):369-394.

- Ferreira, A. G., Áquila, M. E. A. (2000) Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia*, 12:175-204.
- Ferreira, J. T. B., Corrêa, A. G., Vieira, P. C. (2001) *Produtos naturais no controle de insetos*. São Carlos: Ed. UFSCar, 176p.
- Ferreira, M. C., Souza, J. R. P., Faria, T. J. (2007) Potencial alelopático de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. *Ciência Agrotécnica*, 31(4):1054-1060.
- França, A. C., Souza, I. F., Santos, C. C., Oliveira, E. Q., Martinoto, C. (2008) Atividades Alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto. *Ciência Agrotecnica*, 32(5):1374-1379.
- Goetze, M., Thomé, G. C. H. (2004) Efeito alelopático de extratos de *Nicotina tabacum* e *Eucalyptus grandis* Sobre a germinação de três espécies de hortaliças. *Revista Brasileira de Agrodiciências*, 10(1):43-50.
- Hernández-Terrones, M. G., Morais, S. A. L., Ferreira, S., Santos, D. O., Nascimento, E. A., Chang, R. (2007a). Estudo fitoquímica e alelopático do caule de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*). *Planta Daninha*, 27(4):755-762.
- Hernandez-Terrones, M. G., Morais, S. A. L., Londe, G. B., Nascimento, E. A., Chang, R. (2007b) Ação alelopática de extratos de embaúba (*Cecropia pachystachya*) no crescimento de capim-colonião (*Panicum maximum*). *Planta Daninha*, 25(4):763-769.
- Hoffmann, C. E. F., Neves, L. A. S., Bastos, C. F., Wallau, G. L. (2007) Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L. e *Differenbachia picta* schot em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L.. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 6(1):11-21.
- Hostettmann, K., Queiroz, E. F., Vieira, C. P. (2003) *Princípios Ativos de Plantas Superiores*. 1.ed. São Carlos: EdUFSCAr, 152p.

- Iganci, J. R. V., Bobrowski, V. L., Heiden, G., Stein V. C., Rocha, B. H. G., (2006) Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. *Arq. Instituto de Biologia, São Paulo*, 73(1):79-82.
- Junior, E. J.M., Raposo, M. J., Lisboa Neto, J. A., Diniz, M. F. A., Marcelino Júnior, C. A. C., Sant' Ana, A. E. G. (2002) Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: Microbiological and Microscopic analysis. *Phytomedicine*, 9:109-116.
- Lenzi, M., Orth, A. I. (2004) Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeira vermelha (*Schinus Terebinthifolius* Raddi), Em Florianópolis-Sc, Brasil. *Rev. Bras. Frutic*, 26(2):198-201.
- Lima, J. D., Moraes, W. S. (2008) Potencial alelopático de *Ipomoea fistulosa* sobre germinação de alface e tomate. *Acta Sci. Agron*, 30(3):409-413.
- Lima, M. R. F., Luna, J. S., Santos, A. F., Andrade, M. C. C., Sant' Ana, A. E. G., Genet, J. P., Márquez, B., Neuville, L., Moreau, N. (2005) Anti-bacterial activity of some brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 105:137-147.
- Lorenzi, H., Matos, F. J. F. (2002) *Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. 2.ed. Instituto Plantarium de Estudos da Flora LTDA: 511p.
- Macías, F. A.; Molinillo, J. M. G.; Varela, R. M.; Galindo, J. C. G. (2007) Allelopathy – A natural alternative for weed control. *Pest Management Science*, 63(4):327-348.
- Mairesse, L. A. S., Costa, E. C., Farias, J. R., Fiorin, R. A. (2007) Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.) *Revista FZVA*, 14(2): 1-12.
- Maraschin-Silva, F., Áquila, M. E. A. (2005) Potencial Alelopático de *Dodonea viscosa* (L.) Jacq. *Iheringia, Serie Botânica*, 60(1):91-98.
- Martins, E. R., Castro, D. M., Castellani, D., C., Dias, J. E. (2003) *Plantas Medicinais*, 5.ed. Viçosa: UFV, 220p.

- Mazzafera, P. (2003) Efeito Alelopático do Extrato Alcoólico do Cravo-da-Índia e eugenol. *Revista Brasil Bot*, 26(2):231-238.
- Medal, J. C., Vitorino, M. D., Habeck, D. H., Gilmore, J. L., Pedorsa, J. H., De Souza, P. (1999) Host specificity of heteroperreya *Hubrich malaise* (Hymemotera: Perdidae), a potential biological control agentes of Brazilian Peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Biological Control*, 14:60-65.
- Olguim, C. F. A., Hamerski, L., Percio, M. F., Somensi, A. (2006) Avaliação do potencial alelopático dos extratos fracionados da raiz de *Vernonia Tweendiana* Baker. *Revista Varia Scientia*, 5(10): 137-143.
- Oliveira Jr., R. S., Constantin, J. (2001) *Plantas Daninhas e Seu Manejo*. 1ed.: Guaíba: Agropecuária, 362p.
- Paes, J. B., Diniz, C. E. F., Marinho, I. V., Lima, C. R. (2006) Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no Semi-Árido Brasileiro. *Cerne*, 12(3):232-238.
- Pina-Rodrigues, F. C. M., Lopes, B. M. (2001) Potencial alelopático de *mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabeuia alba* (Cham.) Sandw. *Floresta e Ambiente*, 8(1):130-136.
- Pires, N. M., Prates, H. T., Filho, I. A. P. F., Oliveira Jr, R. S., Faria, T. C. L. (2001) Atividade alelopática de *leucena* sobre espécies de plantas daninha. *Scientia Agrícola*, 58(1): 61-65.
- Queiroz, C. R. A. S., Moraes, S. A. L., Nascimento, E. A. (2002) Caracterização de taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon undeuva*). *Revista Árvore*, 26(4):485-492.
- Rizzardi, A.; Rizzardi, M.A.; Lamb, T.D.; Johann, L.B. (2008) Potencial Alelopático de extratos aquosos de genótipos de canola sobre *Bidens pilosa*. *Planta Daninha*, 26(4): 717-724.

- Rosa, D. M., Fortes, A. M. T., Palma, D., Marques, D. S., Corsato, J. M., Leszezynski, R., Mauli, M. M. (2007). Efeito dos extratos de tabaco, leucena e sabugueiro sobre a germinação de *Panicum maximum* Jaqc. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2):444-446.
- Santos, L. S., Santos, J. C. L., Souza Filho, A. P. S, Corrêa, M. J. C., Veiga, T. A. M., Freitas, V. C. M., Ferreira, I. C. S., Gonçalves, N. S., Silva, C. E., Guilhon, G. M. S. P. (2008) Atividade alelopática de substâncias químicas isoladas do capim-marandu e suas variações em função do pH. *Planta Daninha*, 26(3):531-538.
- Santos, M. V., Freitas, F. C. L., Ferreira, F. A., Viana, R. G., Tuffi Santos, L. D., Fonseca, D. M. (2006) Eficácia e persistências de herbicidas utilizados em área de pastagens. *Planta Daninha*, 24(2):391-398.
- Santos, S., Rezende, M. O. O. (2008) Avaliação do potencial herbicida de metabólitos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. *Revista Analytica*, 32(1):71-78.
- Schimidt, J., Porzel, A., Adam, G. (1998) 3(20-Dihydroxy-3-(25-Epoxy)lupane, a triterpene from *Rhus Typhina*. *Phytochemistry*, 49(2):2049-2051.
- Schomourlo, G., Mendonça-Filho, R. R., Alviano, C. S., Costa, S. S. (2004) Screening of antifungal agentes using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal of EthnoPharmacology*, 96:563-568.
- Silva, A. A., Silva, J. F. (2007) *Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas*. 1.ed. Viçosa: UFV, 367p.
- Silva, G. B., Martim, L., Silva, A. L., Young, M. C. M., Ladeira, A. M. (2006) Potencial alelopático espécies arbóreas nativas do cerrado, *Hoehnea*, 33(3):331-338.
- Silva, W. A., Nobre, A. P., Leites, A. P., Silva, M. S. C., Lucas, R. C., Rodrigues, O. G. (2006) Efeito alelopático de extrato aquoso de *Amburana cearensis* A. Smith na germinação e crescimento de sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.). *Agropecuária Científica*, 2(1):48-54.

- Simões. C. M. O., Sckemkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz. L. A., Petrovick, P. R. (1999) *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. 6 ed. UFRGS, UFSC, 1102p.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. (2002) *Princípios de Análise Instrumental*, 5 ed. Bookman, 836p.
- Souza Filho, A. P. S. (2006c) Proposta metodológica para análise da ocorrência de sinergismo e efeitos potencializadores entre aleloquímicos. *Planta Daninha*, 24(3): 607-610.
- Souza Filho, A. P. S., (2006b) Interferência potencialmente alelopática do capim-gengibre (*Paspalum matitimum*) em áreas de pastagens cultivadas. *Planta Daninha*, 24(3):451- 456.
- Souza Filho, A. P. S., Lobo, L. T., Arruda, M. S. P. (2005). Atividade alelopática em folhas de *Tachigali mymecophyla* (LEG. – PAP.) *Planta Daninha*, 23(4):557-564.
- Souza Filho, A. P. S., Pereira, A. A. G. e Bayma, J. C., (2005) Aleloquímico produzido pela gramínia forrageira *Brachiaria humidicola*. *Planta Daninha*, 23(1):25-32.
- Souza Filho, A. P. S., Santos, R. A., Santos, L. S., Guilhon, G. M. P., Santos, A. S., Arruda, M. S. P., Muller, A. H., Arruda, A. C. (2006a) Potencial alelopático de *Myrcia guinensis*. *Planta Daninha*, 24(4):649-656.
- Souza, C. S. M., Silva, W. L. P., Guerra, A. M. N. M., Cardoso, M. C. R., Torres, S. B. (2007) Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 2(2):96-100.
- Souza, S. A. M., Cattelan, L. V., Vargas, A. P., Peiana, C. F. B., Bobrowski, V. L., Rocha, B. H. G. (2005) Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex REISS.). *Ci. Biol. Saúde*, 11:7-14.

- Souza, V. c., Lorenzi, H. (2005) *Botânica Sistemática*. São Paulo: Ed. Nova Odessa, 639p.
- Tokuhisa, D., Dias, D. C. F. S., Alvarenga, E. M., Hilst, P. C., Demuner, A. J. (2007) Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 29(3):180-188.
- Verza, S. G., Kreinecker, M. T., Reis, V., Henriques, A. T., Ortega, G. G. (2007) Avaliação das variáveis analíticas do método Folin-Ciocalteu para determinação do teor de taninos totais utilizando como modelo extrato aquoso de folhas de *Psidium guajava* L.. *Química Nova*, 30(4):815:820.
- Viana, G. S. B., Matos, F. J. A., Bandeira, M. S. N. (1995) *Aroeira-do-sertão (Myracrodruon urundeuva Fr. All.) estudo botânico, farmacogóstico, químico e farmacológico*. Fortaleza: UFC, 160p.
- Wheeler, G. S., Massey, L. M., Endries, M. (2001) The Brazilian Peppertree Drupe Feeder Megastigmus ttransvaalensis (Hymenoptera: Toymidae): Florida Distribution and Impact. *Biological Control*, 22:139-148.
- Yunes, R. A.; Calixto, J. B. (2001). *Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna*. 2 .ed. Chapecó: Argos, 532p.

APÉNDICES

APÊNDICE A**MEDIDAS FÍSICO-QUÍMICAS****1.1. Medidas físico-químicas dos extratos e frações do Decocto de *S. terebinthifolius*, avaliadas em relação à atividade alelopática *in vitro*****Quadro 1A.** Medidas físico-químicas do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Tratamentos	pH	Condutividade Elétrica (μS)
Testemunha	5,40	2,8
12,5%	4,78	0,730
25 %	4,78	0,144
50 %	4,78	0,2750
75 %	4,79	0,3950
100%	4,77	0,4980

Quadro 2A. Medidas físico-químicas da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Tratamentos (mg/L)	pH	Condutividade Elétrica (μS)	Tratamentos	pH	Condutividade Elétrica (μS)
Testemunha	5,34	2,7	Testemunha	5,15	2,9
12,5	5,48	8,3	1	4,94	3,0
25	4,27	17,3	2	4,80	2,9
50	4,16	17,3	3	4,59	3,4
100	4,08	29,5	4	4,60	3,9
200	4,01	45,7	8	4,50	6

Quadro 3A. Medidas físico-químicas da fração butanólica do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Tratamentos (mg/L)	pH	Condutividade Elétrica (μS)	Tratamentos	pH	Condutividade Elétrica (μS)
Testemunha	5,34	2,7	Testemunha	5,21	3,2
12,5	5,20	5,8	1	5,45	3,2
25	5,08	9,3	2	5,28	3,2
50	4,80	10,4	3	5,94	2,9
100	4,48	18,0	4	5,65	3,2
200	4,01	33,0	8	4,84	3,2

1.2. Medidas físico-químicas dos extratos e frações do Decocto de *S. terebinthifolius*, avaliadas em relação à atividade alelopática *in vivo*

Quadro 4A. Medidas físico-químicas do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Tratamentos	pH	Condutividade Elétrica (μS)
Testemunha	5,40	2,8
12,5%	4,78	0,730
25 %	4,78	0,144
50 %	4,78	0,2750
75 %	4,79	0,3950
100%	4,77	0,4980

Quadro 5A. Medidas físico-químicas da fração em acetato de etila do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Tratamentos (mg/L)	pH	Condutividade Elétrica (μS)	Tratamentos	pH	Condutividade Elétrica (μS)
Testemunha	4,95	2,9	Testemunha	4,95	2,9
12,5	5,09	5,7	1	4,77	2,9
25	4,45	11,6	2	5,33	3,3
50	4,27	16,7	3	5,10	4,3
100	4,11	29,7	4	4,75	4,7
200	4,05	45	8	4,30	5,7

Quadro 6A. Medidas físico-químicas da fração butanólica do decocto de folhas de *S. terebinthifolius*

Tratamentos (mg/L)	pH	Condutividade Elétrica (μS)	Tratamentos	pH	Condutividade Elétrica (μS)
Testemunha	4,87	2,7	Testemunha	5,20	3,2
12,5	5,05	4,2	1	5,43	3,4
25	4,67	5,6	2	5,30	3,2
50	4,27	10	3	5,92	2,9
100	4,15	17,4	4	5,64	3,4
200	4,07	32,5	8	4,82	3,6

APÊNDICE B

ANÁLISES DE VARIÂNCIA

Quadro 1B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *L. sativa*, submetidos a diferentes extratos e frações de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{Trat}	4	4	4	4	4	4
GL _{Res}	15	15	15	15	15	15
F	14.486**	22.941**	4.063*	0.318 ^{n/s}	3.564 ^{n/s}	4.320*
Signif.	0.00005	0.00000	0.0199	-----	0.03105	0.0160
C. V. (%)	7.653	7.821	7.761	12.358	2.679	6.079

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 2B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *B. pilosa*, submetidos a diferentes extratos e frações de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{Trat}	4	4	4	4	4	4
GL _{Res.}	15	15	15	15	15	15
F	1.531 ^{n/s}	2.145 ^{n/s}	1.036 ^{n/s}	1.489 ^{n/s}	3.364	4.32
Signif.	0.24351	0.12544	0.42094	0.25502	0.03735	0.016
C. V. (%)	12.316	28.787	32.425	31.437	23.076	14.92

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo, pelo teste “F”

Quadro 3B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente ao decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Res.}	18	18	18	18	18	18
F	19.731**	188.110**	6.540	7.927**	6.332**	71.945
Signif.	0.00000	0.00000	0.00124	0.00043	0.00147	0.000
C. V. (%)	8.454	8.056	13.248	9.450	3.864	6.086

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 4B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E₁) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{Trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Res.}	18	18	18	18	18	18
F	5.355	13.592**	1.109 ^{n/s}	0.598 ^{n/s}	0.890*	5.416**
Signif.	0.00345	0.00001	0.39020	-----	-----	0.00327
C. V. (%)	13.955	22.994	15.042	14.056	8.513	5.957

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 5B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E₂) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{Trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Res.}	18	18	18	18	18	18
F	4.582**	1.791 ^{n/s}	0.972 ^{n/s}	2.127 ^{n/s}	5.704**	1.911 ^{n/s}
Signif.	0.00717	0.16547	-----	0.1089	0.0025	0.1424
C. V. (%)	13.359	32.558	18.777	11.481	6.728	10.557

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 6B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E₁) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{Trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Res.}	18	18	18	18	18	18
F	13.000	38.110	2.756 ^{n/s}	0.952 ^{n/s}	29.611 ^{**}	4.208 ^{**}
Signif.	0.00000	0.00000	0.05097	-----	0.00000	0.0104
C. V. (%)	13.000	9.137	12.029	7.498	2.176	9.537

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 7B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E₂) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL _{Trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Res.}	18	18	18	18	18	18
F	1.719 ^{n/s}	1.090 ^{n/s}	4.600 ^{**}	1.427 ^{n/s}	6.749 ^{**}	6.335 ^{**}
Signif.	0.1812	0.3993	0.007	0.2620	0.00105	0.00147
C. V. (%)	10.775	29.971	10.650	23.298	5.638	6.553

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 8B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente ao decocto das folhas de *S. terebinthifolius in vivo*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% E	IVE
GL _{trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Rep}	3	3	3	3	3	3
GL _{Res}	15	15	15	15	15	15
F _{trat}	6.194	16.763**	3.560*	2.066 ^{n/s}	5.229	17.681**
Signif.	0.00263	0.00001	0.02540	0.12686	0.00562	0.000
C. V. (%)	3.281	3.577	8.790	10.343	3.113	11.337

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 9B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de etila (E₁) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius in vivo*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% E	IVE
GL _{trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Rep}	3	3	3	3	3	3
GL _{Res}	15	15	15	15	15	15
F _{trat}	11.356	12.032	2.403 ^{n/s}	2.079 ^{n/s}	3.351	3.878*
Signif.	0.00011	0.00008	0.08632	0.12500	0.03133	0.01864
C. V. (%)	5.498	3.742	15.112	10.574	5.861	8.546

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 10B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de sementes de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração em acetato de elita (E₂) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius in vivo*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% E	IVE
GL _{trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Rep}	3	3	3	3	3	3
GL _{Res}	15	15	15	15	15	15
F _{trat}	15.813	11.023	6.380	8.270	3.877	4.976
Signif.	0.00002	0.00013	0.00229	0.00064	0.01866	0.00695
C. V. (%)	3.604	4.379	5.559	7.568	2.071	6.833

Quadro 11B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de sementes de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E₁) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius in vivo*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% E	IVE
GL _{trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Rep}	3	3	3	3	3	3
GL _{Res}	15	15	15	15	15	15
F _{trat}	4.536**	1.816 ^{n/s}	6.182*	4.266*	1.572 ^{n/s}	1.308 ^{n/s}
Signif.	0.01017	0.17008	0.00265	0.01298	0.22769	0.31275
C. V. (%)	13.925	8.017	17.335	15.692	11.296	12.430

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 12B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%E) e índice de velocidade de germinação (IVE) de sementes de *L. sativa* submetidos à avaliação alelopática frente à fração butanólica (E₂) do decocto das folhas de *S. terebinthifolius in vivo*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% E	IVE
GL _{trat}	5	5	5	5	5	5
GL _{Rep}	3	3	3	3	3	3
GL _{Res}	15	15	15	15	15	15
F _{trat}	4.601	22.814	2.743	7.258	4.567	0.138 ^{n/s}
Signif.	0.00961	0.00000	0.0501	0.00123	0.00990	-----
C. V. (%)	9.802	4.122	15.493	8.307	3.139	8.310

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

Quadro 13B. Resultado da análise de variância para os parâmetros comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *B. pilosa* submetidos à avaliação alelopática frente ao decocto das folhas de *S. terebinthifolius*

F. V.	CPA	CR	BF	BS	% G	IVG
GL	5	5	5	5	5	5
F	5.003**	4.079**	15.688**	5.484**	29.805**	20.41**
Significância	0.00478	0.01188	0.00000	0.0030	0.00000	0.0000
Resíduo	18	18	18	18	18	18
C. V. (%)	17.249	10.662	10.326	16.705	22.540	29.228

** - 1% de probabilidade, * - 5% de probabilidade, n/s – não significativo

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](#)