



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst.
(Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa*.

Valter Henrique Marinho dos Santos

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas (Botânica), Área de concentração
Ecofisiologia

Botucatu - SP
2012

Instituto de Biociências – Departamento de Botânica
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-000 Botucatu SP Brasil
Tel 14 3811 6265/6053 fax 14 3815 3744 botanica@ibb.unesp.br



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst.
(Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa*.

Valter Henrique Marinho dos Santos

Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas (Botânica), Área de concentração
Ecofisiologia

Botucatu - SP
2012

Instituto de Biociências – Departamento de Botânica
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-000 Botucatu SP Brasil
Tel 14 3811 6265/6053 fax 14 3815 3744 botanica@ibb.unesp.br

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Santos, Valter Henrique Marinho dos.

Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst.
(Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa* / Valter Henrique
Marinho dos Santos. – Botucatu : [s.n.], 2012

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Botucatu

Orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Capes: 20303033

1. Fisiologia vegetal. 2. Alelopatia. 3. Cerrado. 4. Nictagináceas.
5. Alface.

Palavras-chave: Alelopatia; Bioensaios; Fitoquímica; Fitotoxicidade; *Neea
theifera*

DEDICO

Primeiramente a Deus, porque sem sua vontade nada teria acontecido.

Meu pai Valter, minha mãe Elzimar e irmã Gabriela, que sempre estiveram ao meu lado, compreendendo e me apoiando nas horas mais difíceis.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me conduzido durante todo esse trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus pais e minha irmã, por sempre estarem ao lado. Sem vocês, nada disso seria possível, amo você.

Ao meu orientador Dr. Regildo Márcio da Silva pela amizade, confiança e orientação.

Aos meus amigos de laboratório, João Guilherme Faggin Brigatti, Renan Kimura, Rogério Teixeira Brantes, André Alexandre Lívio e Thiago Augusto Campos, pelo auxílio nas análises dos experimentos.

Aos meus amigos, Glauco, Jefferson, Henrique e Thaís, pela amizade e apoio em todos os momentos, bons ou ruins.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira contribuiu para o desenvolvimento desse projeto.

Sumário

Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO CRÍTICA DA LITERATURA	4
2.1 Alelopatia.....	4
2.2 Alelopatia no cerrado.....	9
2.3 <i>Neea theifera</i>	10
2.4 Alelopatia na Agricultura.....	11
Capítulo 1.....	13
Resumo.....	14
Abstract.....	14
1. Introdução.....	15
2. Material e métodos.....	16
3. Resultados.....	20
4. Discussão.....	26
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
Referências.....	30
Tabelas.....	39
Figuras.....	44

Resumo: A alelopatia é um mecanismo de interação bioquímica entre vegetais, considerada uma forma de adaptação química defensiva das plantas. Neste fenômeno, biomoléculas produzidas por uma planta são liberadas para o meio ambiente e influenciam no crescimento e desenvolvimento de plantas vizinhas. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial alelopático de extratos e frações de folhas de *Neea theifera*, por meio de bioensaios de pré e pós-emergência. Para tanto, sementes e plântulas de *Lactuca sativa* foram tratadas com o extrato orgânicos (nhexânico, acetato de etila e metanólico) em diferentes concentrações (5, 10 e 20 mg/mL), e frações do extrato metanólico bruto de *Neea theifera*, além de um grupo controle negativo (água). O teste de viabilidade nas sementes submetidas aos extratos foi realizado pelo teste do tetrazólio, já o teste de fitotoxicidade foi elucidado pela determinação do índice mitótico. Foi realizada também uma triagem fitoquímica por meio de reações específicas para detecção de possíveis classes químicas dos extratos avaliados, além de avaliar o perfil cromatográfico por meio de cromatografia de camada delgada e reveladores específicos. De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos foi possível elucidar o potencial alelopático, assim como propor um mecanismo de ação dos aleloquímicos desta espécie.

Palavras-chave: Alelopatia; Bioensaios; Fitoquímica; Fitotoxicidade; *Neea theifera*

Abstract: Allelopathy is a mechanism of biochemical interaction between plants, considered a form of adaptation of plants. In this phenomenon, biomolecules are produced by a plant and are released into the environment and influence the growth and development of neighboring plants. The objective of this study was to investigate the allelopathic potential of extracts and fractions of leaves *Neea thieria* through bioassays pre-and post-emergence. For this purpose, seeds and seedlings of *Lactuca sativa* were treated with organic extract (hexânico, ethyl acetate and methanol) at different concentrations (5, 10 and 20 mg / mL), and fractions of the crude methanol extract *Neea thieria*, and a negative control (water). The test of viability in seeds subjected to the extracts was carried out by the tetrazolium test, already the test phytotoxicity was elucidated by determining the mitotic index. Was also carried out a phytochemical screening through specific reactions to detect possible chemical classes of extracts assessed, and to evaluate the chromatographic profile by thin layer chromatography and revealing specific. According to the methodology used and the results obtained it was possible to elucidate the allelopathic potential, and to propose a mechanism of action of allelochemicals of this species.

Keywords: Allelopathy, bioassays, Phytochemistry, Phytotoxicity, *Neea thieria*

1. INTRODUÇÃO

O primeiro registro sobre a capacidade das plantas interferirem no desenvolvimento de outros organismos foi descrito por Theophrastus (300 a.C.), um discípulo de Aristóteles, propondo que a leguminosa *Cicer arietinum* exauria o solo. Em 1832, o botânico De Candolle sugeriu que o cansaço da terra na agricultura era decorrente de exudatos liberados pelas plantas da própria cultura (Rice, 1984).

Somente em 1937, o pesquisador alemão Hans Molisch estudou o efeito do etileno no crescimento das plantas e cunhou a palavra “alelopatia”, proveniente da união de duas palavras gregas "allelon" e "pathos", que significa respectivamente "mútuo" e "prejuízo” e às substâncias responsáveis por essa propriedade é conhecida como aleloquímicos. Apesar do significado etimológico da palavra alelopatia, Molisch define que o termo engloba tanto efeitos benéficos quanto prejudiciais entre uma planta e outra (Einhellig, 1999).

Os aleloquímicos possuem uma natureza química bem diversificada que vai desde simples hidrocarbonetos a complexos compostos policíclicos com alto peso molecular. Tais compostos são em geral ácidos graxos de cadeia curta, óleos essenciais, diterpenos, alcalóides, esteróides, compostos fenólicos: flavonóides, naftoquinonas, antraquinonas e derivados de cumarina (Inderjit & Callaway, 2006).

Estudos na literatura revelaram que determinadas plantas na natureza têm a capacidade de sintetizar compostos que podem atuar no desenvolvimento e crescimento de outros organismos existentes no mesmo ecossistema (Rice, 1984). Para Miller (1996), o estudo dos aleloquímicos é fundamental, pois a ação de tais substâncias é de extrema importância para o entendimento das interações dos organismos, tanto nos ecossistemas naturais, como nos agrícolas.

Pesquisas recentes conduzidas com espécies do Cerrado têm mostrado a presença de compostos químicos com potencial alelopático em quase os todos tecidos vegetais estudados, incluindo folhas, flores, frutos, sementes, caules e raízes. O domínio cerrado sofre a ação de muitas perturbações, como o fogo, a baixa disponibilidade de nutrientes e a exposição ao déficit hídrico sazonal. Essas características agravam as interações ecológicas entre as espécies vegetais e destas com os fatores abióticos, e fazem deste bioma uma importante fonte de estudo do ponto de vista alelopático (Oliveira, 2003).

Nos agroecossistemas a alelopatia pode ter influência nas interações entre as plantas nas comunidades bióticas, na produtividade dos campos agrícolas e no controle de doenças. Uma vez que os aleloquímicos são comuns nos vegetais, admite-se a possibilidade de se obter herbicidas com vantagens ecológicas a partir de produtos naturais, podendo substituir os pesticidas sintéticos, assim reduzindo a poluição ambiental e aumentar a produtividade agrícola. Por meio da modificação de suas moléculas, o produto final pode ser mais ativo, seletivo ou persistente (Putnam, 1988).

Desta maneira, a identificação de compostos aleloquímicos pode ser importante para várias áreas de conhecimento como agricultura, etnobotânica, etnofarmacologia, sistemática, ecologia, fitoquímica e fisiologia vegetal. Portanto, este trabalho teve como objetivo investigar o potencial alelopático de *Neea theifera*, por meio do estudo da capacidade desta espécie interferir na germinação tanto pré como pós-emergente e a possível interação com o material genético, pela avaliação do índice mitótico. É objetivo deste também investigar as possíveis classes químicas envolvidas no processo alelopático. Este estudo é de fundamental importância para a pesquisa da interação da espécie *N. theifera* com outras espécies e a possível descoberta de novas substâncias biologicamente ativas.

2. Revisão Crítica de Literatura

2.1 - Alelopatia

A alelopatia pode ser definida como a interferência positiva ou negativa que compostos químicos produzidos por uma planta exerce sobre outros organismos (plantas, fungos, insetos e algas) (Rice, 1984; Anaya, 1999; Ferreira & Borghetti, 2004). Praticamente todas as partes da planta podem conter tais compostos (aleloquímicos) com atividade alelopática. Ainda, de acordo com Gottlieb (1982), os aleloquímicos são sinais químicos transmitidos ao ambiente, geralmente em pequena quantidade, e são responsáveis pelas múltiplas interações químicas entre os diferentes organismos.

Os aleloquímicos podem ter origem do metabolismo primário como secundário e ambos têm sua produção regulada por diversos fatores ambientais, como a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de água e nutrientes, textura do solo e microrganismos presentes (Chou & Kuo, 1986; Carmo et al., 2007). Há também influência de outros fatores, como a da radiação UV, doenças fitopatogênicas e ataque de insetos, que modificam diretamente a taxa de produção e liberação dos

aleloquímicos. Além disso, os fatores relacionados ao estresse podem aumentar a atividade biológica referente destas substâncias (Rizvi & Rizvi 1992; Einhellig, 1999; Inderjit et al. 2006).

Rice (1984) relata que os aleloquímicos podem ser divididos em diferentes categorias químicas: ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia curta, aldeídos alifáticos e cetonas; lactonas simples insaturadas; ácidos graxos de cadeia longa e poliacetilenos; naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas; fenóis simples, ácido benzoico, e derivados; ácido cinâmico e derivados; cumarinas; flavonóides; taninos; terpenoides e esteróides; aminoácidos e polipeptídeos; alcaloides e cianohidrinias; derivados sulfurados e glicosídeos de óleo mostarda e purinas e nucleosídeos.

Inúmeros são as substâncias químicas com potencial alelopático descritas na literatura, porém algumas classes químicas merecem uma maior atenção. As Saponinas podem ser formadas por triterpenoides glicosilados com cadeia polissacarídica hidrofílica ou por esteróides hidrofóbicos, característica que lhes conferem a propriedades detergente e, conseqüentemente, a capacidade de ligação a membranas celulares, afetando o funcionamento celular. São conhecidas por suas propriedades hemolíticas e toxidez para moluscos, insetos e fungos (Rizvi & Rizvi, 1992; Kokate, 1999).

Outra classe de interesse alelopático são os flavonóides, que estão presentes nas plantas em diversas formas e com variadas funções. Incluem flavonoides, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, proantocianinas, isoflavonoides, entre outros. Além das funções de pigmentos, atrativos ou repelentes de herbívoros, proteção contra radiação UV, estas substâncias apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir o crescimento de plantas e fungos (Rice, 1984; Sakihama et al., 2002; Shimoji & Yamasaki., 2005).

Já os taninos possuem a capacidade de se ligar a proteínas, geralmente de forma irreversível, formando precipitados. Essas substâncias estão envolvidas no papel de proteger a planta contra ataque de herbívoros invertebrados e vertebrados, reside ainda nesta característica, o sabor adstringente e difícil digestão, já que as enzimas digestivas não conseguem metabolizar esses precipitados (Santamaria, 1999; Cândido, 2007; Silva, 2007).

Quanto aos terpenoides, estes são geralmente insolúveis em água e são encontrados em resinas, ceras, látex e óleos essenciais. As plantas produzem uma

grande variedade dessas substâncias, que atuam como reguladores de crescimento, fitoalexinas e repelentes para insetos herbívoros (Ortega et al., 2001; Inejit & Duke 2003; Mairesse et al., 2007).

Nos que diz respeito aos derivados fenólicos, estes são estruturas com anel aromático e grupos hidroxila, tendo em sua maioria, origem a partir da fenilalanina. Estas substâncias atuam na defesa contra herbívoros e patógenos, na atração de polinizadores, na proteção contra a radiação ultravioleta e no estabelecimento de simbiose. Os compostos fenólicos compreendem ao maior grupo de metabólicos que foram identificados como alelopáticos (Inejit & Duke 2003; Alves et al., 2004; Carmo et al., 2007).

Por último, os alcaloides englobam mais de 12.000 estruturas já descritas, ficando atrás apenas dos terpenoides. Aproximadamente 20% das espécies vegetais acumulam alcaloides, moléculas caracterizadas pelo baixo peso molecular e pela origem a partir de fenilalanina, tirosina, triptofano e lisina (Putnam, 1988; Inderjit, 1996; Inderjit et al., 2006). De acordo com Rice (1984), vários alcaloides são capazes de inibir o crescimento de bactérias, além de serem tóxicos para alguns invertebrados.

Quanto a liberação destes compostos no ambiente, esta por ocorrer de diversas maneiras, por meio da volatilização, lixiviação, exudação radicular e a decomposição de resíduos de plantas no solo (Rice, 1984; Rizzardi et al., 2008). A volatilização é comum em plantas aromáticas e os aleloquímicos volatilizados são de difícil detecção ou identificação. Geralmente, destacam-se os terpenos, etileno, entre outros. Estes compostos podem ser facilmente liberados pelas folhas ou outras partes da planta e podem afetar diretamente o crescimento ou desenvolvimento de plantas que se encontram próximas (Durigan & Almeida, 1993; Souza et al., 2006).

Já o processo de lixiviação consiste na remoção de substâncias químicas das plantas vizinhas pela ação da água através da chuva, orvalho ou neblina. No solo estas substâncias podem sofrer degradação ou ação de microrganismos (Malheiros & Peres, 2001; Ferreira & Borghetti, 2004).

Na exudação radicular, esta é muito importante especialmente quando associada ao efeito de microrganismos no solo, que podem ter efeito direto com as raízes de outras plantas ou simplesmente ficar acumulada no solo (Reigosa et al., 1999; Macías et al., 2007).

A decomposição de produtos vegetais é decorrente do rompimento de tecidos de células ou extravasamento de conteúdo celular. No entanto, a atividade destas

substâncias no solo é normalmente transitória, uma vez que está sujeita à adsorção pelos colóides, degradação, inativação ou transformação pelos microrganismos (Almeida, 1988; Lara- Nuñez et al., 2006).

De acordo com Einhellig (1995 e 1996) os aleloquímicos estão presentes em diferentes órgãos, incluindo raízes, caules, folhas, flores, frutos e gemas de muitas espécies vegetais, mas a quantidade e o caminho pelos quais são liberados diferem de espécie para espécie. As substâncias químicas podem ser seletivas em suas ações e as plantas podem ser seletivas em suas respostas, por este motivo torna-se difícil sintetizar o modo de ação destes compostos (Seigler, 1996). No entanto, vários autores listaram inúmeros mecanismos de ação dos aleloquímicos, que afetam vários processos fisiológicos das plantas (Einhellig, 1999; Reigosa et al., 1999; Inderjit et al., 2006).

No que se diz respeito à ação dos aleloquímicos, os mesmos podem apresentar ação direta ou indireta sobre a planta alvo. A atuação indireta consiste nas alterações das propriedades e características nutricionais do solo e também nas populações e/ou atividade de organismos que habitam o solo. Quanto aos efeitos diretos, por sua vez, são mais estudados e compreendem alterações celulares e metabólicas, incluindo modificações no funcionamento de membranas, na absorção de nutrientes e de água, na atividade fotossintética e respiratória, no crescimento celular, na expressão e síntese de DNA e RNA entre outras (Rice, 1984; Reigosa et al., 1999; Inderjit & Nilsen, 2003).

Independente do modo de ação dos compostos alelopáticos, estes agem provocando mudanças que afetam diretamente a divisão celular e conseqüentemente culminando na inibição do desenvolvimento e crescimento das plantas e outros organismos. Porém, conforme Einhellig (1999 e 2004) é necessário uma bateria de testes laboratoriais que possam comprovar certamente qual a sequência da ação dos aleloquímicos nas plantas afetadas devido a grande diversidade química dos compostos alelopáticos.

Uma das técnicas mais utilizadas para estudo da alelopatia envolve o preparo de extratos com diferentes solventes (água, etanol, n-Hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol) e diferentes órgãos vegetais, o que vai definir o solvente e o órgão vegetal a ser utilizado no preparo do extrato, será a espécie vegetal estudada no trabalho. Quando empregada tal técnica, um dos fatores que pode ser observado é a influência desses extratos na germinação e no crescimento da raiz de plantas consideradas indicadoras de atividade alelopática, como a *Lactuca sativa* (alface), *Brassica chinesisnsis*. (couve-da-malásia), *Lycopersicum esculentum* (tomate) e *Cucumis*

sativus. (pepino) (Ferreira & Ranal, 1999; Loffredo et al., 2005). Para que seja indicada como planta teste, a espécie deve apresentar germinação rápida, uniforme e um grau de sensibilidade que permita expressar os resultados sob baixas concentrações das substâncias alelopáticas (Ferreira & Aquila, 2000; Hoagland & Williams, 2004).

Estudos comprovam a ação de aleloquímicos presentes nos extratos de diferentes espécies vegetais, extratos de *Hordeum vulgare* afetam a germinação e crescimento de *Triticum durum* (Ben-Hammouda et al. 2001), de acordo com Oudhia e Tripathi (2000), a planta invasora, *Parthenium hysterophorus*, tem ação alelopática na germinação de *Oriza sativa* e, de acordo com Delachiave et al. (1999), *Cynodon dactylon* afeta a germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa*.

Ferreira et al. (2007) realizou experimento com extratos etanólicos de *Eucalyptus citriodora* Hook. e *Pinus elliottii* L. com o objetivo de avaliar a germinação e o crescimento inicial de picão-preto e alface, e foi possível constatar que o extrato etanólico de *Pinus elliotti* não demonstrou efeito alelopático sobre o picão e a alface, porém o extrato de *Eucalypto citriodora* reduziu a velocidade de germinação de picão-preto.

Magiero et al. (2009) verificou a inibição total de *Latuca sativa* L. e *Euphorbia heterophylla* L (leiteiro) tratados com extrato aquoso (75 %) de folhas de *Artemisia annua* L. Também Belinelo et al. (2009) encontrou menor taxa de crescimento da radícula de sorgo e pepino a partir de sementes tratadas com extrato etanólico (100,0 mg/L) de *Arctium minus* (Hill) Bernh. Por outro lado, Alves et al. (2004) observaram uma inibição do crescimento da radícula e de plântulas de alface obtidas de sementes tratadas com óleos de canela, alecrim-pimenta e capim-citronela.

A maioria dos trabalhos relata que os compostos alelopáticos agindo como inibidores da germinação e do crescimento (Rawat et al., 1998; Vacarini et al., 1999; Periotto et al., 2004). Porém, alguns trabalhos demonstraram que estes compostos podem atuar também como promotores de crescimento (Yamada et al., 1995; Yokotani-Tomita et al., 1998; Leão, 2004). Aparentemente, a maior parte, se não todos os compostos orgânicos que são inibitórios em alguma concentração, são estimulantes em menores concentrações (Rice, 1984; Inderjit et al., 2006).

Souza Filho (2002) considera a alelopatia uma alternativa viável no manejo de plantas daninhas, devido a seu excelente potencial de interação e importância ecológica, assim como a possibilidade de fornecer novas estruturas químicas para produção de bioativos que combatam as pragas e sejam menos danosos ao ambiente.

2.2 - Alelopatia no Cerrado

O domínio do Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando uma área de 204,7 milhões de hectares na porção central do Brasil, sendo superado em área apenas pela Amazônia (Ribeiro & Walter 1998; Klink & Machado, 2005). Atualmente o cerrado é considerado como uma savana, com uma grande diversidade fisionômica, sendo composto por variadas fitofisionomias, que vão desde ambientes campestres (campo limpo) a uma florestal (cerradão), até fisionomias mais savânicas (campo sujo, cerrado e cerrado *sensu stricto*) (Coutinho, 2006).

A fisionomia savânica propriamente dita ocupa 67% da área de Cerrado e os cerradões perfazem 10%. Este amplo domínio justificaria considerar o Cerrado como um bioma de savana. Porém, do ponto de vista fitofisionômico pode-se dizer que o Cerrado não é um bioma único, mas um complexo de biomas, formado por um mosaico de comunidades pertencentes a um gradiente de formações ecologicamente relacionadas (Coutinho, 2006).

Pesquisas com espécies oriundas do Cerrado têm mostrado que extratos de diferentes partes vegetais apresentam ação alelopática no desenvolvimento e no crescimento de plantas alvo (Duke et al., 2000; Aires et al., 2005; Ayres et al., 2008).

O extrato metanólico das folhas de *Caryocar brasiliense* apresentou ação inibitória em diferentes concentrações sobre a germinação de sementes de *Panicum maximum*, com valores de inibição variando de 50 até 75% (Moreira et al., 2009). Em estudos realizados com extratos aquosos das folhas de *Eugenia dysenterica* DC., *Qualea parviflora* Mart., *Campomanesia adamantinum* Camb. e *Trembleya parviflora* (D. Don) Cogn. na concentração de 1% foi possível observar a redução em mais de 50% o crescimento radicular e induziram o desenvolvimento de raízes laterais de plântulas de gergelim (Borghetti et al., 2005).

Santana et al. (2006) constataram efeitos alelopáticos no extrato de *Copaifera langsdorffii* tanto na germinação como no desenvolvimento radicular de sementes de *Lactuca sativa*. Em *Aristolochia espararazae* O. Kuntze foi observado que extrato aquoso de diversas partes desta planta teve efeito sobre a germinação de alface e rabanete (Gatti et al., 2004).

Barreiro et al. (2005), avaliou o efeito alelopático de extratos de parte aérea de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) na germinação e desenvolvimento em plântulas de pepino (*Cucumis sativus*), observaram que o efeito do extrato foi mais significativo no desenvolvimento da plântula de pepino do que na germinação. Extratos

aquosos de folhas e frutos de *S. lycocarpum* apresentaram efeito inibitório na germinação e desenvolvimento inicial de gergelim (Aires et al., 2005).

Tais resultados mostram o potencial de espécies do Cerrado como fontes de substâncias químicas, abrindo frentes de estudo tanto sobre os efeitos alelopáticos a nível de relações ecofisiológicas como em sistemas agrícolas (Jeronimo et al., 2006).

2.3 - *Neea theifera*

Neea theifera (figura 1), popularmente conhecida como “capa-rosa-do-campo” pertence à família Nyctaginacea ocorre em fisionomias campestres de cerrado e em cerrado típico, no leste e norte do estado de São Paulo (Furlan, 1996). É classificada como árvore pequena com ramos rugosos, suas folhas são simples com cerca de 8cm de comprimento e 4cm de largura; as flores são unissexuadas, dispostas em panículas eretas terminais com ramificação divaricada; fruto núcula pequena, oblongo-ovóide, amarela avermelhada (Durigan et al., 2004). A florada normal vai de agosto a dezembro, frutificando de outubro a janeiro, mas novas floradas ocasionais podem ocorrer de fevereiro a abril (Furlan, 1996).

Em estudos etnofarmacológicos de *N. theifera* evidenciaram a atividade antidesintérica e contra entero-colite (Correa, 1984). Na medicina popular a folha da espécie é utilizada no tratamento de diarreia. Outros estudos etnofarmacológicos relatam também o uso dessa espécie no tratamento de afecções gástricas (Elvin- Lewis & Lewis, 1983). Na literatura outras espécies do gênero *Neea* também são descritos com propriedades medicinais, como por exemplo, no tratamento antiinflamatório e antiulcerogênico (Duke & Vasquez, 1994).

Poucos são os estudos fitoquímicos encontrados na literatura com espécies da família Nyctaginacea: *Boerhavia coccínea* e *Boerhavia erecta* apresentando taninos e saponinas (Edeoga & Ikem, 2002), *Boerhavia diffusa* com presença de rotenóides (Borrelli et al., 2005), *Bougainvillea glabra* com betacianinas e flavonóides (Heuer et al., 1991), *Bougainvillea spectabilis* Wild apresentando flavonóides e cumarinas (Chang et al., 1993) e *Colignonia scandens* Benth com saponinas (De Feo et al., 1998).

Em estudos fitoquímicos com extrato metanólico de folhas de *Neea theifera* realizados por Rinaldo et al. (2007) foi possível identificar nove classes de flavonas: vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina, vicenina-2, crisoeriol, apigenina, luteolina e luteolina-7-O-[2''-O-(5''-O-feruloil)-D-apiofuranosil]- β -D-glicopiranosídeo.



Figura 1. *Neea theifera* Oerst.
 Fonte: Durigan et al., 2004



Neea theifera
 (218°58'29,14"S e 48°16'30,04"W).

2.4 - Alelopatia na agricultura

Recentes estudos estão sendo realizados na tentativa de diminuir o uso de herbicidas comerciais por meio de manejos alternativo de ervas daninhas e pragas, rotação de culturas, sistemas adequados de semeadura entre espécies e entre safras, adubação verde, além de sistemas agroecológicos (Wu et al., 2000; Khan et al., 2002; Kato-Noguchi, 2003).

Dentro deste contexto a alelopatia pode ser uma alternativa para o manejo de diversas espécies de plantas invasoras e pragas agrícolas (Souza Filho, 2006a). Algumas substâncias químicas naturais têm servido como modelo para obtenção de novos herbicidas. Além disso, substâncias químicas com atividade alelopática comprovada podem ser concentradas e ter seu efeito alelopático potencializado em laboratório (Souza Filho et al., 2006b). A busca por produtos químicos de origem natural que causem baixo impacto ambiental estimula a pesquisa com produtos naturais, sendo a alelopatia uma alternativa interessante e viável para obtenção de novas substâncias que venham atender as necessidades atuais e futuras da agricultura (Salvador, 2006).

Um exemplo de substância química com atividade bioherbicida é representada pela classe dos compostos fenólicos. Tais substâncias encontradas em extratos de *Pinus laricio* foram capazes de inibir as enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase, glicose-fosfato isômerase e aldolase, enzimas relacionadas com síntese de açúcares (Muscolo et al., 2001). Em estudos realizados por Inderjit & Dakshini (1992), os compostos fenólicos oriundos da planta daninha *Pluchea lanceolata*, influenciaram o teor de

clorofila e taxa de fotossintética líquida de folhas de aspargo. Ainda, conforme Kruse et al. (2000) foi possível demonstrado que os ácidos hidroxâmicos cíclicos presentes em cereais atuam inibindo no crescimento de bactérias, vegetais e fungos.

Outra estratégia que pode ser adotada no controle de plantas daninha é a utilização de espécies de cobertura morta. Espécies vegetais com alta produção de matéria seca são utilizadas como cobertura morta em alguns casos, e tal característica pode leva a diminuição de plantas daninhas na área cultivada, seja por efeitos alelopáticos ou pela interação entre ambos (Favero, 2001; Salvador 2006).

Oliveira et al. (2001) utilizaram palha de milho como cobertura morta e observaram controle significativo de gramíneas e população total de plantas daninhas. Os resultados mostraram um controle de aproximadamente de 4% no total de invasoras para cada tonelada de palha adicionada à cultura.

Outro caso desse tipo de estratégia é a influência alelopática das coberturas mortas de casa de café e casca de arroz em lavouras de café sobre o controle de *Amaranthus viridis* L. Ambas as coberturas inibiriam a germinação de *A. viridis*, porém a cobertura com casca de arroz mais eficaz em relação ao índice de inibição (Santos et al., 2001).

Rizvi & Rizvi (1992) enfatiza que um sistema adequado de alternância de semeaduras entre espécies pode ser uma opção sustentável, quando aplicada corretamente pode aumentar a produção agrícola. Nestas associações, o conhecimento das potencialidades alelopáticas é de essencial importância para o sucesso do sistema.

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é exemplo de espécie vegetal que pode ser empregada em técnicas de alternância de semeaduras (Pelegri, 1985). Pasqualetto et al. (2007) notou, em estudos desenvolvidos no campo, que espécies vegetais infestantes à cultura de soja, podem ser reduzidas quando o girassol é cultivado antes da soja e concluiu que esta redução pode ter ocorrido pela interferência alelopática desenvolvida por resto vegetais do girassol deixada no solo.

Tal fenômeno pode ser explicado, pois é comum a presença de metabólitos secundários como fenóis e terpenos em diversas variedades de girassol, substâncias que apresentam funções importantes nos vegetais, que podem agir como compostos de defesa contra insetos, herbívoros e fungos, além, de limitar o crescimento de outras plantas no solo (Kupidlowaska et al., 2006).

Capítulo 1

Scientia Horticulturae

Artigo Original

Potencial alelopático de *Neea theifera*

Valter Henrique Marinho dos Santos⁽¹⁾ e Regildo Marcio Gonçalves Silva⁽²⁾

⁽¹⁾ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Botânica, Fisiologia Vegetal, Distrito de Rubião Jr., s/nº, CEP: 18618-970, Botucatu, São Paulo, Brasil. e-mail: valter@ibb.unesp.br

⁽²⁾ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Departamento de Ciências Biológicas - Laboratório de Fitoterápicos, Avenida Dom Antônio 2100, CEP: 19806-900, Assis, São Paulo, Brasil.
e-mail: regildos@yahoo.com.br

* Autor para correspondencia. Tel.: +551833244135; fax: +551833241448
e-mail: valter@ibb.unesp.br

Resumo: A *Neea theifera*, popularmente conhecida como “capa-rosa-do-campo” pertence à família Nyctaginacea ocorre em fisionomias campestres de cerrado e em cerrado típico, no leste e norte do estado de São Paulo, e é muito conhecida pelo seu uso na medicina folclórica e como espécie potencialmente alelopática. Por tanto este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial alelopático dos extratos orgânicos e frações das folhas de *N. theifera* por meio de bioensaios de germinação (pré e pós emergência) e a avaliação fitotóxica (índice mitótico) com sementes de *Lactuca sativa*. A triagem fitoquímica e o perfil cromatográfico foram feitos para detectar as possíveis classes de substâncias presentes nos extratos orgânicos e frações testadas. Os tratamentos alteraram os diferentes índices de germinação, o comprimento radicular e interferindo também no índice mitótico. Os testes fitoquímicos mostraram a presença de substâncias como triterpenos, cumarinas, saponias, taninos, flavonóides e outros compostos polifenólicos que podem estar associados diretamente com os resultados de pré emergência, pós emergência e fitotoxicidade.

Palavras chave: pré emergência, pós emergência, fitotoxicidade, fitoquímica, *Neea theifera*.

Abstract: The *Neea theifera*, popularly known as "capa-rosa-do-campo" belongs to the family in Nyctaginacea occurs faces of savannah grassland and savanna typical in the east and north of the state of São Paulo, and is well known for its use in medicine folk and as a species potentially allelopathic. Therefore this study aimed to evaluate the allelopathic potential of organic extracts and fractions from leaves of *N. Theifera* through germination bioassays (pre and post emergence) and evaluation phytotoxic (mitotic index) with seeds of *Lactuca sativa*. The phytochemical and chromatographic profile were made to detect the possible classes of organic substances present in the extracts and fractions tested. The different treatments altered the indexes of germination, root length and also interfering in the mitotic index. The phytochemical tests showed the presence of substances such as triterpenes, coumarins, soapwort, tannins, flavonoids and other polyphenolic compounds that may be associated directly with the results of pre emergence, post emergence and phytotoxicity.

Keywords: pre emergence, post emergence, phytotoxicity, phytochemistry, *Neea theifera*.

1. Introdução

O manejo de plantas invasoras e pragas agrícolas vêm sendo baseado principalmente no controle químico. A utilização freqüente e inadequado de herbicidas pode acarretar diversos problemas, como o desequilíbrio dos ecossistemas, alteração das propriedades físicas e químicas da água e do solo (Einhellig, 1996; Anaya, 1999; Macías et al., 2007). Apesar disso, é inegável que os herbicidas facilitam consideravelmente a produção de alimentos. Diante dessa realidade, métodos alternativos de controle de plantas daninhas e pragas são necessários e estão sendo pesquisados por vários profissionais de diferentes áreas (Favero et al., 2001; Ayres et al., 2008).

Algumas espécies vegetais podem interferir no crescimento e no desenvolvimento de outros organismos que estão nas suas proximidades, tal característica tem sido investigada nos últimos anos como alternativa ao uso de herbicidas sintéticos (Kruse et al., 2000; Inderjit e Duke, 2003). Esse fenômeno é conhecido como alelopatia, e é definido como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta sobre outra, mediante produção de compostos químicos (aleloquímicos) que são liberados no ambiente (Rice, 1984; Inderjit e Nilsen, 2003; Alves et al., 2004).

No cerrado, a alelopatia é responsável pelas interações interespecíficas e intraespecíficas na estabilização e manutenção das diferentes formas de vida presentes neste bioma (Durigan et al., 2004; Aires, 2005). Entre inúmeras espécies de vegetais ocorrentes no cerrado a *Neea theifera* (Nyctaginaceae) destaca-se pelos relatos populares por possuir uma característica ecológica peculiar, pois abaixo de sua copa não ocorre o desenvolvimento de outras espécies vegetais.

Neea theifera, popularmente conhecida como “capa-rosa-do-campo” pertence à família Nyctaginaceae. Ocorre em fisionomias campestres de cerrado e em cerrado típico, no leste e norte do estado de São Paulo (Furlan, 1996). É classificada como árvore pequena, com ramos rugosos, folhas simples, flores dispostas em panículas e frutos oblongos com coloração amarela avermelhada (Durigan et al., 2004; Lorenzi 2000). Trabalhos fitoquímicos realizados com folhas da espécie levaram ao isolamento de flavonóides, mostrando assim que a planta tem capacidade de sintetizar compostos com potencial alelopático (Rinaldo, et al., 2007).

Dada a peculiaridade ecológica e a possível capacidade de sintetizar compostos

aleloquímicos dessa espécie, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial alelopático de extratos e frações de extratos foliares de *Neea theifera*, por meio de bioensaios de germinação de sementes e no desenvolvimento radicular das plântulas de *Lactuca sativa* L (alface). Assim como avaliar a fitotoxicidade por meio da determinação do índice mitótico em células meristemáticas de raízes de *L. sativa* e caracterizar os compostos químicos presentes nos extratos e frações foliares desta espécie.

2. Material e Métodos

2.1. Material Biológico

As folhas de *Neea theifera* foram coletadas de um espécime da região de cerrado do município de Uberlândia/MG (218°58'29,14"S e 48°16'30,04"W). Após a coleta, as folhas de *Neea theifera* foram separadas, lavadas e secas em estufa de ar forçado com a temperatura média de 40°C. Depois de secas foram trituradas em moinho de facas, o pó obtido foi submetido à extração por agitação mecânica com diferentes solventes orgânicos (n-Hexano, Acetato de Etila e Etanol), na proporção de 1:10(p/v) por 24 horas. Após este período o extrato obtido foi filtrado e o resíduo das folhas foi novamente extraído com o mesmo solvente por 24 horas, este processo foi repetido três vezes. Os extratos filtrados resultantes das extrações foram reunidos e concentrados com o auxílio de um evaporador rotativo na temperatura média de 50°C. O extrato seco resultante foi armazenado em vidro âmbar.

2.2. Fracionamento do extrato metanólico

O extrato bruto metanólico das folhas de *Neea theifera* (obtido no item 3.1) foi fracionado em uma coluna cromatográfica com cerca de 75% de Sílica Gel 60 (Sigma-Aldrich®) e 25% de sílica incorporada com 2,0g de extrato. Foi passada a seqüência de solventes para a eluição: n-Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila, Acetato de Etila:Metanol (70:30), Acetato de Etila: Metanol (50:50), Acetato de Etila: Metanol (30:70), Metanol. As mudanças de solventes foram realizadas sempre que a fração permanecia sem evidência de separação. As frações filtradas foram concentradas no evaporador rotativo a 40±2°C. Em seguida, foram submetidas ao bioensaio tanto para pré como pós-emergente.

2.3. Bioensaio de pré emergência

O bioensaio de pré emergência foi realizado com sementes de *Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids (Alface) por meio do controle da germinação das sementes destas plantas em placa de *Petri* e papel de germinação, com umidade relativa, temperatura e luminosidade controlada artificialmente em estufas de Germinação tipo BOD. Para tanto foi montado um experimento em delineamento inteiramente casualizado (DIC), onde placas de *Petri* foram separadas em grupos experimentais e controles, contendo 50 sementes de alface em cada placa, com quatro repetições para cada grupo, experimentais (tratados com os extratos orgânicos e frações nas concentrações de 5, 10 e 20 mg/mL) e controle negativo (água). Como critério para avaliação da germinação foi utilizada a protrusão e a curvatura geotrópica da radícula, conforme indicado por Labouriau (1983). As sementes que apresentaram falsa germinação por embebição não foram contabilizadas nos resultados.

O monitoramento da germinação das espécies foi realizado a cada 06 horas, durante 48 horas. Com os dados obtidos no bioensaio, foram calculados os seguintes índices: germinabilidade ou porcentagem de germinação $([\sum ni/A]100)$; tempo médio de germinação $[Tm=(\sum ni.ti)/ \sum ni]$; velocidade média de germinação $[Vm= 1/Tm]$ e sincronismo da germinação $[E=-\sum (fi.log2.fi)]$, onde ni =número de aquênios que germinam em cada tempo ti , A =número total de aquênios colocados para germinar; ti =tempo entre o início do experimento e a i -ésima (dia ou hora) de observação; fi =frequência relativa de germinação (Labouriau, 1983; Santana e Ranal, 2004; Ranal et al., 2009).

2.3. Teste de Viabilidade de Sementes (Tetrazólio)

As sementes avaliadas na pré-emergência e não germinadas foram descascadas e imersas em solução de 2,3,5 trifenil-cloreto-de-tetrazólio a 0,5%, por 6 horas, sob temperatura de 30°C no escuro, conforme descrito nas regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Após este período os padrões de coloração foram avaliados na secção interna das sementes, e foram observadas as colorações róseas (vivas), róseas com manchas brancas nas partes centrais (metabolicamente comprometidas) e negras (necrosadas e mortas), para caracterizar o estado metabólico das sementes não germinadas.

2.4. Bioensaio pós emergência

O bioensaio foi realizado conforme metodologia proposta por Soares (2000) e Alves et al., (2004). As sementes de alface foram previamente germinadas em placas de *Petri*, forradas com papel de germinação umedecido com água destilada. Depois de 24hs em condições de estufa BOD, as plântulas com comprimento médio de 2mm da raiz foram utilizadas no bioensaio, montado em DIC, com placas de *Petri* contendo como substrato papel de germinação, umedecidos com 1mL dos extratos orgânicos e frações em diferentes concentrações (5, 10 e 20mg/mL). Separadas em grupos experimentais e controle, contendo 25 plântulas em cada placa, com quatro repetições para cada tratamento e para o controle (água destilada).

O seguimento evolutivo dos tratamentos foi realizado pela observação e medição das raízes primárias das plântulas, por meio de um paquímetro digital (DIGIMESS[®]), a cada 24 horas até completar 48 horas de exposição.

2.5. Determinação do Potencial Osmótico

A determinação do potencial osmótico foi realizada de acordo com técnica descrita por Villela et al (1991). O tratamento foi avaliado por soluções osmóticas obtidas com a utilização de Polietileno glicol 6000 (PEG 6000), nas quantidades indicadas para estabelecer os potenciais osmóticos de -0,01 a -1,0MPa. Os valores dos potenciais osmóticos obtidos nas soluções de PEG6000 foram comparados com os valores encontrados nos extratos orgânicos e frações de *Neea theifera*.

2.6. Determinação do Índice Mitótico

Para verificar a atividade fitotóxica do extrato de *N. theifera* foi determinado o índice mitótico em células meristemáticas de raízes de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de extratos orgânicos e frações (5, 10 e 20mg/mL). Plântulas de alface previamente germinadas em água destilada e com comprimento médio de 1mm de raiz foram colocadas em placas de *Petri*, utilizando-se como substrato papel germinação estéril umedecidos com 1mL das diferentes concentrações. As placas de *Petri* foram colocadas em condições de estufas tipo BOD. A coleta das raízes foi realizada após as mesmas atingirem comprimento acima de 5mm. Estas foram fixadas em Carnoy (álcool etílico absoluto e ácido acético glacial, 3:1) por 24horas e estocadas em álcool 70% em geladeira.

As raízes foram hidrolisadas em ácido clorídrico (HCl) 1N a 60°C, durante 6 minutos, e posteriormente coradas com carmin acético 2% (aproximadamente por 15 minutos). Em seguida foram esmagadas com ácido acético 45% e as lâminas foram montadas e analisadas em microscópio óptico (aumento de 1000x com auxílio de óleo de imersão) conforme descrito por Guerra e Souza (2002).

Foram utilizadas 10 raízes por parcela, onde foram observadas 5000 células/tratamento. Foi analisado o índice mitótico (n° total de células em divisão/ n° total de células analisadas x100).

2.7. Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica dos extratos orgânicos e frações de *N. theifera* foi realizada com o propósito de identificar as classes de compostos químicos presentes na planta. Amostras (50 g de folhas de *N. theifera*) foram extraídas com 250 mL de água-etanol (30:70) a 60°C (banho-maria) sob agitação magnética e aquecida durante 2 horas. As soluções foram filtradas e concentradas com um evaporador rotativo. As análises foram realizadas por meio de métodos colorimétricos e de precipitação conforme descrito por Carvalho et al. (2008).

2.8. Cromatografia em camada delgada do extrato metanólico e frações de *Neea theifera*.

Foram realizadas cromatografias em camada delgada (CCD) para separação e identificação dos compostos presentes no extrato metanólico e frações (acetato de etila/metanol (70/30), acetato de etila, butanol e água). Na análise por CCD, realizada pela otimização de metodologias descritas por Wagner et al., 1984, foram preparadas amostras de 2mg/mL do extrato e frações e diluídas em metanol, a partir das quais foram aplicadas 20µl em cromatoplasmas de sílica gel em alumínio F250 (10 cm x 10 cm - MERCK).

Como fase móvel foi utilizada inicialmente o sistema eluente Clorofórmio-metanol-água (75:23:2). A revelação das placas foram realizadas por nebulização com os reveladores anisaldeído e 2-aminoethyl diphenylborinate seguido de aquecimento a 100°C em sistema fechado. Após a definição das zonas cromatográficas, foram calculados seus respectivos fatores de referência (R_f) utilizando a seguinte fórmula: $R_f = \frac{Z_{cm}}{FRONT \text{ cm}}$.

2.9. Tratamento Estatístico

A análise estatística foi realizada com o teste de normalidade de Shapiro-Wilks e homogeneidade de Levene. Os dados mostraram normalidade e as variâncias foram homogêneas, por tanto, os dados foram analisados por meio de testes paramétricos ANOVA e Tukey ($\alpha=0,5$). Estes testes foram realizados com auxílio do software SISVAR, de acordo com o proposto por Santana e Ranal (2004) e Pereira et al. (2009). Para o índice mitótico os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Kruskal–Wallis ($p<0,05$) (Sampietro, et al., 2006).

3. Resultados

3.1. Efeito dos extratos orgânicos de *Neea theifera* na germinação de sementes de *Lactuca sativa*.

Na tabela 1 estão apresentados os índices de germinação para sementes tratadas com diferentes extratos orgânicos. A porcentagem média de germinação para as sementes tratadas com 5mg/mL de extrato N-hexânico foram significativamente diferentes em comparação às tratadas com 10 e 20mg/mL, sendo que estas não apresentaram diferença entre si, mas diferiram estatisticamente do grupo controle. Quanto ao tempo e velocidade média de germinação, não houve diferença entre os grupos experimentais, porém diferiram estaticamente quando comparados com o controle. Já o sincronismo, os tratamentos diferiram entre si, mas quando comparados com o controle a concentração de 10 mg/mL não apresentou diferença estatística.

Nos índices, porcentagem, tempo e velocidade média de germinação para as sementes de alface submetidas a diferentes concentrações de extrato de acetato de etila, foi observado que a concentração de 5mg/mL diferiu estatisticamente dos demais grupos experimentais, porém quando comparado com o controle água não apresentou diferença significativa. No sincronismo da germinação, os grupos experimentais diferiram significativamente entre si, mas quando comparados com a água o tratamento 10mg/mL não apresentou diferença (Tabela 1).

No extrato etanólico, o índice de germinabilidade mostrou que os grupos experimentais diferiram entre si e quando comparados com o controle. Nos índices tempo e velocidade média de germinação, os grupos experimentais não diferiram significativa entre si, porém apresentaram diferença quando comparados com o grupo controle. No sincronismo da germinação a concentração de 20mg/mL diferiu

estatisticamente das demais concentrações, mas quando comparado com o controle não apresentou diferença (Tabela 1).

Tabela 1. Germinabilidade (G), tempo médio (Tm), velocidade média (Vm) e sincronismos (E) de germinação de sementes de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes concentrações de extratos orgânicos de *Neea theifera* (5, 10 e 20 mg.mL⁻¹).

3.2. Efeito dos extratos orgânicos de *Neea theifera* no comprimento radicular de plântulas de *Lactuca sativa*.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores do comprimento radicular médio de plântulas de alface. As plântulas submetidas aos extratos etanólico e de acetato de etila, apresentaram diferença significativa no comprimento radicular médio tanto na medição de 24 como na de 48 horas. Sendo que esta diferença ocorreu entre os grupos tratados com as diferentes concentrações e quando comparados com o controle água.

Já no extrato N-hexânico, após 24 horas foi possível observar que os grupos experimentais não apresentaram diferença estatística entre si e quando comparados com o grupo controle água. Após 48 horas de exposição, observou-se que a concentração de 5mg/mL diferiu estatisticamente dos demais grupos experimentais, porém quando comparado com o controle água não apresentou diferença significativa (Tabela 2).

Tabela 2. Média e desvio-padrão do comprimento radicular de plântulas de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes concentrações de extratos orgânicos de *N. theifera* (5, 10 e 20 mg.mL⁻¹) após 24 e 48 horas de exposição.

3.3. Efeito das frações de *Neea theifera* na germinação de aquênios de *Lactuca sativa*.

Na Tabela 3 estão apresentados os índices de germinação para sementes tratadas com diferentes frações do extrato metanólico em distintas concentrações. Nos testes de pré emergência foi observado que o índice, porcentagem média de germinação apresentou diferença estatística quando as frações são comparadas com o controle água. Quando as frações são comparadas entre si, as frações N-hexânica 5mg/mL e diclorometano 10mg/mL não diferiram entre si, mas quando comparadas com as demais frações apresentaram diferença estatística. O mesmo foi observado para os grupos tratados com as frações: Acetato de etila 20mg/mL, acetato de etila 70/30 metanol nas concentrações de 10 e 20mg/mL e o outro grupo formado pelas frações acetato de etila

50/50 metanol 10mg/mL, acetato de etila 30/70 metanol 10mg/mL e metanol 10mg/mL, as frações que estão incluídas no mesmo grupo não se diferem entre si, porém apresentam diferença quando comparadas com os demais.

Nós índices, tempo e velocidade média de germinação, foi observado que as frações não apresentaram diferença significativa entre si, porém todas diferiam quando comparadas com o grupo controle. No sincronismo de germinação, somente a fração Acetato de etila 20mg/mL diferiu das demais frações, e quando comparada com a água, a fração não apresentou diferença estatística.

Tabela 3. Germinabilidade (G), tempo médio (Tm), velocidade média (Vm) e sincronismos (E) de germinação de sementes de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes frações do extrato metanólico de *Neea theifera* (5, 10 e 20 mg.mL⁻¹).

3.4. Efeito das frações de *Neea theifera* no comprimento radicular de plântulas de *Lactuca sativa*.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores do comprimento radicular médio de plântulas de alface. Nos experimentos realizados com a fração de N-hexano, foi observado que após 24 horas de exposição os tratamentos diferiam entre si, porém quando comparados com o grupo controle, a concentração de 10mg/mL não apresentou diferença estatística. Já após 48 horas, os grupos experimentais não apresentaram diferença entre si, mas diferiram quando comparados com o controle água.

Na fração metanólica, após 24 horas exposição os grupos experimentais diferiam entre si, mas quando comparados com o controle, a concentração de 5mg/mL não apresentou diferença significativa. Decorrido 48 horas de exposição, foi observado que os grupos experimentais diferiram entre e si e quando comparados com o controle (Tabela 4).

Para a fração de diclorometano, foi observado que decorrido 24 horas os tratamentos diferiam entre si, porém quando comparados com o grupo controle, a concentração de 10mg/mL não apresentou diferença estatística. Após 48 horas de exposição, o comprimento radicular médio dos grupos experimentais apresentou diferença estatística entre si e quando comparados com o controle água (Tabela 4).

A análise do comprimento médio de radículas de alface submetidas a diferentes concentrações de frações de acetato de etila, mostrou que após 24 horas de exposição os grupos experimentais diferiram entre si, porém quando comparados com o controle, a

concentração de 5mg/mL não apresentou diferença estatística. Já após 48 horas decorridas, observou-se que os grupos experimentais diferiram entre si e quando comparados com o controle (Tabela 4).

Na fração acetato de etila 30/70 metanol, tanto na medição de 24 como 48 horas, foi observado que o tratamento diferiu estatisticamente do controle água (Tabela 4).

Para as diferentes concentrações de fração de acetato de etila 50/50 metanol, tanto na medição de 24 como 48 horas, foi observado que os grupos experimentais diferiram entre si e quando comparados com o controle (Tabela 4).

Na fração de acetato de etila 70/30 metanol, após 24 horas foi possível observar que os grupos experimentais 10 e 20mg/mL não apresentaram diferença significativa entre si, mas diferiram estatisticamente do grupo tratado com 5mg/mL, porém quando foram comparados com os grupos controle, as três frações diferiram estatisticamente. Já após 48 horas de exposição, observou-se que os tratamentos diferiram entre si e quando comparados com o controle (Tabela 4).

Tabela 4. Média e desvio-padrão do comprimento radicular de plântulas de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes frações do extrato metanólico de *Neea theifera* (5, 10 e 20 mg.mL⁻¹) após 24 e 48 horas de exposição.

3.5. Potenciais osmóticos dos extratos orgânicos e frações de *Neea theifera*.

Nas tabelas 5 e 6 estão apresentados os valores dos potenciais osmóticos aferidos para os diferentes extratos orgânicos e para as frações obtidas do extrato metanólico. A variação dos potenciais osmóticos para os extratos orgânicos foi de -1,95 a -3,71 Bar (Tabela 5), e nas frações foi de -3,3 a -3,8 Bar (Tabela 6).

Tabela 5. Potencial osmótico dos extratos orgânicos de *Neea theifera*

Tabela 6. Potencial osmótico das frações do extrato metanólico bruto de *Neea theifera*

3.6. Determinação do índice mitótico em células meristemáticas de raiz de *L. sativa*

Na tabela 7 estão apresentados os índices mitóticos para as células das raízes de alface expostas a extratos e frações de *N. theifera*. Os tratamentos: extrato metanólico (EB), extrato de acetato de etila (EO), fração acetato de etila 70/30 metanol 1, 2 e 5mg/mL (EF1, EF2 e EF3, respectivamente) apresentaram índice mitótico de 10,06;

10,26; 9,82; 7,30 e 8,60 respectivamente, sendo que somente o tratado EF2 apresentou valores estatisticamente diferentes aos demais tratamentos, e quando comparado com o controle água. Apesar de não apresentar diferença estatística do grupo controle, o extrato metanólico e o extrato acetato de etila apresentaram um maior índice mitótico quando comparado com os demais.

O número de interfases encontradas é maior no grupo tratamento acetato de etila 70/30 metanol 2mg/mL quando comparado com os demais tratamentos e grupo controle. Em relação à prófase, a maior quantidade de células nessa fase é encontrada no extrato acetato de etila (EO), comparados com outros grupos experimentais e controle (Tabela 7).

A quantidade de células em metáfase é maior no grupo experimental submetido ao extrato metanólico (EB), em comparação deste com os outros tratamentos e controle água. Já o número de anáfase e telófase foi observado no tratamento acetato de etila 70/30 metanol 1mg/mL, apresentando uma maior quantidade de células nessas duas fases quando comparados com os demais tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7. Índice mitótico de células meristemáticas de raiz de alface tratadas com extratos brutos (metanol e acetato de etila) e diferentes concentrações da fração acetato de etila 70/30 metanol (1, 2 e 5mg/mL) e controle água.

3.7. Triagem fitoquímica

Para identificação dos principais compostos químicos presentes nos diferentes extratos orgânicos das folhas de *Neea theifera* foi realizado uma triagem fitoquímica e os resultados estão apresentados nas tabelas 8, 9 e 10.

O resultado da triagem do extrato metanólico mostrou uma baixa quantidade de triterpenos esteroidais, cumarinas e saponias. Os flavonóides e taninos condensados foram os compostos mais presente na triagem fitoquímica deste extrato (Tabela 8).

No extrato aceto etílico, observou-se o mesmo que na triagem do extrato metanólico, a única diferença é uma maior quantidade de flavonóides se comparado com a análise do extrato metanólico (Tabela 9).

Já a triagem fitoquímica do extrato n-hexânico foi possível observar uma pequena quantidade de flavonóides e taninos condensados (Tabela 10).

Tabela 8. Triagem fitoquímica do extrato metanólico das folhas de *Neea theifera*.

Tabela 9. Triagem fitoquímica do extrato aceto etílico das folhas de *Neea theifera*

Tabela 10. Triagem fitoquímica do extrato N-hexânico das folhas de *Neea theifera*

3.8 - Perfil cromatográfico

A figura 1 apresenta o cromatograma em CCD revelada com o reagente 2-aminoethyl diphenylborinate submetida a luz ultravioleta, onde foram aplicadas e eluídas as amostras de extrato e das frações avaliadas, estão identificadas de acordo com a seguinte numeração: 1 - extrato metanólico, 2 - Fração acetato de etila 70/30 metanol, 3 - Fração acetato de etila, 4 - Fração butanólica, 5 - Fração Água, 6 - Padrão rutina, 7- Padrão Quercetina e 8 - Padrão Ácido gálico. A eluição cromatográfica e os cálculos dos referidos valores de Rf das diferentes amostras indicaram a presença de compostos polifenólicos no extrato e nas diferentes frações.

O extrato metanólico apresentou os Rfs (0,56 e 0,64 cm), valores semelhantes encontrados no padrão quercetina (Rfs= 0,55 e 0,63cm). A fração acetato de etila 70/30 metanol apresentou os Rfs (0,54 e 0,63cm) e estes são semelhantes ao padrão de quercetina (Rf=0,55 e 0,63cm). Para a fração acetato de etila foi observado Rfs (0,54 e 0,62cm) semelhantes aos encontrados para o padrão quercetina (Rfs = 0,55 e 0,63cm). Na fração butanólica foram encontrados Rfs (0,26; 0,54cm e 0,64cm) semelhante aos encontrados para o ácido gálico (Rf= 0,27cm) e quercetina (Rfs= 0,55 e 0,63cm). Já na fração aquosa não foi observado presença de polifenóis na metodologia adotada para CCD.

As diferentes amostras avaliadas ainda apresentaram Rfs diferentes ao dos padrões utilizados para comparação cromatográfica, sugerindo assim, a presença de diferentes classes de polifenóis na composição fitoquímica do extrato e das diferentes frações avaliadas.

A placa cromatográfica revelada com o reagente anisaldeído para identificação de alcalóides de compostos nitrogenados, não apresentou evidências da ocorrência destes compostos no extrato e nas diferentes frações avaliadas.

Figura 1. Cromatograma do extrato metanólico (1), frações acetato de etila 70/30 metanol (2), acetato de etila (3), butanólico (4) e água (5) de *N.theifera*, e padrões rutina (6), quercetina (7) e ácido gálico (8) em sistema eluente Clorofórmio-metanol-água

(75:23:2): com revelação em presença de 2-aminoethyl diphenylborinate. Identificação das zonas cromatográficas com seus respectivos valores de Rf (cm).

4. Discussão

Estudos realizados por Rinaldo et al. (2007) identificaram nove possíveis classes de flavonas em extrato metanólico de *N. theifera*, sendo estas compostos passíveis de possuir potencial alelopático. Esta observação pode ser comprovada pelos resultados obtidos nos bioensaios avaliados neste estudo, pois os mesmos mostraram que os extratos orgânicos e frações de folhas de *N. theifera* possuem um significativo potencial alelopático.

Na literatura é comum encontrar que o efeito alelopático pode atuar tanto no desenvolvimento inicial de uma plântula alvo como nos seus índices de germinação (Ferreira & Aquila, 2000; Inderjit e Duke, 2003; Alves et al., 2004). Os resultados obtidos no presente estudo mostraram alterações nos índices de germinação (Tabela 1 e Tabela 3) tanto nos testes realizados com os extratos orgânicos como nos das frações. De acordo com Labouriau (1983) e Maraschin-silva et al. (2006), tais alterações indicam a interferência dos aleloquímicos nas reações metabólicas que culminam na germinação.

Rice (1984) e Inderjit et al. (2006) relatam que as alterações no padrão de germinação podem resultar de diversos efeitos causados em nível primário. Entre eles destacam-se alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, no funcionamento de mensageiros secundários, na respiração, devido ao seqüestro de oxigênio, na conformação de enzimas e receptores, ou ainda pela combinação destes fatores.

Outro fator que pode interferir no processo de germinação é o potencial osmótico, e este no presente estudo se manteve baixo e dentro de padrões adequados para a germinação quando comparados com dados da literatura. Para *Mimosa bimucronata* (DC.) OK., potenciais osmóticos situados entre -0,158 e -0,414 MPa são capazes de afetar sua germinação e seu crescimento (Astarita et al., 1996). Gatti et al. (2004) recomendam que o potencial osmótico de extratos envolvendo testes de germinação não ultrapasse valores -0,2MPa. Extratos hidroalcoólicos podem apresentar determinados solutos que alteraram a propriedade da água, resultando numa pressão osmótica diferente de zero na solução (Villela et al., 1991).

Quanto ao teste de tetrazólio sobre as sementes não germinadas, provenientes do teste de germinação, todos os aquênios tratados com as diferentes concentrações do extrato apresentaram-se viáveis e/ou dormentes, enquanto que os aquênios do grupo controle apresentaram-se mortos.

Quanto ao desenvolvimento radicular, geralmente se constata uma redução no tamanho do eixo hipocótilo-raiz das plântulas submetidas aos extratos vegetais (Carmo et al., 2007; Ferreira et al., 2007) sendo que este mesmo efeito foi observado nos grupos experimentais dos extratos orgânicos e frações de *N. theifera*. (Tabela 2 e 4). Miró et. al (1998) e Aquila (2000) observaram em seus estudos que um efeito alelopático é mais pronunciado sobre o desenvolvimento inicial de uma plântula alvo quando comparado à germinação, já que este último processo utiliza reservas da própria semente. Entretanto, os resultados obtidos no presente estudo revelaram efeitos tanto sobre o desenvolvimento vegetativo quanto sobre a germinação (Tabela 1, 2, 3 e 4).

Alguns dos efeitos causados por aleloquímicos são reflexos secundários de alterações que ocorrem a nível molecular (Rizvi et al., 1992). Cruz-Ortega et al. (1998) relatam que o endurecimento e escurecimento dos ápices radiculares são evidências de alterações morfológicas e ultraestruturais causadas por fitotoxinas. Tais aspectos, como endurecimento e escurecimento do ápice radicular, foram observados nos grupos experimentais de extratos orgânicos e frações de *N. theifera*.

Nos resultados de índice mitótico, foi possível observar que a fração acetato de etila 70/30 metanol na concentração de 2 mg/mL foi o tratamento que apresentou menor número de células em divisão (Tabela 7). O efeito citotóxico foi observado na concentração intermediária da fração em relação às demais grupos experimentais e ao controle, isso pode ter ocorrido devido à relação extrator/metabólito secundário facilitando a extração de um determinado componente químico, pois muitas vezes a saturação do líquido extrator ou o estabelecimento de um equilíbrio difusional entre meio extrator e o interior da célula não permite o esgotamento da matéria-prima vegetal (Sonaglio et al., 2003). Tais resultados corroboram com estudos realizados por Pires et al. (2001), onde verificaram que extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* reduziram o índice mitótico nas raízes de milho, comprometendo o seu alongamento normal. Resultados semelhantes também foi relatado por Lopes et al. (2007), onde mostraram que diferentes concentrações do extrato de *Brugmansia suaveolens* reduziram o índice mitótico de sementes de cebola. Por sua vez, Souza et al. (2005) verificaram a

existência de distúrbios celulares (pontes anafásicas) em células de raízes de alface cujas sementes foram submetidas a extratos aquosos de *Maytenus ilicifolia* M.

Inúmeros são os compostos orgânicos produzidos por plantas superiores que são considerados aleloquímicos, tais substâncias podem pertencer a diferentes classes de compostos do metabolismo secundário (Inderjit, 1996). De acordo com Rice (1984) e Putnam (1988) os aleloquímicos podem exercer efeitos inibitórios ou aditivos e tais alterações metabólicas podem ser consequência de um sinergismo entre tais compostos, tornando assim importante a análise da ação de cada substância isoladamente. Estudos sobre componentes aleloquímicos realizados por Vyvyan (2002) demonstraram que as principais substâncias com potencial alelopático, que atuam na pré-emergência, na pós-emergência e na fitotoxicidade, são as benzoquinonas, cumarinas, flavonóides, terpenóides, lactonas, mucilagens, compostos fenólicos e alcalóides que podem estar associados aos efeitos sobre a germinação, o desenvolvimento do vegetal e possivelmente alterando a divisão celular, assim como demonstrado neste estudo (Tabela 8, 9, 10 e Fig. 1).

A presença de compostos fenólicos na triagem fitoquímica e na investigação cromatográfica pode ser um dos fatores responsáveis pela atividade alelopática observada nos teste de germinação, crescimento radicular e de fitotoxicidade. Devido às suas características químicas, algumas classes de compostos fenólicos são capazes de captar elétrons, atuar como catalisadores na fase fotoquímica da fotossíntese, servirem de reguladores de canais iônicos envolvidos na fosforilação oxidativa, dentre outras (Pietta e Simonetti, 1999; Carmo et al., 2007). Os flavonóides, uma classe de compostos fenólicos, participam dos processos relacionados à absorção iônica que pode comprometer o gradiente eletroquímico das membranas celulares das raízes (Glass e Dunlop, 1974), e dependendo da concentração poderão promover ou inibir o crescimento de raízes (Macias et al., 1997). O ácido ferúlico é outro exemplo de ácido fenólico bem conhecido devido a sua ação alelopática (Bourne et al., 1997). Acredita-se que esta ação alelopática esteja ligada as enzimas que tem como função a oxidação da L-malato, um substrato produzido no ciclo de Krebs (Onyeneho et al., 1993).

De acordo com os resultados obtidos nos bioensaios, pode-se concluir que a *Neea theifera* apresenta potencial alelopático, sendo que os extratos orgânicos e frações das folhas da espécie causaram alterações fisiológicas na planta alvo, confirmados pela alteração nos padrões dos índices de germinação, no comprimento radicular e no índice mitótico.

5. Considerações finais

Os experimentos realizados nesse presente estudo mostraram que os extratos orgânicos e frações de folhas de *Neea theifera* interferiram no funcionamento fisiológico das sementes e plântulas de alface, pois houve alteração dos índices de germinação analisados, do comprimento radicular e do índice mitótico.

Na triagem fitoquímica realizada com extratos orgânicos evidenciou classes químicas como cumarinas, saponinas, taninos e uma maior quantidade flavonóides, em ambos os extratos analisados. No estudo fitoquímico direcionado, realizado por meio da cromatografia em camada delgada, verificou-se a presença de compostos polifenólicos nas amostras analisadas, como no caso a quercetina e ácido gálico. Tais classes químicas identificadas em ambos os estudos fitoquímicos, são investigadas em pesquisas voltadas para alelopatia, sendo assim, possivelmente tais compostos são responsáveis por promover o potencial alelopático observado no mesmo.

Portanto, faz-se necessário uma identificação mais detalhada dos compostos presentes nos extratos orgânicos e frações de *N. theifera* para a possível obtenção de novas estruturas químicas que possam auxiliar a compreensão das interações química entre os vegetais, como na utilização dessas substâncias para obtenção de herbicidas naturais como alternativas aos de emprego comercial, assim reduzindo custos, além de evitar riscos de contaminação ambiental.

Referências

- Aires, S.S., Ferreira, A.G., Borghetti, F., 2005. Efeito Alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. Acta Bot.Bras. 19, 339-344.
- Alves, M.C.S., Medeiros Filho, S., Innecco, R., Torres, S.B., 2004. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. Pesq. Agropec. Bras. 39, 1083-1086.
- Anaya, A.L., 1999. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. Crit. Rev. Plant Sci.18, 697-739.
- Aqüila, M.E.A., 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. Iheringia 53, 51-66.
- Astarita, L.V., Ferreira, A.G., Bergonci, J.I., 1996. *Mimosa bimucronata*: Allelopathy and osmotic stress. Allelopath. J. 3, 43-50.
- Ayres, E. C. B. Inovações agroecológicas para a agricultura familiar: um estudo de caso sobre sistemas agroflorestais no Alto Jequitinhonha – MG. Dissertação (Mestrado em Administração) – Universidade Federal de Lavra, Lavras, 2008. 107 p.
- Barreiro, A.P., Delachiave, M.E.A., Souza, F.S., 2005. Efeito alelopático de extratos de parte aérea de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] na germinação e desenvolvimento da plântula de pepino. Rev. Bras. de Plantas Med. 8, 4-8.
- Belinelo, V.J., Vieira-Filho, S.A., Almeida, M.S., Ferreira-Alves, D.L., Pilo-Veloso, D., 2009. Potencial fitotóxico de *Pterodon polygalaeiflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze e *Senna occidentalis* (L.) Link. Caatinga 22, 108-115.
- Ben-Hammouda M., Ghorbal H., Kremer R.J., Oueslati, O., 2001. Allelopathic effects of barley extracts on germination and seedlings growth of bread and durum wheats, Agronomie 21, 65-71.
- Borghetti, F., Ferreira, A. G., 2005. Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil. In: Harper J.D.I., An M., Wu H., Kent J.H. (eds.), Wagga Wagga. International Allelopathy Society, Australia, pp. 388-390.
- Borrelli, F., Milic, N., Ascione, V., Capasso, R., Izzo, A.A., Capasso, F., Petrucci, F., Valente, R., Fattorusso, E., Tagliatalata-Scafati, O., 2005. Isolation of new rotenoids from *Boerhaavia diffusa* and evaluation of their effect on intestinal motility. Planta Medica 71, 928-932.
- Bourne, L.C., Rice-Evans, C.A., 1997. The effect of the phenolic antioxidant ferulic acid on the oxidation of low density lipoprotein depends on the pro-oxidant used. Free Radical Res. 27, 337-344.

Brasil., 2009. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Regras para análise de sementes. Brasília.

Cândido, A.C.S., 2007. Potencial Alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Leguminosae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório e casa de vegetação. 2007. 99f. Dissertação - UFGS, Campo Grande.

Carmo, F.M.S., Borges, E.E.L., Takaki, M., 2007. Allelopathy of Brazilian sassafras (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer aqueous extracts. Acta Bot. Bras. 21, 697-705.

Carvalho, J.L.S., Cunico, M.M., Miguel, M.D., Miguel, O.G., 2008. Phytochemical screening of nasturtium officinale r. br.: quality control. Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Farmácia, UFPR, Curitiba.

Chang, W.S., Chang, Y.H., Lu, F.J., Chiang, H.C., 1994. Inhibitory effects of phenolics on xanthine-oxidase. Anticancer Res. 14, 501-506.

Chou, C.H., Kuo, Y.L., 1986. Allelopathic research of subtropical vegetation in taiwan. III. Alelopathic exclusion of understory by *Leucaena leucocephala* (Lam.). J. Chem. Ecol. 12, 1431-1448.

Correa, M. P., 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. IBDF. 6, 77.

Coutinho, L.M., 2006. O conceito de bioma. Acta Bot. Bras. 20, 1-11.

Cruz-Ortega, R., Anaya, A.L., Hernández-Bautista, B.E., Laguna-Hernández, G., 1998. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Curcubita ficifolia*. J. Chem. Ecol. 24, 2039-2057.

De Feo, V., Piacente, S., Pizza, C., Soria, R. U., 1998. Saponins from *Colignonia scandens* Benth. (Nyctaginaceae). Biochem. Syst. Ecol. 26, 251-253.

Delachiave, M.E.A, Ono, E.O., Rodrigues, J.D., 1999. Efeitos alelopáticos de grama-seda (*Cynodon dactylon*) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. Rev. Bras. Sementes 21,194-197.

Duke, S.O., Dayan, F.E., Romagnì, J.G., Rimando, A.M., 2000. Natural products as sources of herbicide, current status and future trends. Weed Res. 40, 99-111.

Duke, J., Vasquez, R., 1994. Amazonian Ethnobotanical Dictionary, first ed. Boca Raton, Flórida.

Durigan, J. C., Almeida, F.S., 1993. Noções sobre a alelopatia. Jaboticabal: UNESP/FUNEP. 1, 27-28.

Durigan, G., Baitello, J. B., Franco, G. A. D. C., de Siqueira, M. F., 2004. Plantas do Cerrado Paulista : Imagens de uma Paisagem Ameaçada, Páginas & Letras Editora e Gráfica: São Paulo.

- Edeoga, H. O., Ikem, C. I., 2002. Tannins, saponins and calcium oxalate crystals from Nigerian species of *Boerhavia* L. (Nyctaginaceae). S. Afr. J. Bot. 68, 382-385.
- Einhellig, F.A., 2004. Mode of allelochemical action of phenolic compounds. In: Macias, F.A., Cutler, H.G., Galindo J.C.G., Molinillo, J.M.G (eds), Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals. Boca Raton, Florida, pp.217-238.
- Einhellig, F.A., 1999. An integrated view of allelochemicals amid multiple stresses. In: Inderjit., Dakshini, K.M.M., Foy, C.L. (eds.), Principals and Practices in Plant Ecology: Allelochemical Interactions. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 479-494.
- Einhellig, F.A., 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. Agron. J. 88, 886-893.
- Einhellig, F.A., 1995. Allelopathy: Current Status and Future Goals. First ed. Acs Symposium Series, Washington, 582, 1-24.
- Elvin-Lewis, M., Lewis, W.H., 1993. The dental use of plants in Amazonia. Odontostomat. Tropic. 6, 178-187.
- Favero, C., Jucksch, I., Alvarenga, R.C., Costa, L.M. da., 2001. Modificações na população de plantas espontâneas na presença de adubos verdes. . Pesq. Agropec. Bras. 36, 1355-1362.
- Ferreira, A.G., Borghetti, F., 2004. Germinação: do básico ao aplicado, first ed. Artmed, Porto Alegre - RS.
- Ferreira, A.G., Aqüila, M.E.A., 2000. Alellopathy: an emerging topic in ecophysiology. Ver. Bras. Fisiol. Veg. 12, 175-204
- Ferreira, M.C., Souza, J.R.P., Faria, T.J., 2007. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão preto e alface. Ciênc. Agrotec. 31, 1054-1060.
- Furlan, A., 1996. A Tribo *Pisonieae Meisner* (Nyctaginaceae) no Brasi. Tese - Instituto de Biociências, USP, São Paulo.
- Glass, A.D.M., Dunlop, J., 1974. Influence of phenolic acids on ion uptake: 4. Depolarization of membrane potentials. Plant Physiol. 54, 855-858.
- Gatti, A.B., Perez, S.C.J.G.A., Lima, M.I.S., 2004. Atividade alelopática dos extratos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. Acta Bot. Bras. 18, 459-472.
- Gottlieb, O.R., 1982. Micromolecular evolution, systematics and ecology: an essay into a novel botanical discipline. Springer-Verlag, Berlin, pp. 170.

Guerra, M., Souza, M.J., 2002. Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. FUNPEC, São Paulo, pp.131.

Heuer, S., Richter, S., Metzger, J.W., Wray, V., Nimtz, M., Strack, D., 1994. Betacyanins from bracts of *Bougainvillea-Glabra*. *Phytochemistry* 37, 761- 767.

Hoagland, R.E., Williams, R.D., 1992. Bioassays-useful tolls of the study of allelopathy. In: Inderjit, D., Dakshini, K.M.M. (Eds.), *Interference potencial of Pluchea lanceolata (Asteraceae): growth and physiological responses of asparagus bean, Vigna unguiculata var. sesquipedalis*. American Journal of Botany, Columbus, pp. 977-981.

Inderjit., Callaway, R.M., Vivanco, J.M., 2006. Can plant biochemistry contribute to understanding of invasion ecology? *Trends Plant Sci.* 11, 574-580.

Inderjit., Duke, S.O., 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217: 529-539.

Inderjit., Nilsen, E.T., 2003. Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: Progress and problems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22, 221-238.

Inderjit., 1996. Plant Phenolics in Allelopathy. *Bot. Rev.* 62, 186-197.

Kato-Noguchi, H., 2003. Assessment of allelopathic potencial of shoot powder of lemon balm. *Sci. Hort.* 97, 419-423.

Khan, Z.R., Hassanali, A., Overholt, W., Khamis, T., Hooper, A.M., Pichett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M., 2002. Control of witchweed *Striga hermonthica* by intercropping with *Desmodium* spp., and the mechanism defined as allelopathic. *J. Chem. Ecol.* 28, 1871-1885.

Klink, C.A., Machado, R.B., 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conserv. Biol.* 19, 707-713.

Kokate, C.K., 1999. *Practical Pharmacognosy*, fourth ed. Vallaph Prakash Publication, New Delhi.

Kruse, M., Strandberg, M.; Strandberg, B., 2005. Ecological effects of allelopathic plants. *Department of Terrestrial Ecology* 1, 66.

Kupidlowska, E., Gniazdowska, A., Stepien, J., Corbineau, F., Vinel, D., Skoczowski, A., Janeczko, A., Bogatek, R., 2006. Impact of sunflower (*Helianthus annuus* L.) extracts upon reserve mobilization and energy metabolism in germinating mustard (*Sinapis alba* L.) seeds. *J. Chem. Ecol.* 32, 2569-2583.

Jeronimo CA. 2006. Efeito do extrato aquoso de *Solanum lycocarpum* St. Hil. No desenvolvimento inicial e na síntese protéica de plântulas de *Sesamum indicum* Dissertação de Mestrado, UNB, Brasília, pp. 75.

Labouriau, L.F.G., 1983. A germinação das sementes. Departamento de Assuntos Científicos e Tecnológicos da Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, pp.174.

Lara-Nuñez, A., Romero-Romero, T., Ventura, J.L., Blancas, V., Anaya A.L., Cruz-Ortega R., 2006. Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill. *Plant Cell Environ.* 29, 2009-2016.

Leão, F.P., Ferreira, J.B., Animura, C.T., 2004. Interferência do extrato de tiririca na germinação e crescimento de plântulas de tomate, UEMG, Belo Horizonte.

Loffredo, E., Monaci, L., Senesi, N., 2005. Humic substances can modulate the allelopathic potential of caffeic, ferulic, and salicylic acids for seedlings of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J. Agric. Food Chem.* 53, 9424-9430.

Lopes, M.R.S., Kleinowski, A.M., Rocha, B.H.G., 2007. Fitotoxicidade do extrato aquoso de trombeteira em sementes de cebola. *Braz. J. Plant Physiol.* 19.

Lorenzi, H, 2000. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, first ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa - SP.

Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Varella, R.M., Galindo, J.C.G., 2007. Allelopathy – a natural alternative for weed control. *Pest Manag. Sci.* 63, 327-348.

Macias, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G., 2004. Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals, first ed. Boca Raton, Florida.

Magiero, E.C., Assmann, J.M., Marchese, J.A., 2009. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). *Rev. Bras. Planas Med.* 11, 317-324.

Mairesse, L.A.S.E.C.C., Farias, J.R., Fiorin, R.A., 2007. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). *Rev. FZVA* 14, 1-12.

Malheiros, A., Peres, M.T.L.P., 2001. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: Yunes, R.A., Calixto, J.B. (Eds), *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó, Argos, pp. 503-523

Maraschin-silva, F., Aquila, M. E. A., 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Bot. Bras.* 20, 61- 69.

Miller, D.A., 1996. Allelopathy in forage crop systems. *Agron. J.* 88, 854-859.

Miró, C.P., Ferreira, A.G., Aquila, M.E.A., 1998. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. *Pesq. Agropec. Bras.* 33, 1261-1270.

- Moreira, P.F.S.D., Souza, D.R., Terrones M.G.H., 2009. Avaliação do potencial alelopático do extrato metanólico obtido das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi) na inibição do desenvolvimento da raiz em sementes de *Panicum maximum*. Biosci. J. 24, 74-79.
- Muscolo, A., Panuccio, M.R., Sidari, M., 2001. The ascorbate system during the early stage of germination in *Pinus laricio* seeds treated with extracts from two different sources of humus. Seed Sci. Technol. 29, 275-279.
- Oliveira, S.C.C., 2003. Alelopatia em *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae). Brasília: Dissertação de Mestrado, UNB, Brasília, pp. 78.
- Oliveira, M.F., Alvarenga, R.C., Oliveira, A.C., CRUZ, J. C., 2001. Efeito da palha e da mistura atrazine e metolachlor no controle de plantas daninhas na cultura de milho, em sistema de plantio direto. Pesq. Agropec. Bras. 36, 37-41.
- Onyeneho, S.N., Hettiarachchy, N.S., 1993. Antioxidant activity, fatty acids and phenolic acids compositions of potato peels. J. Sci. Food Agric. 62, 345-350.
- Ortega, A., Garca, P.E., Cardenas, J., Mancera, C., Marquina, S., Carmen Garduno M.L.d., Maldonado E., 2001. Methyl dodonates, a new type of diterpenes with a modified clerodane skeleton from *Dodonaea viscosa*. Tetrahedron 57, 2981-2989.
- Oudhia, P., Tripathi, R.S., 2000. Allelopathic effects of an obnoxious weed *Parthenium hysterophorus* on germination and seedling vigour of rice var, Mahamaya. Res. Crops 1, 111-115.
- Pasqualetto, A., Costa, L.M., Silva, A.A., Sediyma, C.S., 2007. Ocorrência de plantas daninhas na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em sucessão à culturas de safrinha no sistema plantio direto. Disponível em: http://agata.ucg.br/formularios/ucg/docentes/eng/pasqualetto/artigos/pdf/artigo_48.pdf.
- Pelegri, B., 1985. Girassol: uma planta solar que das Américas conquistou o mundo. Ícone, São Paulo, pp. 117.
- Pereira, R.S., Santana, D.G., Ranal M.A., 2009. Seedling emergence from newly-collected and storage seeds of *Copaifera langsdorffii* Desf. (caesalpinoideae), triângulo mineiro, Brazil. Rev. Árvore 33, 643-652.
- Periotto, F., Perez, S.C.J.G.A., Lima, M.I.S., 2004. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. Ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. Acta Bot. Bras. 18, 425-430.
- Pires, N.M., Souza, I.R.P., Prates, H.T., Faria, T.C.L., Filho, I.A.P., Magalhães, P.C., 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. Rev. Bras. Fisiol. Veg. 13, 55-65.
- Pietta, P.G., Simonetti, P., 1999. Antioxidant food supplements in human health. Academic Press, San Diego, pp. 283-308.

- Putnam, A.R., 1988. Allelochemicals from plants as herbicides. *Weed Technol.* 2, 510-518
- Ranal, M.A., Santana, D.G., Ferreira, W.R., Mendes-Rodrigues, C., 2009. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Rev. Bras. Bot.* 32, 849-855.
- Rawat, M.S.M., Pant, G., Prasad, D., Joshi, R.K., Pande, C.B., 1998. Plant growth inhibitors (Proanthocyanidins) from *Prunus armeniaca*. *Biochem. Syst. Ecol.* 26, 13-23.
- Reigosa, M.J., Sánchez-Moreiras, A., Gonzáles, L., 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. *Crit. Rev. Plant Sci.* 18, 577-608.
- Ribeiro, J.F., Walter, B.M.T., 1998. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: Sano, S.M., Almeida, S.M. (Eds.), *Cerrado: ambiente e flora*. EMBRAPA-CPAC, Planaltina, pp.89-166.
- Rice, E.L., 1984. *Allelopathy*, second ed. Academic Press, Orlando.
- Rinaldo, D., Rodrigues, C.M., Rodrigues, J., Sannomiya, M., Santos, L.C., Vilegas, W., 2007. New Flavone from the Leaves of *Neea theifera* (Nyctaginaceae). *Soc. Bras. Quím.* 18, 1132-1135.
- Rizvi, S.G.H., Rizvi, V., 1992. *Allelopathy: basic and applied aspects*, first ed. Chapman and Hall, London.
- 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, 717-724.
- Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C., Yamasaki, H., 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177, 67-80.
- Salvador, F.L., 2006. Manejo e interferência das plantas daninhas em soja: uma revisão. *Rev. FZVA.* 13, 158-175.
- Sampietro, D.A., Vattuone, M.A., Isla, M.I., 2006. Plant growth inhibitors isolated from sugarcane (*Saccharum officinarum*) straw. *J. Plant Physiol.* 163, 837-846.
- Santamaria, L.M., 1999. *Interacción entre organismos: sistemas de defensa*. Berkeley, Chimera Javeriana, Disponível em: [http:// www.chimera.javeriana.edu.co/bo3](http://www.chimera.javeriana.edu.co/bo3), pp.22.
- Santana, D.G., Ranal M.A., Mustafa, P.C.V., Silva, R.M.G., 2006 Germination measurements to evaluate allelopathic interactions. *Allelopath. J.* 17, 43-52.
- Santana, D.G., Ranal, M.A. 2004. *Análise da germinação: Um enfoque estatístico*, first ed. UNB, Brasília - DF.

Santos, J.C.F., Souza, I.F., Mendes, A.N.G., Morais, A.R., Conceição, H.E.O., Marinho, J.T.S., 2001. Influência alelopática das coberturas mortas de casca de café (*Coffea arabica* L.) e casca de arroz (*Oryza sativa* L.) sobre o controle do caruru-demancha (*Amaranthus viridis* L.) em lavoura de café. Ciênc. Agrotec. 25, 1105-1118.

Seigler, D.S., 1996. Chemistry and mechanisms of allelopathy interactions. Agron. J. 88, 876-885.

Shimoji, H., Yamasaki, H., 2005. Inhibitory effects of flavonoids on alternative respiration of plant mitochondria. Biol. Plant. 49, 117-119.

Silva, W.A., 2007. Potencial alelopático de extratos do cumaru (*Amburana cearensis* A.C. Smith) e da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir) na germinação e crescimento do sorgo (*Sorghum bicolor* L.), milho (*Zea mays* L) e feijão guandu (*Cajanus cajan* L.). Dissertação (Mestrado em Sistemas Agrosilvipastoril) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, pp.62.

Soares, G.L.G., Vieira, T.R., 2000. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. "Grand rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. Floram. 7, 180-197.

Sonaglio, D., Ortega, G.G., Petrovick, P.R., Bassani, V.L., 2003. Desenvolvimento tecnológico e produção de produtos fitoterápicos. In: Farmacognia: da planta ao medicamento, fifth ed. UFSC - SC.

Souza Filho, A.P.S., 2002. Atividade potencialmente alelopática de extratos brutos e hidroalcoólicos de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). Planta Daninha 20, 357-364.

Souza Filho, A.P.S., 2006a. Interferência potencialmente alelopática do capim-gengibre (*Paspalum maritimum*) em áreas de pastagens cultivadas. Planta Daninha 24, 451- 456.

Souza Filho, A.P.S., Pereira, A.A.G., Bayma, J.C., 2006b. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. Planta Daninha 23, 25-32.

Souza, S.A.M., Cattela, L.V., Vargas, D.P., Piana, C.F de B., Bobrowski, V.L., Rocha, B.H.G., 2005. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss.). UEPG Ci. Biol. Saúde 11, 7-14.

Vaccarini, C.E., Palacios, S.M., Meragelman, K.M.; SOSA, V.E., 1999. Phyto-growth-inhibitory activities of a clerodane from *Viguiera tucumanensis*. Phytochemistry 50, 227-230.

Villela, F.A., Doni Filho, L., Sequeira, E.L., 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. Pesq. Agropec. Bras. 26, 1957-1968.

Vyvyan, J.R., 2002. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals, Tetrahedron 58, 1631-1646.

Wagner, H., Bladt, S., 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. second ed. Springer Verlag, Berlim, pp. 384.

Wu, H., Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D., An, M., 2000. Distribution and exudation of allelochemical in wheat (*Triticum aestivum*). *J. Chem. Ecol.* 26, 2141-2154.

Yamada, K., Anai, T., Hasegawa, K., 1995. Lepidimoide, an allelopathic substance in the exudates from germinated seeds. *Phytochemistry* 39,1031-1032.

Yokotani-Tomita, K., Goto, N., Kosemura, S., Yamamura, S., Hasegawa, K., 1998. Growth-promoting allelopathic substance exuded from germinating *Arabidopsis thaliana* seeds. *Phytochemistry* 47, 1-2.

TABELAS

Tabela 1. Germinabilidade (G), tempo médio (Tm), velocidade média (Vm) e sincronismos (E) de germinação de sementes de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes concentrações de extratos orgânicos de *Neea theifera* (5, 10 e 20 mg/mL).

Extrato	Concentração mg/mL	G%DP (%)	Tm±DP (horas)	Vm±DP (sementes/hs)	E±DP (bits)
N-Hexano	5	66,00±4,54a	35,37±3,64a	0,028±0,003a	1,98±0,10a
	10	18,00±5,40b	42,13±2,29a	0,023±0,001a	1,06±0,08b
	20	15,00±2,18b	37,43±7,57a	0,027±0,005a	0,87±0,03c
Acetato de Etila	5	87,00±1,48c	24,70±2,55b	0,040±0,004b	1,41±0,15a
	10	15,00±1,37b	34,82±5,10a	0,029±0,004a	0,99±0,07b
	20	14,50±2,41b	37,37±7,59a	0,027±0,005a	0,50±0,01c
Etanol	5	74,00±3,90a	35,01±1,52a	0,028±0,001a	1,85±0,18a
	10	47,50±1,12d	36,91±1,53a	0,027±0,001a	1,63±0,26a
	20	14,50±0,75b	32,41±6,75a	0,031±0,005a	0,81±0,09b
Água		99,00±1,15c	19,66±0,68b	0,050±0,001b	0,94±0,18b

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si com $\alpha=0,5$ de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Legenda: G%= porcentagem média de germinação, Tm= tempo médio de germinação, Vm= velocidade média de germinação e E= sincronismo de germinação.

Tabela 2. Média e desvio-padrão do comprimento radicular de plântulas de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes concentrações de extratos orgânicos de *N. theifera* (5, 10 e 20 mg/mL) após 24 e 48 horas de exposição.

Extrato	Concentrações mg/mL	24 horas	48 horas
Etanol	5	6,10±0,87a	9,68±1,05a
	10	5,15±0,42b	7,11±0,98b
	20	3,78±0,65c	6,43±0,81c
Acetato de Etila	5	6,19± 0,74a	8,28±1,10d
	10	5,22±0,86b	7,84±1,58b
	20	3,29±0,64c	5,11±0,75e
N- Hexano	5	7,97±0,53d	15,86±0,94f
	10	7,59±0,47d	12,95±0,95g
	20	7,33±0,40d	11,43±0,35g
Água		7,44±0,88d	15,09±1,07f

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si com $\alpha=0,5$ de probabilidade, pelo teste de Tukey

Tabela 3. Germinabilidade (G), tempo médio (Tm), velocidade média (Vm) e sincronismos (E) de germinação de sementes de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes frações do extrato metanólico de *Neea theifera* (5, 10 e 20 mg/mL).

Extrato	Concentração mg/mL	G%DP (%)	Tm±DP (horas)	Vm±DP (sementes/hs)	E±DP (bits)
N-Hexano	5	55,50±2,64a	38,00±1,15a	0,026±0,000a	2,15±0,10a
Diclorometano	10	52,50±7,91a	36,03±1,30a	0,027±0,001a	2,20±0,22a
Acetato de Etila	20	38,00±1,70b	36,93±1,28a	0,027±0,000a	1,20±0,24b
Acet/Met (70:30)	10	35,00±6,29b	38,31±2,48a	0,026±0,001a	1,78±0,16a
	20	32,00±9,90b	38,97±1,92a	0,025±0,001a	1,81±0,08a
Acet/Met (50:50)	10	67,50±4,91c	36,03±2,71a	0,027±0,002a	1,82±0,66a
Acet/Met (30:70)	10	60,00±4,40c	36,21±1,99a	0,027±0,001a	2,29±0,01a
Metanol	10	64,50±3,70c	37,20±1,30a	0,026±0,000a	2,20±0,11a
Controle água		100,0±0,00d	20,73±0,20b	0,048±0,000b	1,20±0,04b

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si com $\alpha=0,5$ de probabilidade, pelo teste de Tukey.
 Legenda: G%= porcentagem média de germinação, Tm= tempo médio de germinação, Vm= velocidade média de germinação e E= sincronismo de germinação.

Tabela 4. Média e desvio-padrão do comprimento radicular de plântulas de *L. sativa* (alface) submetidas a diferentes frações do extrato metanólico de *Neea theifera* (5, 10 e 20 mg/mL) após 24 e 48 horas de exposição.

Extrato	Concentrações mg/mL	24 horas	48 horas
N-Hexano	5	6,27±0,74a	12,43±1,26 ^a
	10	8,55±0,97b	12,23±0,86 ^a
Metanol	5	7,07±0,82b	10,56±0,90b
	10	4,61±0,47c	8,760±0,77c
Diclorometano	10	7,61±1,41b	12,65±0,89 ^a
	20	5,44±0,48a	9,59±0,67c
Ac. Etila	5	7,29±1,09b	12,26±1,32 ^a
	10	5,66±0,74a	9,44±0,69b
	20	4,07±0,74c	7,15±0,48c
Acet 30/Met 70	10	5,90±0,50a	9,41±0,62c
Acet 50/ Met 50	5	6,18±0,82a	11,28±1,14b
	10	3,79±0,83d	7,21±0,70c
	20	2,84±0,36e	4,53±0,43e
Acet 70/ Met 30	5	4,49±0,70c	8,36±0,66c
	10	3,52±1,01d	5,60±0,75e
	20	3,06±0,45d	3,74±0,32f
Água		8,05±1,01b	14,45±1,32g

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si com $\alpha=0,5$ de probabilidade, pelo teste de Tukey. Legenda: G%= porcentagem média de germinação, Tm= tempo médio de germinação, Vm= velocidade média de germinação e U-bit= sincronismo de germinação.

Tabela 5. Potencial osmótico dos extratos orgânicos de *Neea theifera*

Extrato	Concentração	Brix %	Bar
N-Hexano	5mg/mL	0,45	-3,50
	10mg/mL	0,4	-3,53
	20mg/mL	01	-3,71
Acetato de Etila	5mg/mL	0,3	-3,59
	10mg/mL	0,4	-3,53
	20mg/mL	0,6	-3,41
Etanol	5mg/mL	0,6	-3,41
	10mg/mL	0,5	-3,47
	20mg/mL	3	-1,95
Água		0	-3,80

Tabela 6. Potencial osmótico das frações do extrato bruto de *Neea theifera*

Extrato	Brix %	Bar
N-Hexano	0,00	-3,8
Diclorometano	0,07	-3,7
Acetato de etila	0,07	-3,7
Acet 70/30 Met	0,70	-3,3
Acet 50:50 Met	0,07	-3,7
Acet 30:70 Met	0,13	-3,7
Metanol	0,00	-3,8
Água	0,00	-3,8

Tabela 7. Índice mitótico de células meristemáticas de raiz de alface tratadas com extratos brutos (metanol e acetato de etila) e diferentes concentrações da fração acetato de etila 70/30 metanol (1, 2 e 5mg/mL) e controle água.

Tratamento	Interfase	Divisão Celular				Índice Mitótico
		Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
EB	4497	374	71	20	38	10,06a
EO	4487	435	41	14	23	10,26a
EF1	4509	358	45	31	57	09,82a
EF2	4635	289	22	18	36	07,30b
EF3	4570	337	31	19	43	08,60a
Água	4525	370	45	19	41	09,50a

5000 células analisadas. Letras iguais em coluna não diferem estatisticamente, médias avaliadas com teste de Kruskal–Wallis ($p < 0,05$).

EB - extrato bruto metanólico

EO - extrato bruto acetato de etila

EF1 - extrato fracionado 1mg/mL

EF2 - extrato fracionado 2mg/mL

EF3 - extrato fracionado 5mg/mL

Tabela 8. Triagem fitoquímica do extrato metanólico das folhas de *Neea theifera*.

Compostos	Resultado	Aspecto
Triterpenos esteroidais	+	vermelho-róseo
Alcalóides	-	-
Flavonóides	++	Vermelho-claro
Cumarinas	+	Fluorescência azul
Taninos hidrolisáveis	-	-
Taninos condensados	++	Verde azulado
Saponinas	+	Permanência de espuma

+, baixa visualização; ++, moderada visualização; +++, alta visualização; -, não detectado

Tabela 9. Triagem fitoquímica do extrato aceto etílico das folhas de *Neea theifera*

Compostos	Resultado	Aspecto
Triterpenos esteroidais	+	Verde azulado
Alcalóides	-	-
Flavonóides	+++	Vermelho intenso
Cumarinas	+	Fluorescência azul
Taninos hidrolisáveis	-	-
Taninos condensados	++	Verde azulado
Saponinas	-	-

+, baixa visualização; ++, moderada visualização; +++, alta visualização; -, não detectado

Tabela 10. Triagem fitoquímica do extrato N-hexânico das folhas de *Neea theifera*

Compostos	Resultado	Aspecto
Triterpenos esteroidais	-	-
Alcalóides	-	-
Flavonóides	+	Vermelho-claro
Cumarinas	-	-
Taninos hidrolisáveis	-	-
Taninos condensados	+	Verde azulado
Saponinas	-	-

+, baixa visualização; ++, moderada visualização; +++, alta visualização; -, não detectado

FIGURAS

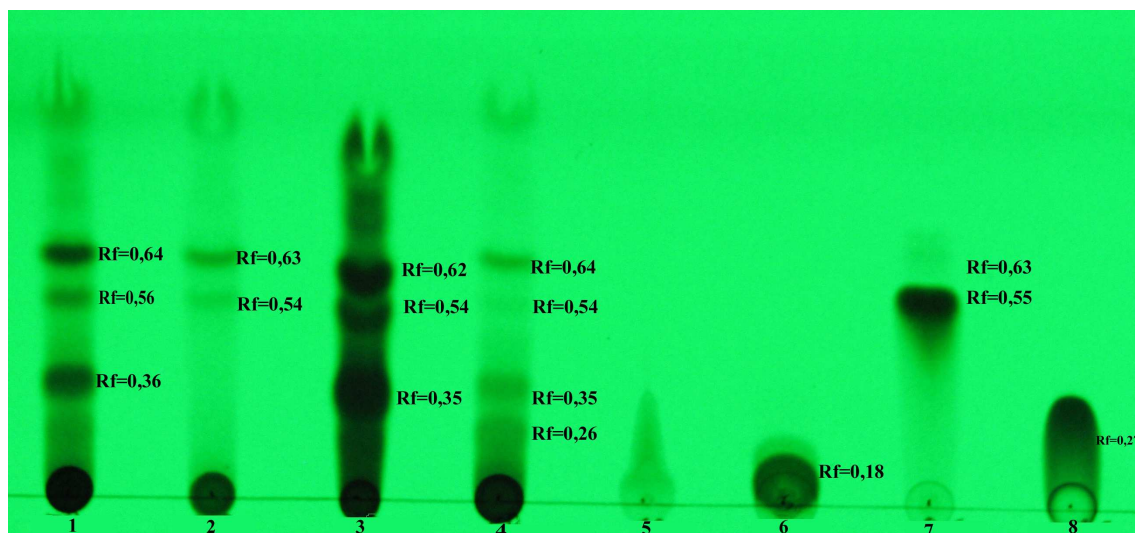


Figura 1. Cromatograma do extrato metanólico (1), frações acetato de etila 70/30 metanol (2), acetato de etila (3), butanólico (4) e água (5) de *N.theifera*, e padrões rutina (6), quercetina (7) e ácido gálico (8) em sistema eluente Clorofórmio-metanol-água (75:23:2): com revelação em presença de 2-aminoethyl diphenylborinate. Identificação das zonas cromatográficas com seus respectivos valores de Rf (cm).