

1 **RESUMO GERAL**

2 A alelopatia é definida como o efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de compostos
3 químicos que são produzidos e liberados no ambiente por plantas ou microorganismos sobre
4 outros indivíduos. No Brasil, várias espécies de gramíneas africanas, entre elas espécies do
5 gênero *Urochloa*, foram introduzidas accidentalmente ou para fins forrageiros, tornando-se
6 invasoras de ecossistemas naturais, principalmente dos ambientes abertos, como campos e
7 cerrados. A presença de gramíneas exóticas nestes ambientes dificulta o processo de
8 regeneração natural, bem como interfere em plantios de espécies para fins de restauração. O
9 objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de *Urochloa brizantha* e *Urochloa*
10 *decumbens* sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* (alface),
11 *Allium cepa* (cebola) e da espécie arbórea *Guazuma ulmifolia* (mutambo) em bioensaios em
12 laboratório. Os biotestes foram realizados em diferentes concentrações (0, 250, 500 e 1000
13 mg.L⁻¹) do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAE)
14 e fração etanol-água (FEA). Os parâmetros avaliados (porcentagem de germinação, índice de
15 velocidade de germinação, crescimento aéreo e radicular, atividade da enzima peroxidase e
16 catalase, teor de clorofila e respiração celular das raízes foram influenciados em todos os testes
17 realizados.

18 **PALAVRAS-CHAVE:** aleloquímicos, plantas invasoras, fitotoxicidade.

19

20 **ABSTRACT**

21 Allelopathy is defined as the direct or indirect beneficial or harmful effect of chemical
22 compounds that are produced and released into the atmosphere by plants or microorganisms on
23 other individuals. The allelochemicals are present in almost all plant tissues, including leaves,
24 stems, roots, rhizomes, flowers, fruits and seeds, and its concentration is critical for self defense
25 plants. Allelopathy can cause direct effects on growth and plant metabolism. In Brazil, several
26 species of African grasses, including species of the genus *Urochloa*, or were accidentally
27 introduced for fodder purposes, becoming invasive in natural ecosystems, especially of open
28 habitats, such as fields and savannas. The presence of exotic grasses in these environments
29 complicates the process of natural regeneration, as well as interfere in plantations of species for
30 purposes restauration. Many experimental studies have shown that the presence of grasses can
31 inhibit the growth and survival of seedlings of tree species, the most relating competition as the

32 main factor. The objective of this study was to evaluate the allelopathic potential of *Urochloa*
33 *brizantha* and *Urochloa decumbens* on germination and seedling growth of *Lactuca sativa*
34 (lettuce), *Allium cepa* (onion) and the tree species *Guazuma ulmifolia* (mutambo) in laboratory
35 bioassays.

36 **KEY - WORDS:** allelochemicals, invasive plants, phytotoxicity.

37

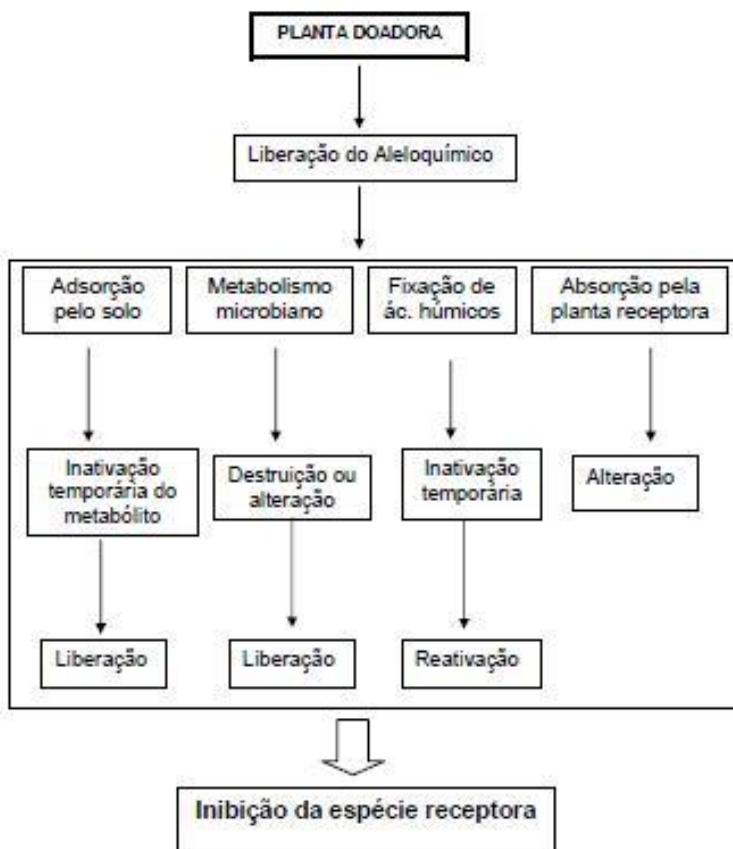
38 INTRODUÇÃO GERAL

39 As espécies vegetais estão constantemente competindo no ambiente por luz, água e
40 nutrientes, podendo resultar na redução da fecundidade, crescimento e sobrevivência dos
41 indivíduos envolvidos (BEGON et al., 2007). Segundo este autor, a competição pode ocorrer
42 de duas maneiras, por exploração ou por interferência. Na competição por exploração, os
43 indivíduos interagem indiretamente entre si, respondendo à redução de recursos decorrente da
44 atividade dos competidores. Já na competição por interferência, conhecida como alelopatia,
45 ocorre através da produção e liberação no ambiente de substâncias (aleloquímicos) que são
46 tóxicas para outras espécies. A síntese destas substâncias, oriundas do metabolismo secundário,
47 pode interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta (ALVES et al., 2004; BEGON
48 et al., 2007).

49 O termo alelopatia, (do grego *allelon* = de um para o outro, *pathos* = prejuízo) foi proposto
50 em 1937 pelo alemão Hans Molisch, para referir-se às interações bioquímicas entre todos os
51 tipos de plantas e inclusive entre microorganismos (RICE, 1984). Posteriormente, em 1996, a
52 Sociedade Internacional de Alelopatia definiu-a como a “ciência que estuda qualquer processo
53 envolvendo, essencialmente, metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e
54 fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos,
55 incluindo efeitos positivos e negativos” (MACIAS et al., 2000).

56 Os aleloquímicos têm como principal função a proteção dos organismos que os
57 produzem. Sua ação não é muito específica, podendo exercer várias funções, dependendo mais
58 da concentração e translocação do que da própria composição química. As plantas podem
59 produzir dois tipos de aleloquímicos: as fitotoxinas e as fitoalexinas. As primeiras são
60 continuamente produzidas pelas plantas, porém, quando esta é submetida a estresse, sua
61 produção é aumentada. Já as fitoalexinas são produzidas somente quando a planta é submetida
62 a estresse (PINTO et al., 2002). A resistência ou tolerância à estas substâncias é específica,
63 sendo que espécies mais sensíveis tendem a apresentar menores taxas de sobrevivência, pois
64 são influenciadas desde a sua germinação até seu crescimento (PERES et al., 2004).

65 Os aleloquímicos estão presentes em quase todos os tecidos da planta, incluindo folhas,
66 caules, raízes, rizomas, flores, frutos e sementes, e sua concentração tem fundamental
67 importância na auto defesa das plantas (MACÍAS et al., 2007). Essas substâncias podem ser
68 liberadas no ambiente de várias maneiras: exsudação do sistema radicular, volatilização,
69 decomposição de resíduos e lixiviação através da chuva ou sereno, de toxinas solúveis em água,
70 da parte aérea ou de tecidos subterrâneos (SILVA et al. 2009). Após a liberação pela “planta
71 doadora”, um composto alelopático pode seguir por diferentes vias (ou ser alterado), até causar
72 o efeito negativo ou positivo na “planta receptora” (Figura 1) (REZENDE et al., 2000).

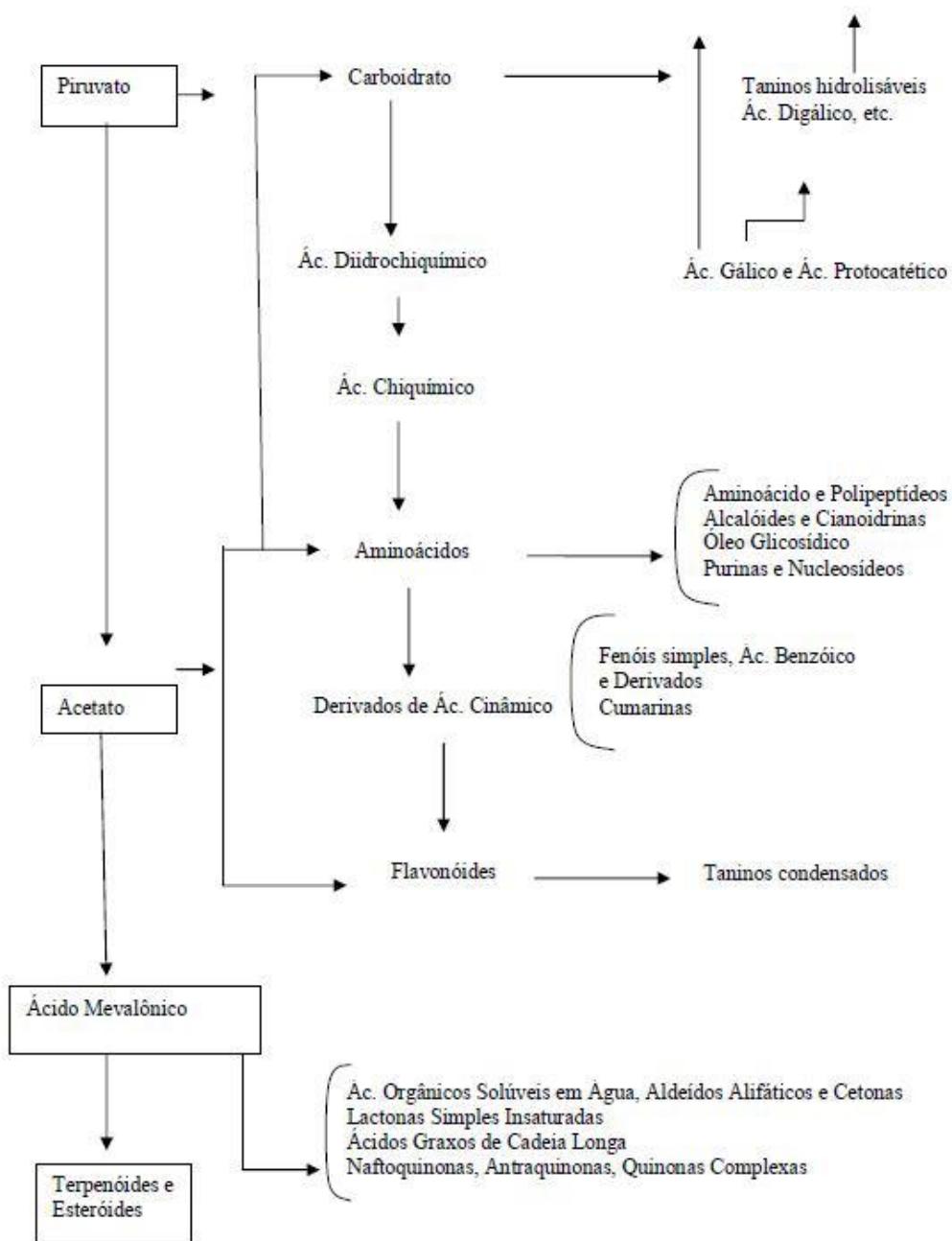


73
74 FIGURA 1. Vias prováveis seguidas por compostos químicos da liberação pela planta
75 doadora até causar o efeito alelopático na espécie receptora. (Fonte: REZENDE et al., 2000).
76

77 Os aleloquímicos podem ser seletivos em suas ações e as plantas podem ser seletivas em
78 suas respostas, tornando-se difícil esclarecer o modo de ação destes compostos (SEIGLER,
79 1996). A alelopatia pode causar efeitos diretos no crescimento e no metabolismo vegetal, tais
80 como alterações em nível celular, fitormonal, fotossintético e respiratório, e ainda, causar
81 efeitos indiretos na biodiversidade local, por causar alterações na sucessão vegetal, na estrutura,
82 dominância de certas espécies e composição das comunidades vegetais (CHOU, 2006). Pode

83 também causar efeitos fisiológicos, devido a interações alelopáticas, na inibição da
84 porcentagem, velocidade da germinação e na redução do crescimento inicial (PEDROL et al.,
85 2006).

86 O mecanismo de ação dos aleloquímicos pode ser dividido em ações diretas e indiretas.
87 As ações indiretas incluem efeitos que promovem alterações nas propriedades do solo, bem
88 como alterações nas populações e/ou atividade de microorganismos, insetos, nematóides e
89 outras. As ações diretas envolvem os efeitos sobre vários aspectos do metabolismo e
90 desenvolvimento das plantas, bem como a inibição da germinação e crescimento (FRITZ et al.,
91 2007). As rotas de síntese de alguns produtos químicos alelopáticos já são conhecidas (Figura
92 2).



93

94 FIGURA 2. Rotas prováveis de síntese de alguns grupos de aleloquímicos. (Fonte: REZENDE
95 et al., 2000).

96

97 O estudo de plantas para verificação de potenciais alelopáticos vem se tornando mais
98 comum, muitas dessas plantas como a erva moura (*Solanum americanum* Mill.), *Hovenia dulcis*
99 Thunb., vassoura (*Bacharis dracunculifolia* D.C) e capim-santo (*Cymbopogon citratus* (DC
100 Stapf.) apresentam efeitos alelopáticos que, uma vez conhecidos, servem para a identificação
101 de moléculas de interesse agronômico, pois são precursoras de herbicidas, inseticidas,

102 fungicidas e outras moléculas com potenciais de uso (FERREIRA e AQUILA, 2000;
103 BORELLA, 2012; WANDSCHEER et al., 2011).

104 No Brasil, várias espécies de gramíneas africanas, entre elas espécies do
105 gênero *Urochloa*, foram introduzidas accidentalmente ou para fins forrageiros, tornando-se
106 invasoras de ecossistemas naturais, principalmente dos ambientes abertos, como campos e
107 cerrados (MATOS e PIVELLO, 2009). A presença de gramíneas exóticas nestes ambientes
108 dificulta o processo de regeneração natural, bem como interfere em plantios de espécies para
109 fins de restauração (PIVELLO, 2008). Vários estudos experimentais demonstraram que a
110 presença de gramíneas pode inibir o crescimento e a sobrevivência de plântulas de espécies de
111 árvores, a maioria relacionando a competição como principal fator (GARCÍA-ORTH e
112 MARTINÉZ-RAMOS, 2011; PEREIRA et al., 2013). No entanto, estes estudos não
113 determinam ao certo se estes resultados encontrados seriam decorrentes da competição por
114 exploração ou resultado de competição por interferência. A inibição do estabelecimento e
115 crescimento destas poderia ser atribuída, pelo menos em parte, à alelopatia e esta interação pode
116 representar uma limitação importante no estabelecimento de espécies de árvores em áreas de
117 pastagens.

118 Há na literatura estudos indicando que gramíneas forrageiras do gênero *Urochloa*
119 apresentam potencial alelopático tanto nas sementes como na parte aérea e nas raízes, inibindo
120 a germinação e desenvolvimento de plantas de diferentes espécies, como o feijão-guandu e
121 eucalipto (FAGIOLI, 2000; SOUSA et al., 2003; BOCCHESE, 2007). No entanto, apesar de
122 comprovada a atividade alelopática do gênero *Urochloa*, como inibitória da germinação e
123 desenvolvimento inicial de plantas herbáceas (SOUZA FILHO et.al., 2005; VERONKA et al.,
124 2012), estudos enfocando a alelopatia do gênero na germinação de espécies arbóreas ainda são
125 escassos na literatura, o que poderia afetar a re-introdução destas espécies em áreas degradadas
126 via semeadura direta.

127 O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de *Urochloa brizantha* e
128 *Urochloa decumbens* sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa*
129 (alface), *Allium cepa* (cebola) e da espécie arbórea *Guazuma ulmifolia* (mutambo) em
130 bioensaios em laboratório.

131

132 REFERÊNCIAS

133

- 134 ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R. e TORRES, S.B. Alelopatia de
135 extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa**
136 **Agropecuária Brasileira.** v.39, p.1083-1086. 2004.
- 137
- 138 BEGON, M.; TOWNSEND, C. R. e HARPER, J. L.. Ecologia de Indivíduos a Ecossistemas.
139 4^aed, **Artmed.** 2007.
- 140
- 141 BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; PASTORINI, L.H. Efeito alelopático de extratos de
142 folhas de *Solanum americanum* sobre o vigor do rabanete. **Revista Trópica – Ciências**
143 **Agrárias e Biológicas.** v.6, n.1, p.44, 2012.
- 144
- 145 BOCCHÈSE, R. A.; MELOTTO, A.M.; CÉSAR FILHO, L.C.C.; FERNADES V.M.;
146 FRANCESCHI, M.L.; LAURAS, A.V. Avaliação da competição entre *Brachiaria brizantha* cv
147 Marandu, espécies arbóreas nativas do Cerrado e *Eucalyptus citriodora*. **Revista Brasileira de**
148 **Biociências.** v. 5, p.153-155, 2007.
- 149
- 150 CHOU, C. H. Introduction to allelopathy. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N. e GONZÁLEZ,
151 L. (Eds). **Allelopathy: A physiological process with ecological implications.** Dordrecht:
152 Springer. 637p. 2006.
- 153
- 154 FAGIOLI, M.; RODRIGUES, T. J. D.; ALMEIDA, A. R. P.; ALVES, P. L. Efeito inibitório
155 da *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. e *B. brizantha* (Hochstex a. Rich.) Stapf. cv. marandu
156 sobre a germinação e vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Boletim da**
157 **Indústria Animal.** v.57, n.2, p.129-137, 2000.
- 158
- 159 FERREIRA, A.G. & AQUILA, M.E.A. Alelopata: uma área emergente da ecofisiologia.
160 **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.** p. 175-204, 2000.
- 161
- 162 FRITZ, D.; BERNARDI, A.P.; HASS, J.S.; ASCOLI, B.M.; BORDIGNON, S.A. DE L. e
163 POSER, G.V. Germination and growth inhibitory effects of *Hypericum myrianthum* and *H.*
164 *polyanthemum* extracts on *Lactuca sativa* L. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** v.17, n.1,
165 p.44-48. 2007.
- 166

- 167 GARCÍA-ORTH, X. e M. MARTÍNEZ-RAMOS. Isolated Trees and Grass Removal Improve
168 Performance of Transplanted *Trema micrantha* (L.) Blume (Ulmaceae) Saplings in Tropical
169 Pastures. **Restoration Ecology**. v.19, p.24-34. 2011.
- 170
- 171 MACIAS, F.A.; GALLINDO, J.C.G. e MOLINILLO, J.M.G. Plant bio communicators:
172 Aplication of allelopathic studies. In: **2000 Years of Natural Products Research Past,Present**
173 **and Future**, Ed Teus J.C. Luijendijk, Phytoconsult, p.137-161, 2000.
- 174
- 175 MACÍAS, F. A.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M. e GALINDO, J. C. G. Allelopathy
176 – a natural alternative for weed control. **Pest Management Science**, v.63, p.327-348, 2007.
- 177
- 178 MATOS, D. M. S.; PIVELLO, V. R. O impacto das plantas invasoras nos recursos naturais de
179 ambientes terrestres - alguns casos brasileiros. **Ciência Cultura**, v. 61, n. 1, p. 27-30, 2009.
- 180
- 181 PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L.; REIGOSA, M. J. Allelopathy and abiotic stress. In: REIGOSA,
182 M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds). Allelopathy: A physiological process with
183 ecological implications. **Dordrecht, Holanda: Springer**. p.171-209. 2006.
- 184
- 185 PEREIRA, S.R., LAURA, V.A., e SOUZA, A.L. T. Establishment of Fabacea e Tree Species
186 in a Tropical Pasture: Influence of Seed Size and Weeding Methods. **Restoration Ecology**,
187 v.21, p.67–74. 2013.
- 188
- 189 PERES, M.T.L.P.; SILVA, L.B.; FACCENDA, O. e HESS, S.C. Potencial alelopático de
190 espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta Botanica Brasilica**. v.18 ,n.4, p.723-730. 2004.
- 191
- 192 PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos
193 Naturais: Atualidade, Ensaios e Perspectivas. **Química Nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.
- 194
- 195 PIVELLO, V.R. Invasões biológicas no Cerrado Brasileiro: Efeitos da introdução de espécies
196 exóticas sobre a biodiversidade. **Ecologia info3**. 2008.
- 197
- 198 REZENDE, S. P. et al. **Alelopacia e suas interações na formação e manejo de pastagens**.
199 Boletim agropecuário. Universidade federal de lavras. Zootecnia/Forragicultura e Pastagens,
200 UFLA, Lavras - MG. 56p. 2000.

- 201 RICE, E.L. **Allelopathy**. 2nd. New York: Academic Press, 1984.
- 202
- 203 SILVA, A.A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R. e SANTOS J. B. Biologia de plantas
204 daninhas. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa:
205 Ed. UFV, p. 1-61, 2009.
- 206
- 207 SEIGLER, D.S. Chemistry and mechanisms of allelopathy interactions. **Agronomy Journal**.
208 v.88, p.876-885. 1996.
- 209
- 210 SOUSA, L. S.; VELINI, E. D. e MAIOMONI-RODELLA, R. C. S. Efeito alelopático de
211 plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no
212 desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, Viçosa, v.21, n.3,
213 p.343-354, 2003.
- 214
- 215 SOUZA FILHO, A. P. S.; PEREIRA, A. A. G.; BAYMA, J. C. Aleloquímico produzido pela
216 gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n.1, p. 25-32,
217 2005.
- 218
- 219 VERONKA, D.A.; MARQUES, D.C.; CAVADA, L.H.; LAURA, V.A.; VALLE, C.B.;
220 FERREIRA, M.B.; FERREIRA, V.B.N.; GARCEZ, W.S.; RODRIGUES, A.P.D.C. **Efeito
221 alelopático do extrato bruto de *Brachiaria decumbens* na germinação e no vigor de
222 sementes e plântulas de *Brachiaria brizantha***. Documentos 188. Embrapa Gado de Corte,
223 2012.
- 224
- 225 WANDSCHEER, A.C.D.; BORELLA, J.; BONATTI, L.C.; e PASTORINI, L. H. Atividade
226 alelopática de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) sobre a
227 germinação de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.25, n.1, p.25-30.
228 2011.
- 229
- 230
- 231
- 232
- 233

234 **Capítulo 1**

235

236 **Atividade alelopática de *Urochloa brizantha* sobre a germinação,**
237 **desenvolvimento e estresse oxidativo de plântulas de alface e**
238 **cebola**

239 Ana Paula Paniagua de Oliveira¹, MarizeTerezinha Lopes Pereira Peres², Valdemir Antônio Laura³

240

241 ¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, CEP 79070-900. Campo
242 Grande, MS, Brasil. ana.op.@hotmail.com

243 ²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo e Geografia,
244 CEP 79070-900. Campo Grande, MS, Brasil.

245 ³Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

246

247 **RESUMO**

248 Experimentos em laboratório foram conduzidos para determinar o potencial de atividade
249 alelopática do extrato etanólico bruto (EEB) e frações semipurificadas obtidas em hexano (FH),
250 acetato de etila (FAE) e etanol-água (FEA) de *Urochloa brizantha* sobre a germinação, o
251 crescimento e estresse oxidativo de alface (*Lactuca sativa* var. Grand rapids) e cebola (*Allium*
252 *cepa* var. Baia periforme). Os biotestes foram realizados nas concentrações 0, 250, 500 e 1000
253 mg.L⁻¹. Os parâmetros avaliados (% de germinação, IVG, crescimento aéreo e radicular) foram
254 influenciados de maneira distinta e na grande maioria das vezes de modo dose-dependente,
255 observando-se redução no número de sementes germinadas, retardando a germinação, redução
256 no crescimento do hipocótilo/coleóptilo de alface e cebola, e também no comprimento da
257 radícula de alface e cebola. Na avaliação do metabolismo, quanto a atividade da enzima
258 peroxidase, observou-se para ambas espécie-alvo que as soluções-teste aumentaram a atividade
259 da enzima. Na avaliação da enzima catalase em alface o aumento foi observado na maior
260 concentração de EEB e FH e nas demais soluções teste observou-se queda; em cebola todas as
261 soluções-teste provocaram aumento em relação ao controle, exceto nas maiores concentrações
262 de FEA. A produção de clorofila em alface aumentou somente para FH e FAE, e em cebola
263 queda da produção em FAE e aumento em EEB e FEA. A atividade respiratória e a massa seca
264 não diferiram em relação ao controle. Os resultados obtidos sugerem que *U. brizantha* apresenta
265 potencial alelopático para as espécies alface e cebola, em especial para os parâmetros
266 analisados.

267 **PALAVRA-CHAVE:** alelopatia, plantas invasoras, aleloquímicos.

268 **Allelopathic activity *Urochloa brizantha* on germination, seedling growth and**
269 **metabolism of lettuce and onion**

270 **ABSTRACT**

271 Laboratory experiments were conducted to determine the potential for allelopathic activity of
272 the crude ethanol extract (EEB) and semi-purified fractions obtained in hexane (FH), ethyl
273 acetate (FAE) and ethanol - water (FEA) of *Urochloa brizantha* on germination, oxidative stress
274 and growth of lettuce (*Lactuca sativa* var . Grand rapids) and onion (*Allium cepa* var . Baia
275 piriform). The bioassays were performed at concentrations of 0, 250, 500 and 1000 mg.l⁻¹. The
276 parameters evaluated (% germination, IVG, shoot and root growth) were influenced differently
277 and in most cases a dose- dependent manner, with a reduction in the number of germinated
278 seeds, delaying germination, reduced growth hypocotyl/coleoptile lettuce and onion, and also
279 in radicle length of lettuce and onion. In the evaluation of metabolism and the activity of the
280 peroxidase enzyme was observed for both target species that test solutions increased the enzyme
281 activity. In the evaluation of the enzyme catalase in lettuce increase was observed at the highest
282 concentration of EEB and FH and in the other test solutions observed falling; onion in all test
283 solutions caused increased compared to control, except at the highest concentrations of FEA.
284 The production of chlorophyll in lettuce increased only for FH and FAE, and falling onion
285 production in FAE and increase in EEB and FEA. The respiration rate and dry mass did not
286 differ from the control. The results suggest that *U. brizantha* presents allelopathic potential for
287 species lettuce and onions, in particular for the parameters analyzed.

288

289 **KEY-WORDS:** allelopathy, invasive plants, allelochemicals.

290

291

292 **INTRODUÇÃO**

293 A alelopatia é definida como o efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de
294 compostos químicos que são produzidos e liberados no ambiente por plantas ou
295 microorganismos sobre outros indivíduos (RICE, 1984; SILVA et al., 2009). Os compostos
296 aleloquímicos têm origem no metabolismo secundário e sua principal função é a proteção dos
297 organismos que os produzem (SOUZA-FILHO, 2006). Na natureza, estes compostos podem
298 influenciar o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos circundantes (RAZAVI,
299 2011), representando um fator ecológico importante na estruturação das comunidades vegetais.
300 Quando substâncias alelopáticas são liberadas no ambiente, os efeitos podem influenciar de

301 forma negativa ou positiva na germinação e/ou o desenvolvimento de plantas já estabelecidas,
302 uma vez que os aleloquímicos podem proporcionar estresse oxidativo, atuando nos processos
303 de degradação celular, causando danos em processos fisiológicos e alterando o
304 desenvolvimento inicial das plântulas (ALMEIDA et al., 2008).

305 No Brasil, várias espécies de gramíneas africanas foram introduzidas accidentalmente ou
306 para fins forrageiros. Atualmente cerca de 172 milhões de hectares são ocupados no país por
307 pastagens, sendo destes 95 milhões com espécies do gênero *Urochloa* (muito conhecido como
308 *Brachiaria*) e 60 milhões exclusivos da espécie *U. brizantha* (IBGE 2006). No entanto, em
309 muitos casos, estas espécies tornarem-se invasoras de ecossistemas naturais, principalmente
310 dos ambientes abertos, como campos e cerrados (MATOS e PIVELLO, 2009).

311 Há na literatura estudos indicando que gramíneas forrageiras do gênero *Urochloa*
312 apresentam potencial alelopático tanto nas sementes como na parte aérea e nas raízes, agindo
313 na inibição da germinação e desenvolvimento de plantas de diferentes espécies, como o feijão-
314 guandu e eucalipto (FAGIOLI, 2000; SOUSA et al., 2003; BOCCHESI, 2007). Os efeitos de
315 compostos potencialmente alelopáticos são pesquisados por meio de extratos aquosos e/ou
316 alcoólicos derivados de plantas e aplicados sobre outros vegetais (VERONKA et al., 2012).

317 O conhecimento do potencial alelopático de *Urochloa* é importante para o entendimento
318 do processo de ocupação e dominância de pastos formados com essas espécies, a fim de se
319 entender o difícil estabelecimento de espécies nativas em campos ocupados por esta gramínea.

320 Assim, objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de *Urochloa brizantha*
321 na germinação, crescimento e metabolismo de alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*)
322 em bioensaios em laboratório.

323

324 MATERIAL E MÉTODOS

325

326 Para avaliar o potencial alelopático de *Urochloa brizantha* foram coletados indivíduos
327 adultos de *U. brizantha* (aproximadamente três quilos de matéria fresca) em dezembro de 2012,
328 nos campos da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS ($20^{\circ}25'27''S$ e $54^{\circ}41'16''O$). O
329 material coletado (porções aérea e subterrânea) foi fragmentado em pequenos pedaços e
330 acondicionados em saco plástico a $-7^{\circ}C$. Posteriormente o material foi submetido a extração
331 por meio de maceração com etanol absoluto (m/v, 1:2), à temperatura ambiente. Após 7 dias,
332 foi realizada a filtragem e o material sólido descartado, sendo o solvente evaporado ($\pm 40^{\circ}C$)
333 sob vácuo em evaporador rotativo para obtenção do extrato etanólico bruto (EEB). Para
334 obtenção das frações semipurificadas (FS), o EEB foi fracionado através de partição líquido-

335 líquido com solventes de diferentes graus de polaridade, hexano e acetato de etila, em funil de
336 decantação, sendo obtidas as frações hexânica (FH), acetato de etila (FAE) e etanol-água (FEA).
337 O teor de água foi determinado a partir de uma alíquota do EEB e das frações, submetida à
338 secagem (100 °C), até obtenção de massa constante. Para o preparo das soluções-teste, o EEB
339 e as FS (FH, FAE, FEA) foram pesados, levando-se em consideração o teor de água e
340 dissolvidas em DMSO (Dimetilsulfóxido) a 0,1% (DAYAN et al., 2000), obtendo-se a solução
341 estoque de 1000 mg.L⁻¹; as concentrações de 500 e 250 mg.L⁻² foram obtidas por diluição. As
342 soluções-teste foram tamponadas com solução de MES (Ácido 2-morfolinoetanosulfônico) a
343 10 mM, e o pH foi ajustado para 6,0 com solução de KOH 0,1 N (MACIAS et al., 2000). As
344 frações foram ensaiadas com a eudicotiledônea alface (*Lactuca sativa* L. cv. Grand rapids) e
345 com a monocotiledônea cebola (*Allium cepa* L. cv. Baia Periforme), pois estas espécies
346 representam uma classe de espécies indicadoras em estudos alelopáticos, devido a sensibilidade
347 a vários aleloquímicos e a resistência das sementes a ampla faixa de pH e potencial osmótico
348 (RICE, 1984).

349 Nos bioensaios de germinação, foi aplicada a metodologia de Macias et al. (2000). Placas
350 de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro Whatman nº. 1, ambos previamente
351 autoclavados, receberam 5 mL das soluções-teste nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹. Em seguida, foram semeados sobre cada disco de papel filtro 50 diásporos das espécies alvo
352 (alface e cebola), distribuídos aleatoriamente, com 4 repetições para cada solução, conforme
353 Brasil (2009). Como controle, procedimento similar foi utilizado, porém com 5 ml de DMSO
354 0,1% e a solução tampão MES 10 mM, ajustando o pH para 6,0, quando necessário, com
355 solução KOH 0,1 N (MACIAS et al., 2000). As placas de Petri contendo os diásporos foram
356 levadas a uma câmara de germinação (BOD), com condições de luz (160 W m⁻²), umidade
357 relativa (± 80%) e temperatura constante, adequada a cada espécie alvo (alface, 25 °C com luz
358 interna constante; cebola, 15 °C e fotoperíodo de 12 h) (BRASIL, 2009). A germinação foi
359 avaliada por meio de contagens diárias para a cebola e a cada 12 horas para alface. Foram
360 consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão radicular com no mínimo 2
361 mm de comprimento. O experimento foi considerado concluído quando não ocorreu
362 germinação por três dias consecutivos (FERREIRA e AQUILA, 2000).

364 Nos bioensaios de crescimento foi utilizada a metodologia descrita por Macias et al.
365 (2000). Após a germinação, tendo como critério a protrusão radicular de no mínimo 2,0 mm de
366 comprimento, foram selecionadas 80 plântulas (quatro repetições de 20), para cada tratamento,
367 sendo então transferidas para as placas de Petri contendo as soluções teste, utilizando-se
368 procedimento similar ao descrito nos bioensaios de germinação. Após três dias da protrusão

369 radicular para alface e cinco dias para cebola, foi medido o comprimento da raiz e do
370 hipocótilo/coleóptilo (dez plântulas por placa), utilizando-se papel milimetrado.
371 Posteriormente, essas plântulas foram levadas a estufa a 60°C até peso constante, para obtenção
372 da massa seca.

373 Para a determinação dos teores de clorofila foram macerados 20 mg da parte aérea das
374 plântulas-alvo em DMSO 0,1% (Dimetilsulfóxido), sendo posteriormente o macerado deixado
375 em repouso no escuro por 24 horas, a temperatura ambiente. Após este período as absorbâncias
376 das soluções contendo clorofila foram lidas em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda
377 645 e 663 nm e, a partir desses dados, foram calculados os teores de clorofila a, de clorofila b
378 e de clorofila total (ARNON, 1949).

379 A respiração potencial das células radiculares foi estimada por meio da redução do
380 cloridrato de trifentetrazólio (TTC) pela atividade da enzima desidrogenase e do surgimento
381 do formazan. Para a avaliação dessa característica as raízes foram cortadas a 1,0 cm a partir da
382 coifa, sendo tomadas as suas massas (20 mg) e em seguida transferidas para tubos de ensaios,
383 onde foram adicionados 3,0 mL de TTC 0,6% (p/v) em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0). Os
384 tubos de ensaios foram mantidos sob vácuo em dessecadores, por duas horas, sendo
385 posteriormente transferidos para banho-maria a 30°C por 15 horas. Ao final desse tempo, as
386 soluções de TTC foram drenadas dos tubos de ensaio e descartadas; em seguida as raízes foram
387 lavadas uma vez com água destilada que posteriormente, também foi drenada ao máximo e
388 descartada. Os tubos de ensaios contendo as raízes foram novamente transferidos para banho-
389 maria com água fervente ($\pm 100^{\circ}\text{C}$), sendo então adicionados 7 mL de etanol 95% (v/v) em
390 cada um deles. Decorridos 10 minutos as soluções etanólicas obtidas foram drenadas para
391 outros tubos de ensaio. Após o resfriamento a temperatura ambiente, cada solução foi acrescida
392 de 10 mL de etanol a 95% (v/v). As absorbâncias dessas soluções etanólicas foram lidas em
393 espectrofotômetro, no comprimento de onda 530 nm e os resultados expressos nos valores da
394 absorbância (STEPONKUS e LANPHEAR, 1967).

395 Para a avaliação da atividade enzimática, primeiramente as plântulas frescas (1,0 g) foram
396 maceradas em nitrogênio líquido e tampão fosfato de potássio (6,0 mL; 0,2 M; pH 7,0). Em
397 seguida, o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante utilizado como
398 extrato enzimático (ZENG et al., 2001). Para a atividade da peroxidase (POD) uma alíquota de
399 10 μl de extrato foi adicionado em tubos de ensaio contendo 1 mL de tampão fosfato de potássio
400 (0,2 M; pH 7,0); em seguida os tubos foram levados para banho-maria até a estabilização da
401 temperatura a 25°C. Posteriormente, adicionou-se 100 μL de guaiacol (0,5%), 100 μL de H_2O_2
402 (0,08%) e, imediatamente, efetuou-se as leituras de absorbância em espectrofotômetro na

403 absorbância de 470 nm, com 3 repetições para cada tratamento. A atividade da POD foi
404 calculada usando o coeficiente de extinção de $25,5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o resultado foi expresso em
405 µmoles de tetraguaiacol produzido ($\text{mg de proteína}^{-1}$) (ZENG et al., 2001). Para a avaliação da
406 atividade da catalase (CAT) 100 µL de extrato enzimático foram adicionados a 3,0 mL de
407 peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (12,5 mM) em tampão fosfato de potássio (50 mM; pH 7,0), a
408 30°C. Em seguida foi realizada as leituras da absorbância a 240 nm, com 3 repetições para cada
409 tratamento (CAKMAK e MARSCHNER, 1992).

410 Os dados foram submetidos à análise de variância e quando os efeitos dos tratamentos
411 foram significativos, em relação à testemunha, as médias foram comparadas pelo teste de
412 Tukey. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arco seno para a
413 análise estatística. Todos os resultados foram analisados considerando o nível de significância
414 $\alpha = 5\%$.

415

416 **RESULTADOS**

417

418 A germinação e o vigor das duas espécies avaliadas (alface e cebola) foram influenciados
419 de forma distinta tanto pela utilização de diferentes extratos, como pela concentração dos
420 mesmos, mostrando-se dose dependente, exceto para o EEB em alface. O EEB e a FH inibiram
421 a germinação de ambas as espécies-alvo em todas as concentrações ensaiadas. Sendo as maiores
422 inibições verificadas na maior concentração do EEB e FH em cebola. (Tabela 1).

423 O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) das duas espécies-alvo foi influenciado de
424 forma inversamente proporcional em relação ao aumento da concentração, sendo o aumento
425 das concentrações das soluções-teste reduziu de forma gradativa o valor do IVG, exceto para o
426 EEB em alface. A fração FH foi a que mais interferiu no IVG de alface, e o EEB no IVG de
427 cebola, atrasando a germinação (Tabela 1).

428 No crescimento da parte aérea das plântulas-alvo, todas as soluções-teste reduziram
429 significativamente o crescimento do hipocótilo/coleóptilo de ambas as espécies (Figura 1). Para
430 alface, a FH e a FAE apresentaram diferenças significativas entre as soluções-teste e o controle,
431 porém não entre as diferentes concentrações. Para a espécie-alvo cebola, as soluções-teste
432 apresentaram resultados semelhantes quanto ao parâmetro do crescimento aéreo, onde os
433 ensaios demonstraram uma relação inversamente proporcional, isto é, com o aumento da
434 concentração diminui o comprimento do coleópitlo (Figura 1).

435 O crescimento da raiz de plântulas de alface foi inibido em todas as soluções-teste e
436 concentrações ensaiadas, com exceção do EEB. Assim como observado para a porção aérea de

437 alface, a raiz também sofreu maior queda no crescimento para FH e FAE, independente da
438 concentração. Já para a cebola, nenhuma das soluções-teste influenciou no crescimento de
439 raízes de plântulas, exceto o EEB (Figura 1).

440 A atividade enzimática das plântulas das duas espécies avaliadas foi influenciada tanto
441 pelo tipo de extrato como pela concentração utilizada. Para a alface, a produção de peroxidase
442 (POD) apresentou um aumento para as concentrações utilizadas, em relação ao controle (Figura
443 2), sendo a FEA a que apresentou o maior aumento da produção de peroxidase em qualquer
444 uma das concentrações utilizadas, em relação ao controle. Já em cebola, a atividade da POD
445 elevou-s e com o aumento da concentração utilizada em todas frações, exceto na FH, onde
446 ocorreu uma queda na produção (Figura 2).

447 A atividade da catalase (CAT) em alface foi reduzida nas frações FAE e FEA com o
448 aumento das concentrações utilizadas em relação ao controle; já para o EEB ocorreu uma queda
449 nas menores concentrações e um aumento na maior concentração, e para a FH a diferença foi
450 somente para a maior concentração. Para a cebola, observou-se um aumento na produção de
451 catalase em todas as soluções-teste em relação ao controle (Figura 2).

452 A massa seca não apresentou diferença significativa em nenhuma solução-teste e
453 concentração realizadas.

454 A produção de clorofila em plântulas de alface não foi influenciada pelo EEB e pela FEA.
455 Para a fração FH, houve um aumento da produção em concentrações intermediárias enquanto
456 que para a fração FAE o aumento da concentração resultou em aumento da produção de
457 clorofila (Figura 3). Em plântulas de cebola, a produção de clorofila foi estimulada nas
458 soluções-teste EEB e FEA; sendo que a maior produção de clorofila ocorreu para as
459 concentrações intermediárias. Para a fração FH, não houve alteração significativa da produção
460 de clorofila enquanto que na fração FEA, a maior concentração resultou em uma redução
461 significativa de produção (Figura 3).

462 A atividade respiratória das células das raízes das plântulas de alface e cebola não sofreu
463 influência na presença das soluções-teste em nenhuma concentração (Figura 3).

464

465 **DISCUSSÃO**

466 Os bioensaios de germinação de sementes na presença de extratos vegetais são pontos de
467 partida para a investigação de alelopatia intra e inter específicos (HAMDI et al. 2001). Tanto
468 para alface quanto para cebola, a queda no número de sementes germinadas foi proporcional ao
469 aumento da concentração em todas as soluções teste, exceto para EEB em alface. Estudos
470 recentes mostram que, além da porcentagem final de germinação, o padrão de germinação,

471 identificado por diferenças tanto na velocidade como na sincronia desse processo, também pode
472 ser modificado pela ação de aleloquímicos (SANTANA et al., 2006). A importância desses
473 estudos se baseia no fato de que as sementes constituem unidades biológicas por meio das quais
474 processos ecológicos, como a invasão de novos nichos por espécies não nativas, a colonização
475 de novos habitats e a regeneração da vegetação nativa, dentre outros, podem ser desencadeados.

476 Assim como a germinação foi influenciada de maneira geral para menor germinabilidade,
477 o IVG também apresentou queda com o aumento das concentrações nos testes, fato que pode
478 influenciar na sincronia da germinação e sobrevivência das espécies no campo; pois os
479 aleloquímicos presentes em uma determinada espécie poderia diminuir a velocidade de
480 germinação de outras e, se o desenvolvimento das outras espécies é prejudicado, mesmo
481 germinando, a plântula não consegue vencer as interferências e se instalar, estabelecendo sua
482 prole (FERREIRA e BORGUETTI, 2004). A redução no vigor das sementes, pode acarretar
483 em uma perda progressiva da capacidade produtiva, redução na uniformidade da germinação,
484 indicando maior ou menor probabilidade de sucesso após a semeadura (SANTANA e RANAL,
485 2006). No presente estudo, observou-se que o IVG das espécies teste foi, de forma geral,
486 negativamente afetado por *U. brizantha*, sugerindo que esta espécie poderá alterar o padrão de
487 estabelecimento de outras espécies a campo. Se analisar para as culturas agrícolas, não são
488 desejados atrasos na germinação das sementes, pois predispõem as sementes por mais tempo
489 ao ataque de pragas, doenças de solo e herbivoria (CASTAGNARA et al., 2012), podendo
490 também justificar esse malefícios para as comunidades vegetais naturais. Com a queda da
491 porcentagem de germinação acompanhando o aumento das concentrações, na maior parte dos
492 testes, e também com o menor vigor das sementes, pode inferir-se que substância química do
493 metabolismo secundário presente nas soluções-teste de *U. brizantha* afetam a germinação das
494 espécies-alvo. Abordando esse comportamento na natureza, o impedimento da germinação de
495 sementes quimicamente sensíveis a substâncias alelofitotóxicas pode ter como consequência a
496 diminuição da densidade de seus indivíduos o que, em médio e longo prazos, pode levar à
497 extinção local dessa espécie, com implicações para a biodiversidade local (LEVIN, 1970;
498 CALLAWAY et al. 2005).

499 Após a germinação outros fatores podem influenciar no estabelecimento de determinada
500 espécie; como o tamanho absoluto das plântulas que pode afetar o seu estabelecimento em
501 determinado ambiente, a competição por recursos e a herbivoria (GUREVITCH et al. 2009).
502 Os resultados obtidos no presente estudo, indicam que substâncias alelopáticas produzidas por
503 *U. brizantha*, presentes em todas as soluções-teste inibiram o crescimento radicular e aéreo de

504 alface, e o aéreo de cebola. A alteração no comprimento de órgãos da plântula está relacionada
505 à modificação no balanço hormonal do vegetal (ALVES e SANTOS, 2002).

506 A produção de clorofila nas plântulas de alface e cebola não foi inibida na presença das
507 soluções teste. O aumento da clorofila pode estar relacionado à tentativa de aclimatação da
508 espécie ao fator de estresse, devido sua função fotoprotetora (MARENCO e LOPES, 2005).

509 Quanto à influência na respiração celular das raízes para a cebola, não foram detectadas
510 alterações significativas. A presença de aleloquímicos pode alterar a atividade respiratória
511 celular interferindo em várias etapas desse processo (CHON et al., 2000). Estudos indicam que
512 o milho teve a respiração das raízes inibida em até 90%, enquanto o pepino apresentou um
513 aumento nessa atividade respiratória (DURIGAN e ALMEIDA 1993), portanto a respiração
514 das células radiculares pode sofrer aumento ou queda, dependendo da natureza química dos
515 compostos presentes nos vegetais estudados.

516 De maneira geral, as espécies teste utilizadas apresentaram aumento na produção de
517 peroxidase pela exposição às soluções de *U. brizantha*, exceto para FH em cebola. Já para
518 catalase (CAT) o aumento em alface foi somente para FH, porém em cebola observou-se
519 aumento em todas as soluções teste. Alguns aleloquímicos induzem o aumento da atividade de
520 enzimas oxidativas, modificando a permeabilidade das membranas e a formação de lignina, que
521 contribuem para a redução do comprimento da parte radicular ou aérea (FERRARESE et al.,
522 2000). Devido a queda no comprimento da parte aérea, tal fator pode evidenciar a ineficiência
523 destas enzimas no processo de desintoxicação dos tecidos da plântula ao ser submetida às
524 maiores concentrações do extrato de *U. brizantha*.

525 Os vegetais constituem a fonte mais abundante para enzimas da classe oxidorredutase. A
526 peroxidase faz parte deste grupo, atuando na proteção antioxidativa. e ainda catalisando uma
527 variedade de reações envolvendo transferências de elétrons (CHANCE & MAEHLY, 1955).
528 Segundo Rabinovitch et al. (2004) e Sinsabaugh (2010), a expressão da peroxidase parece ser
529 uma resposta ao estresse oxidativo e à presença de compostos fenólicos. Estudos indicam que
530 essas enzimas estão relacionadas aos mecanismos de defesa das plantas em situações de
531 estresse, ativando sua atividade se a planta detectar algum fator anormal no ambiente e que
532 venha ocasionar estresse para sua sobrevivência (MARAFON et al., 2009).

533 Os aleloquímicos estimulam a produção de oxigênio reativo por diversos mecanismos.
534 Por exemplo, o bloqueio da cadeia transportadora de elétrons, onde os elétrons ficam livres e
535 reagem facilmente com o O₂ formando superóxido (FOREMAN et al., 2003). Estudos têm
536 demonstrado que os aleloquímicos produzidos por *Secale cereale* L. reduziram o crescimento

537 radicular de *Cucumis sativus* L., pois causam mudanças nas estruturas celulares das raízes
538 (BURGOS et al., 2004).

539 Os resultados obtidos evidenciam que os extratos de *U. brizantha* tem ação inibitória
540 sobre o metabolismo das plantas-alvo, bem como interferem no crescimento. Verificou-se
541 também aumento da atividade de enzimas antioxidantes o que indica indução do metabolismo
542 de defesa em resposta aos extratos. Todos esses processos metabólicos são cruciais para o
543 estabelecimento de qualquer planta. Todas as soluções teste interferiram no desenvolvimento e
544 metabolismo das espécies ensaiadas, sendo a FH e a FAE as frações que causaram maior
545 inibição no crescimento e na germinação, e a FH a que causou maior atividade de enzimas.

546

547 CONCLUSÕES

548 Os resultados obtidos sugerem que *U. brizantha* apresenta potencial alelopático para as
549 espécies alface e cebola, em especial para os parâmetros de germinação, crescimento das
550 plântulas e na produção de enzimas sinalizadoras de estresse.

551

552

553

554

555

556

557

558

559

560

561

562 Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica
563 (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) de *Urochloa brizantha* sobre o

564 índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) de alface e
565 cebola.

566

Tratamento ¹	<i>Urochloa brizantha</i> Germinabilidade (%G)		
	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000 mg.L ⁻¹
Alface; Controle: 66,0			
EEB	36,0*	40,0*	34,0*
FH	35,0*	34,5*	34,0*
FAE	53,5	52,0	51,0
FEA	55,0	48,5	44,0
Cebola; Controle: 70,0			
EEB	59,5*	41,5*	24,5*
FH	73,5*	59,0*	31,0*
FAE	78,0	65,0*	64,5*
FEA	81,0	78,5	77,5
Índice de velocidade de germinação (IVG)			
Alface; Controle: 15,6			
EEB	13,5	13,0	12,5
FH	5,9*	3,5*	1,8*
FAE	12,1*	10,1*	7,1*
FEA	8,7*	8,5*	7,3*
Cebola; Controle: 6,1			
EEB	2,7*	2,6*	1,5*
FH	4,9*	4,1*	3,4*
FAE	5,4*	4,3*	3,8*
FEA	5,7	5,5	5,2

567

568

569

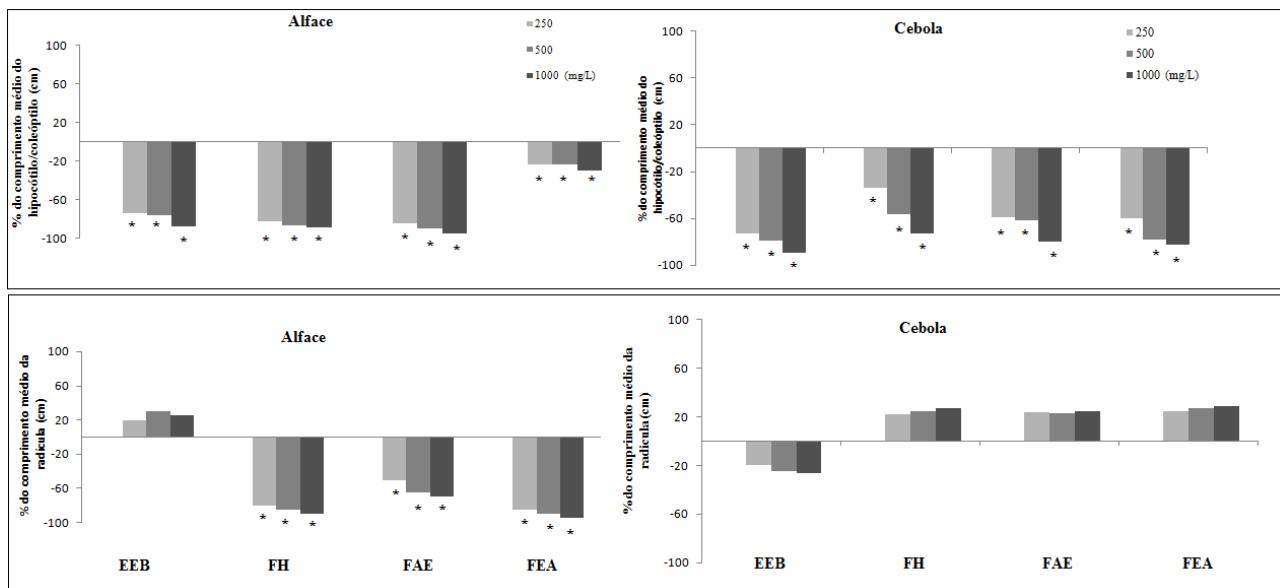
570

571

572

573

574



575

576 Figura 1. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *Urochloa brizantha* sobre o
 577 crescimento do hipocótilo/coleóptilo e radícula das plântulas de alface e cebola (EEB= extrato
 578 etanólico bruto; FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila; FEA= fração etanol água).
 579 Dados expressos em percentual em relação ao controle. * A média do tratamento difere
 580 significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Tukey.

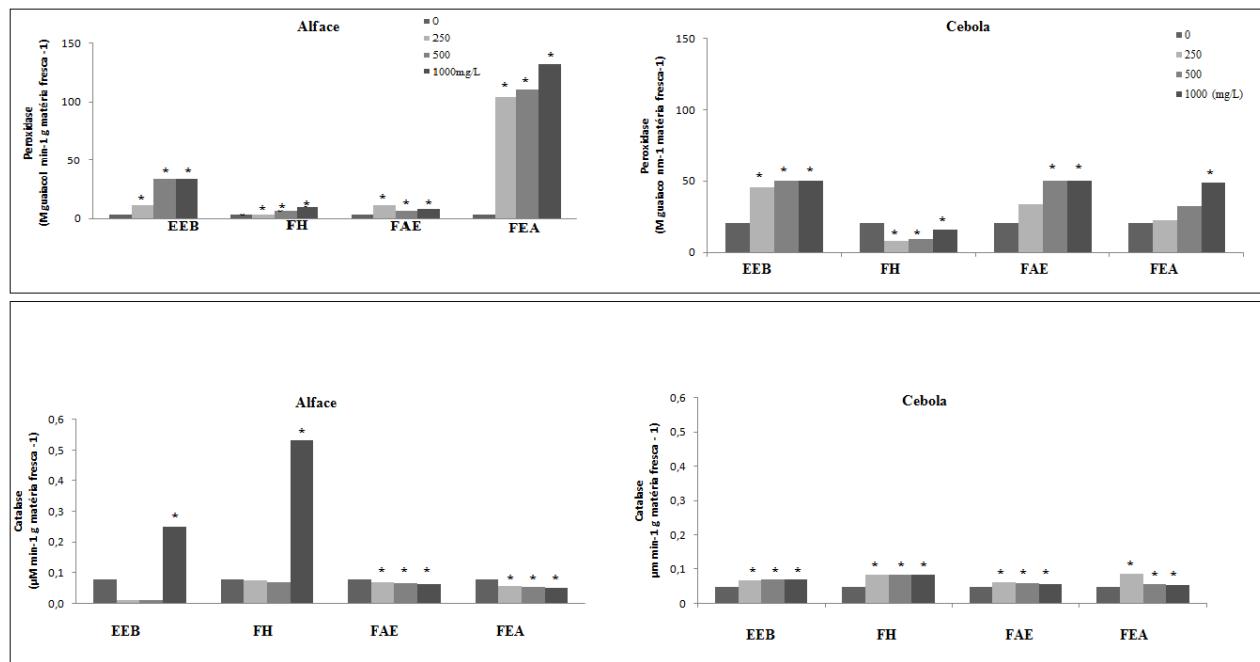
581

582

583

584

585

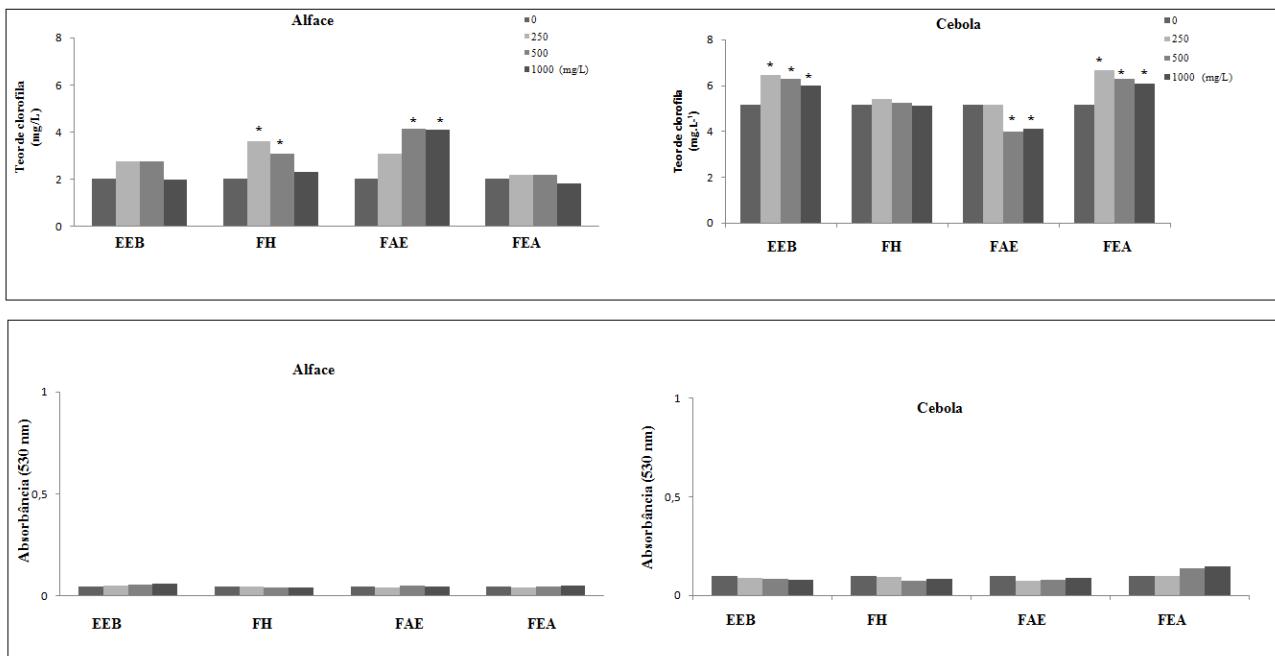


586

587 FIGURA 2. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *U. brizantha* sobre a atividade
 588 peroxidase e catalase das plântulas de alface e cebola. Médias seguidas da mesma letra do
 589 controle não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (EEB= extrato
 590 etanólico bruto; FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila; FEA= fração etanol água).
 591 Dados expressos em percentual em relação ao controle. * A média do tratamento difere
 592 significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de Tukey.
 593

594

595



596

597 FIGURA 3. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *U. brizantha* sobre o teor médio
 598 de clorofila total a parte aérea e atividade respiratória das células das raízes das plântulas de
 599 alface e cebola. Médias seguidas da mesma letra do controle não diferem entre si pelo teste de
 600 Tukey a 5% de probabilidade. (EEB= extrato etanólico bruto; FH= fração hexânica; FAE=
 601 fração acetato de etila; FEA= fração etanol água). Dados expressos em percentual em relação
 602 ao controle. * A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com
 603 a média do controle, pelo teste de Tukey.

604

605

606

607

608

609

610

611

612

613

614

615

616

617 **REFERÊNCIAS**

- 618
- 619 ALMEIDA, G. D. de; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M.
620 Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional**
621 **de Agronomía**, Medellín, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.
- 622
- 623 ALVES, S. M. & SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: SOUZA
624 FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Ed.). *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais.*
625 **Belém:Embrapa Amazônia Oriental**. p. 25-47. 2002.
- 626
- 627 ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in
628 *Betavulgaris*.**Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- 629
- 630 BOCCHÈSE, R. A.; MELOTTO, A.M.; CÉSAR FILHO, L.C.C.; FERNADES V.M.;
631 FRANCESCHI, M.L.; LAURAS, A.V. Avaliação da competição entre *Brachiaria brizantha* cv
632 Marandu, espécies arbóreas nativas do Cerrado e *Eucalyptus citriodora*. **Revista Brasileira de**
633 **Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p.153-155, 2007.
- 634
- 635 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para a Análise de Sementes**,
636 SNDA/DNDU/CLU, Brasília. 2009.
- 637
- 638 BURGOS, N.R.; TALBERT, R.E.; KIM, K.S.; KUK, Y.I. Growth inhibition and root
639 ultrastructure of cucumber seedlings exposed to allelochemicals from rye (*Secale cereale*).
640 **Journal Chemistry Ecology**, v.30, n.3, p.671–689, 2004.
- 641
- 642 CAKMAK, I.; MARSCHNER, H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance
643 activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean
644 leaves. **Plant Physiology**, v.98, p.1222–1227, 1992.
- 645
- 646 CALLAWAY, R.M.; RIDENOUR, W.M.; LABOSKI, T.; WEIR,T. & VIVANCO, J.M.
647 Natural selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants. **Journal of**
648 **Ecology**, v.93, p. 576-583. 2005.
- 649

- 650 CASTAGNARA, D.D.; MEINERZ, C.C.; MULLER, S.F.; HARTMANN, S.M.; PORTZ,
651 T.M.; OBICI, L.V.; GUIMARÃES, V.F. Potencial alelopático de aveia, feijão guandu, azevém,
652 e braquiária na germinação de sementes e atividade enzimática do pepino. **Ensaios e Ciência:**
653 **Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde.** v.16, n.2, p. 31-42. 2012.
- 654
- 655 CHANCE, B., MAEHLY, A.C. Assay of catalase and peroxidase. **Methods in Enzymology**, v.
656 2, p. 764-775, 1955.
- 657
- 658 CHON, S.U.; COUTTS, J.H.; NELSON, C.J. Effects of light, growth media and seedling
659 orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v.92, p. 715-720, 2000.
- 660
- 661 DAYAN, F.E.; ROMAGNI, J.G.; DUKE, S.O. Investigating the mode of action of natural
662 phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n.9, p. 2079-2093, 2000.
- 663
- 664 DURIGAN, J.C.; ALMEIDA, F.L.S. **Noções sobre alelopatia.** Jaboticabal: FUNEP,1993.
- 665
- 666 FAGIOLI, M.; RODRIGUES, T. J. D.; ALMEIDA, A. R. P.; ALVES, P. L. Efeito inibitório
667 da *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. e *B. brizantha* (Hochstex a. Rich.) Stapf. cv. marandu
668 sobre a germinação e vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). B. **Boletim da**
669 **Indústria Animal**, Nova Odessa, v.57, n.2, p.129-137, 2000.
- 670
- 671 FERRARESE, M.L.L.; SOUZA, N.E.; RODRIGUES, J.D.; FERRARESE FILHO. Ferulic acid
672 uptake by soybean root in nutrient culture. **Acta Physiologia e Plantarum**,v. 22, p. 121-124,
673 2000.
- 674
- 675 FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista**
676 **Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.
- 677
- 678 FERREIRA, A.G. e BORGUETTI F. **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Ed.
679 Artmed; 222 p. 2004.
- 680
- 681 FOREMAN, J.V.; DEMIDCHIK, J.H.F.; BOTHWELL, P.; MYLONA, H.; MIEDEMA, M.A.;
682 TORRES, P.; LINSTEAD, S.; COSTA, C.; BROWNLEE, J.D.G.; JONES, J.M.;DAVIES, L.

- 683 Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. **Nature**,
684 v.422, n.6930, p.442-445, 2003.
- 685
- 686 GUREVITCH, J.; SCHEINER, S.M.; FOX, G.A. **Ecologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed.
687 2009.
- 688
- 689 HAMDI, A.B. Laboratory bioassays for phytotoxicity: an exemple from wheat straw.
690 **Agronomy Journal**. p.43-48. 2001.
- 691
- 692 IBGE. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf> Acesso em: 10 jan. 2014.
- 693
- 694 LEVIN, S.A. Community equilibria and stability, and an extension of the competitive exclusion
695 principle. **The American Naturalist**.v.104,p.413-423. 1970.
- 696
- 697
- 698 MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; CASTELLANO, D.; VELSACO, R.F. Sesquiterpene
699 lactones with potencial use as natural herbicides models.2. Guaianolides. **Journal of**
700 **Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5288-5296, 2000.
- 701
- 702 MARAFON, A.C.; HERTER, F.L.G.; BACARIN, M.A.; HAWERROTH, F.J. Atividade da
703 peroxidase durante o período hibernal de plantas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch.)
704 cv. jubileu com e sem sintomas da morte precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**,
705 Jaboticabal, v.31, n.4, p. 938- 942, 2009.
- 706
- 707 MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações**
708 **hídricas e nutrição mineral**. 2. ed. Viçosa: UFV. 451 p. 2005.
- 709
- 710 MATOS, D. M. S.; PIVELLO, V. R. O impacto das plantas invasoras nos recursos naturais de
711 ambientes terrestres: alguns casos brasileiros. **Ciência e Cultura**, v. 61, n.1, p. 27-30, 2009.
- 712
- 713 RABINOVICH, M.L.; BOLOBOVA, A.V.; VASILCHENKO, L.G. Fungal decomposition of
714 natural aromatic structures and xenobiotics: A review. Applied. **Biochemistry and**
715 **Microbiology**,v. 40, p. 1-17, 2004.
- 716

- 717 RAZAVI, S. M. Plant coumarins as allelophatics agents. **International Journal of Biological**
718 **Chemistry**, Pakistan, v. 5, n. 1, p. 86-90, 2011.
- 719
- 720 RICE, E.L. **Allelopathy**. 2nd. New York: Academic Press, 1984.
- 721
- 722 SANTANA, D.G.; RANAL, M.A.; MUSTAFA, C.V. & SILVA, R.M.G. Germination
723 measurements to evaluate allelopathic interactions. **Allelopathy Journal**.v.17, p.43-52. 2006.
- 724
- 725 SINSABAUGH, R. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. **Soil**
726 **Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 391-404, 2010.
- 727
- 728 SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS J. B. Biologia de plantas
729 daninhas. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa:
730 Ed. UFV.p. 1-61, 2009.
- 731
- 732 SOUSA, L. S.; VELINI, E. D.; MAIOMONI-RODELLA, R. C. S.; Efeito alelopático de plantas
733 daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento
734 inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, Viçosa, v.21, n.3, p.343-354, 2003.
- 735
- 736 SOUZA-FILHO, A. P. da S. **Alelopatia e as plantas**. Belém:Embrapa Amazônia Oriental. 159
737 p. 2006.
- 738
- 739 STEPONKUS, P.L.; LANPHEAR, F.O. Refinement of the triphenyltetrazoliumchloride method
740 of determining cold injury. **Plant Physiology**, v. 42, p. 1423-1426,1967.
- 741
- 742 VERONKA, D.A.; MARQUES, D.C.; CAVADA, L.H.; LAURA, V.A.; VALLE, C.B.;
743 FERREIRA, M.B.; FERREIRA, V.B.N.; GARCEZ, W.S.; RODRIGUES, A.P.D.C. **Efeito**
744 **alelopático do extrato bruto de *Brachiaria decumbens* na germinação e no vigor de**
745 **sementes e plântulas de *Brachiaria brizantha***. Documentos 188. EmbrapaGado de Corte,
746 2012.
- 747
- 748 ZENG, R.S.; LUO, S.M.; SHI, Y.H.; SHI, M.S.; TU, C.Y. Physiological and Biochemical
749 Mechanism of Allelopathy of Secalonic Acid F on Higher Plants. **Agronomy Journal**, v. 93,
750 p. 72–79, 2001.

751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780

781 **Capítulo 2**

782 **Atividade alelopática de *Urochloa decumbens* sobre a**
783 **germinação, desenvolvimento e metabolismo de alface e cebola**
784 Ana Paula Paniagua de Oliveira¹, Marize Terezinha Lopes Pereira Peres², Valdemir Antônio Laura³

785

786 ¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, CEP 79070-900. Campo
787 Grande, MS, Brasil. ana.op.@hotmail.com

788 ²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo e Geografia,
789 CEP 79070-900. Campo Grande, MS, Brasil.

790 ³Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

791

792 **RESUMO**

793 Experimentos em laboratório foram conduzidos para determinar o potencial de atividade
794 alelopática do extrato etanólico bruto (EEB) e frações semipurificadas obtidas em hexano (FH),
795 acetato de etila (FAE) e etanol-água (FEA) de *U. decumbens* sobre a germinação, o crescimento
796 e metabolismo de alface (*Lactuca sativa* var. Grand rapids) e cebola (*Allium cepa* var. Baia
797 periforme). Os biotestes foram feitos para diferentes concentrações (0, 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹). Os parâmetros avaliados (% de germinação, IVG, crescimento aéreo e radicular) foram
798 influenciados de maneira distinta e na grande maioria das vezes de modo dose-dependente,
799 reduzindo o número de sementes germinadas, retardando germinação, reduzindo o crescimento
800 do hipocótilo/coleóptilo de alface e cebola, porém para radícula em alface aumentando o
801 crescimento nas soluções-teste, e em cebola não diferindo do controle. Na avaliação do
802 metabolismo observou-se que as soluções-teste elevaram a atividade da enzima peroxidase em
803 ambas espécie-alvo. Na avaliação da enzima catalase em alface observou queda na produção
804 na FAE e EEB, e aumento na FH, já em cebola observou aumento em todas as soluções-teste,
805 exceto nas maiores concentrações da FAE. A produção de clorofila em alface apresentou
806 aumento significativo no EEB e FAE, e em cebola na FAE e FEA. A atividade respiratória
807 apresentou queda na respiração somente na FAE em alface, e em cebola não diferindo
808 comparado ao controle. Os resultados obtidos sugerem que *U. decumbens* apresenta potencial
809 alelopático para as espécies alface e cebola, em especial para os parâmetros analisados.

811

812 **PALAVRAS- CHAVES:** pastagem, fitotoxicidade, interferência química.

813 **Allelopathic activity of *Urochloa decumbens* on the germination 814 and seedlings of lettuce and onion**

815

816 **ABSTRACT**

817 Laboratory experiments were conducted to determine the potential for allelopathic
818 activity of the crude ethanol extract (EEB) and semi-purified fractions obtained in hexane (FH),
819 ethyl acetate (FAE) and ethanol - water (FEA) of *U. decumbens* on germination, growth and

metabolism of lettuce (*Lactuca sativa* var. Grand rapids) and onion (*Allium cepa* var. Baia piriform). The bioassays were performed at different concentrations (0, 250, 500 and 1000 mg.l⁻¹). The parameters evaluated (% germination, IVG, shoot and root growth) were influenced differently and in most cases a dose- dependent manner, reducing the number of germinated seeds, delaying germination, reducing growth of hypocotyl/ coleoptile of lettuce and onions, lettuce radicle however for increasing growth in test solutions, and onion did not differ from control. In the evaluation of metabolism was observed that the test solutions increased the activity of the peroxidase enzyme in both target species. In the evaluation of the enzyme catalase in lettuce observed drop in production in the FAE and EEB, and increased FH, onion already observed an increase in all test solutions except at the highest concentrations of FAE. The production of chlorophyll in lettuce showed a significant increase in EEB and FAE, and onion in the FAE and FEA. The respiratory activity decreased in respiration only in FAE lettuce, onion and no difference compared to the control. The results suggest that *U. decumbens* has allelopathic potential for species lettuce and onions, in particular for the parameters analyzed.

KEY- WORDS: pasture, phytotoxicity, chemical interference.

INTRODUÇÃO

Espécies de plantas invasoras geram grande problema para as plantas nativas de determinado ambiente, sendo a *Urochloa decumbens*, uma espécie introduzida como forrageira e que está se tornando uma importante infestante (KISSMANN, 1997). No Brasil, existem mais de 172 milhões de hectares (ha) de pastagem, dos quais aproximadamente 95 milhões de ha são cultivados com espécies de *Urochloa*, sendo constituídos, por *U. decumbens* (25 milhões de ha), (IBGE, 2006).

As plantas podem afetar quimicamente seu ambiente de várias maneiras, como empregar uma "guerra química" para obter vantagem sobre competidores. Tal fenômeno, denominado alelopatia, poderia ser uma das maneiras das plantas garantirem sucesso no estabelecimento (GUREVITCH, 2009). A alelopatia é definida como o efeito inibitório ou benéfico, direto ou indireto, de uma planta sobre outra, via produção de compostos químicos que são liberados no ambiente (RICE, 1984). Na natureza estes compostos podem influenciar o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos circundantes (RAZAVI, 2011), tornando-se um fator ecológico importante na formação das comunidades vegetais. A alelopatia poderá influenciar a germinação, uma vez que os aleloquímicos podem proporcionar estresse oxidativo, atuando nos

855 processos de degradação celular, causando danos em processos fisiológicos e alterando o
856 desenvolvimento inicial das plântulas (ALMEIDA et al., 2008).

857 Maciel et al. (2003) avaliaram os efeitos alelopáticos de *U. decumbens* no
858 desenvolvimento inicial de duas leguminosas, e observaram resultados positivos para
859 alelopatia. Há ainda estudos que indicam a vantagem dessa espécie em liberar fitoquímicos de
860 tecidos mortos, incorporados ao solo através de lixiviação, facilitando seus efeitos no campo,
861 ou ainda a capacidade de *U. decumbens* reduzir drasticamente a quantidade de nitrogênio no
862 solo (SOUZA et al. 1997).

863 Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de atividade
864 alelopática de *Urochloa decumbens* na germinação, crescimento e metabolismo de alface
865 (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*), em bioensaios em laboratório.

866
867 **MATERIAL E MÉTODOS**
868

869 Foram coletados indivíduos adultos (aproximadamente três quilos de matéria fresca) em
870 dezembro de 2012, nos campos da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS ($20^{\circ}25'27''S$
871 e $54^{\circ}41'16''O$). O material coletado (porções aérea e subterrânea) foi fragmentado a $-7^{\circ}C$, para
872 posterior extração através de maceração com etanol absoluto (m/v, 1:2), à temperatura
873 ambiente. Após 7 dias, foi feita filtragem e o material sólido descartado, sendo o solvente
874 evaporado ($\pm 40^{\circ}C$) sob vácuo em evaporador rotativo para obtenção do extrato etanólico bruto
875 (EEB). Para obtenção das frações semipurificadas (FS), o EEB foi fracionado por meio de
876 partição líquido-líquido com solventes de diferentes graus de polaridade, hexano e acetato de
877 etila, em funil de decantação, sendo obtidas as frações hexânica (FH), acetato de etila (FAE) e
878 etanol-água (FEA). O teor de água foi determinado a partir de uma alíquota das frações,
879 submetida à secagem ($100^{\circ}C$), até obtenção de massa constante. Para o preparo das soluções-
880 teste, o EEB e as FS (FH, FAE, FEA) foram pesados, levando-se em consideração o teor de
881 água e dissolvidas em DMSO (Dimetilsulfóxido) a 0,1% (DAYAN et al. 2000), obtendo-se a
882 solução-teste estoque de 1000 mg.L^{-1} ; as concentrações de 500 e 250 mg.L^{-1} foram obtidas por
883 diluição. As soluções-teste foram tamponadas com solução de MES (Ácido 2-
884 morfolinoetanosulfônico) a 10 mM, e o pH foi ajustado para 6,0 com solução de KOH 0,1 N
885 (Macias et al. 2000). As soluções-teste foram ensaiadas com a eudicotiledônea alface (*Lactuca*
886 *sativa* L. cv. Grand rapids) e com a monocotiledônea cebola (*Allium cepa* L. cv. Baia Performe)
887 espécies indicadoras em estudos alelopáticos, devido a sensibilidade a vários aleloquímicos e a
888 resistência das sementes a ampla faixa de pH e potencial osmótico (RICE, 1984).

889 No bioensaio de germinação, foi aplicada a metodologia de Macias et al. (2000). Placas
890 de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro Whatman nº. 1, ambos previamente
891 autoclavados, receberam 5 mL das soluções-teste nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg L⁻¹. Em seguida, foram semeados sobre cada disco de papel filtro 50 diásporos das espécies alvo
893 (alface e cebola), distribuídos aleatoriamente, com 4 repetições para cada solução, conforme
894 Brasil (2009). Como controle, procedimento similar foi utilizado, porém com 5 mL somente de
895 DMSO 0,1% e a solução tampão MES 10nM. As placas de Petri contendo os diásporos foram
896 levadas a uma câmara de germinação (BOD), com condições de luz (160 W m⁻²), umidade
897 relativa ($\pm 80\%$) e temperatura constante, adequada a cada espécie alvo (alface, 25 °C com luz
898 interna constante; cebola, 15 °C e fotoperíodo de 12 h) (BRASIL, 2009). A germinação foi
899 avaliada por meio de contagens diárias para a cebola e a cada 12 horas para alface. Foram
900 consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão radicular com no mínimo 2
901 mm de comprimento. O experimento foi considerado concluído quando não ocorreu
902 germinação por três dias consecutivos (FERREIRA e AQUILA, 2000).

903 No bioensaio de crescimento foi utilizada a metodologia descrita por Macias et al. (2000).
904 Após a germinação, tendo como critério a protrusão radicular de no mínimo 2,0 mm de
905 comprimento, foram selecionadas 80 plântulas (quatro repetições de 20), para cada tratamento,
906 sendo então transferidas para as placas de Petri contendo as soluções-teste, utilizando-se
907 procedimento similar ao descrito nos bioensaios de germinação. Após três dias da protrusão
908 radicular para alface e cinco dias para cebola, foi medido o comprimento da raiz e do
909 hipocótilo/coleóptilo (dez plântulas por placa), utilizando-se papel milimetrado.
910 Posteriormente, essas plântulas foram levadas a estufa a 60°C até peso constante, para obtenção
911 da massa seca.

912 Para a determinação dos teores de clorofila foram macerados 20 mg da parte aérea das
913 plântulas em DMSO 0,1% (Dimetilsulfóxido), sendo posteriormente o macerado deixado em
914 repouso no escuro por 24 horas, a temperatura ambiente. Após este período as absorbâncias das
915 soluções contendo clorofila foram lidas em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda 645
916 e 663 nm e, a partir desses dados, foram calculados os teores de clorofila a, de clorofila b e de
917 clorofila total (ARNON, 1949).

918 A respiração potencial das células radiculares foi estimada por meio da redução do
919 cloridrato de trifeniltetrazólio (TTC) pela atividade da enzima desidrogenase e do surgimento
920 do formasan. Para a avaliação dessa característica as raízes foram cortadas a 1,0 cm a partir da
921 coifa, sendo tomadas as suas massas (20 mg) e em seguida transferidas para tubos de ensaios,
922 onde foram adicionados 3,0 mL de TTC 0,6% (p/v) em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0). Os

923 tubos de ensaios foram mantidos sob vácuo em dessecadores, por duas horas, sendo
924 posteriormente transferidos para banho-maria a 30°C por 15 horas. Ao final desse tempo, as
925 soluções de TTC foram drenadas dos tubos de ensaio e descartadas; em seguida as raízes foram
926 lavadas uma vez com água destilada que posteriormente, também foi drenada ao máximo e
927 descartada. Os tubos de ensaios contendo as raízes foram novamente transferidos para banho-
928 maria com água fervente ($\pm 100^{\circ}\text{C}$), sendo então adicionados 7 mL de etanol 95% (v/v) em
929 cada um deles. Decorridos 10 minutos as soluções etanólicas obtidas foram drenadas para
930 outros tubos de ensaio. Após o resfriamento a temperatura ambiente, cada solução foi acrescida
931 de 10 mL de etanol a 95% (v/v). As absorbâncias dessas soluções etanólicas foram lidas em
932 espectrofotômetro, no comprimento de onda 530 nm e os resultados expressos nos valores da
933 absorbância (STEPPONKUS e LANPHEAR, 1967).

934 Para a avaliação da atividade enzimática, primeiramente as plântulas frescas (1,0 g) foram
935 maceradas em nitrogênio líquido e tampão fosfato de potássio (6,0 mL; 0,2 M; pH 7,0). Em
936 seguida, o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante utilizado como
937 extrato enzimático (ZENG et al., 2001). Para a atividade da peroxidase (POD) uma alíquota de
938 10 μL de extrato foi adicionado em tubos de ensaio contendo 1 mL de tampão fosfato de
939 potássio (0,2 M; pH 7,0); em seguida os tubos foram levados para banho-maria até a
940 estabilização da temperatura a 25°C. Posteriormente, adicionou-se 100 μL de guaiacol (0,5%),
941 100 μL de H_2O_2 (0,08 %) e, imediatamente, efetuou-se as leituras de absorbância em
942 espectrofotômetro na absorbância de 470 nm, com 3 repetições para cada tratamento. A
943 atividade da POD foi calculada usando o coeficiente de extinção de $25,5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o
944 resultado foi expresso em μmoles de tetraguaiacol produzido ($\text{mg de proteína})^{-1}$ (ZENG et al.,
945 2001). Para a avaliação da atividade da catalase (CAT) 100 μL de extrato enzimático foram
946 adicionados a 3,0 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (12,5 mM) em tampão fosfato de
947 potássio (50 mM; pH 7,0), a 30°C. Em seguida foi realizada as leituras da absorbância a 240
948 nm, com 3 repetições para cada tratamento (CAKMAK e MARSCHNER, 1992).

949 Os dados foram submetidos à análise de variância e quando os efeitos dos tratamentos
950 foram significativos, em relação à testemunha, as médias foram comparadas pelo teste de
951 Tukey. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arco seno para a
952 análise estatística. Todos os resultados foram analisados considerando o nível de significância
953 $\alpha = 5\%$.

954
955

RESULTADOS

956 A germinação e o vigor das duas espécies avaliadas (alface e cebola) foram influenciados
957 de forma distinta tanto pela utilização dos diferentes extratos, como pela concentração dos
958 mesmos. As soluções-teste inibiram a germinação de alface e cebola em todas as concentrações
959 ensaiadas, porém, as menores concentrações de FEA e FAE, acarretaram um estímulo na
960 germinação, de ambas as espécies em relação ao controle, embora não significativo (Tabela 1).

961 O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) também sofreu influência distinta para
962 ambas as espécies, onde as concentrações das soluções teste diminuíram de forma gradativa o
963 valor do IVG para alface, com o aumento na concentração, fato que interfere no vigor das
964 sementes. Para cebola observa-se que o EEB foi a única soluções-teste que interferiu no IVG
965 em todas as concentrações, causando redução, ao passo que as soluções das frações FAE e FEA
966 acarretaram aumento do IVG.

967 No crescimento das plântulas,todas as soluções-teste reduziram significativamente o
968 crescimento do hipocótilo/coleóptilo de ambas as espécies alvo, exceto o extrato bruto para
969 alface que não apresentou diferença significativa no comprimento do hipocótilo em relação ao
970 controle. E para cebola a FH, na maior concentração, foi a que causou maior fitotoxicidade no
971 crescimento aéreo (Figura 1).

972 O crescimento da raiz de alface diferiu em todos os testes realizados apresentando menor
973 crescimento, exceto para EEB (Figura 2).

974 A atividade da peroxidase (POD) foi aumentada em todos os testes para ambas espécies;
975 sendo a FEA a solução-teste que causou a maior produção desta enzima nas três concentrações
976 testadas. Em cebola observa-se que o efeito foi dose-dependente, exceto para FH (Figura 2).

977 A atividade de catalase (CAT) apresentou-se de forma distinta para as espécies alvo,
978 porém em alface observa-se uma queda em sua produção nos testes realizados; somente para a
979 FH ocorreu um pequeno aumento na atividade, ao passo que para cebola observa-se aumento
980 da enzima em todos os testes realizados (Figura 2).

981 A produção de clorofila das plântulas de alface foi aumentada na presença do EEB para
982 a maior concentração, e não apresentou diferença significativa para as frações quando
983 comparado ao controle. Para cebola, observa-se um aumento da enzima quando submetida as
984 frações mais polares e nas menores concentrações (Figura 3).

985 A atividade respiratória das células das raízes das plântulas de alface e cebola não sofreu
986 influência quando submetida ao EEB e frações em nenhuma concentração, exceto na FAE em
987 que a alface sofre uma gradativa queda na respiração.

988

989 **DISCUSSÃO**

990 Os bioensaios de germinação com extratos vegetais são ponto de partida para a
991 investigação da alelopatia, embora haja controvérsia em relação a este tipo de experimento
992 (HAMDI et al. 2001). Muitos pesquisadores afirmam que as sementes apresentam menor
993 sensibilidade aos aleloquímicos do que as plântulas devido a processos seletivos e evolutivos
994 (FERREIRA e AQUILA 2000). Porém estudos recentes mostram que, embora a porcentagem
995 final de germinação não seja significativamente afetada pela ação de aleloquímicos, o padrão
996 de germinação pode ser modificado, verificando-se diferenças na velocidade e na sincronia da
997 germinação de sementes (SANTANA et al. 2006). No campo, a interferência da germinação de
998 sementes quimicamente sensíveis a substâncias fitotóxicas liberadas por outros indivíduos,
999 pode diminuir a densidade de certos indivíduos, podendo levar à extinção local dessa espécie,
1000 afetando a biodiversidade local (CALLAWAY et al. 2003).

1001 Assim como a germinação foi influenciada de maneira geral para menor germinabilidade,
1002 o IVG também apresentou queda com o aumento das concentrações nos testes, fato que pode
1003 influenciar na sincronia da germinação e sobrevivência das espécies no campo; pois os
1004 aleloquímicos presentes em uma determinada espécie poderia diminuir a velocidade de
1005 germinação de outras e, se o desenvolvimento das outras espécies é prejudicado, mesmo
1006 germinando, a plântula não consegue vencer as interferências e se instalar, estabelecendo sua
1007 prole (FERREIRA e BORGUETTI, 2004). A redução no vigor das sementes, pode acarretar
1008 em uma perda progressiva da capacidade produtiva, redução na uniformidade da germinação,
1009 indicando maior ou menor probabilidade de sucesso após a semeadura (SANTANA e RANAL,
1010 2006). No presente estudo, observou-se que o IVG das espécies teste foi, de forma geral,
1011 negativamente afetado por *U. decumbens*, sugerindo que esta espécie poderá alterar o padrão
1012 de estabelecimento de outras espécies a campo. Se analisar para as culturas agrícolas, não são
1013 desejados atrasos na germinação das sementes, pois predispõem as sementes por mais tempo
1014 ao ataque de pragas, doenças de solo e herbivoria (CASTAGNARA et al., 2012), podendo
1015 também justificar esse malefícios para as comunidades vegetais naturais. Com a queda da
1016 porcentagem de germinação acompanhando o aumento das concentrações, na maior parte dos
1017 testes, e também com o menor vigor das sementes, pode inferir-se que substância química do
1018 metabolismo secundário presente nas soluções-teste de *U. decumbens* afetam a germinação das
1019 espécies-alvo.

1020 O crescimento da radícula foi pouco influenciado nos tratamentos estudados, sendo que
1021 estudos realizado por Peres, 2004 indicam que a emergência da radícula ocorre às custas de
1022 suas reservas, por isso, acarreta menor sensibilidade à presença de aleloquímicos do que o
1023 crescimento das plântulas.

1024 A atividade das enzimas peroxidase (POD) e catalase (CAT) aumentou em algumas
1025 soluções-teste estudadas, ao passo que em outras houve queda da atividade dessas enzimas.
1026 Alguns aleloquímicos induzem o aumento da atividade de enzimas oxidativas, modificando a
1027 permeabilidade das membranas e a formação de lignina, que contribuem para a redução do
1028 alongamento radicular (FERRARESE et al., 2000). O aumento na atividade da CAT já foi
1029 observado em outros estudos sob a ação de aleloquímicos, onde foi verificado que o ácido
1030 ferulico aumentou a atividade da CAT em plântulas de milho (DEVI e PRASAD, 1996). Os
1031 vegetais constituem a fonte mais abundante para enzimas da classe oxidorredutase. A
1032 peroxidase faz parte deste grupo, atuando na proteção antioxidativa. e ainda catalisando uma
1033 variedade de reações envolvendo transferências de elétrons (CHANCE; MAEHLY, 1955).
1034 Estudos indicam que essas enzimas estão relacionadas aos mecanismos de defesa das plantas
1035 em situações de estresse (ROSSI e LIMA 2001).

1036 Estudos têm demonstrado que os aleloquímicos produzidos por *Secale cereale* L.
1037 reduzem o crescimento radicular de *Cucumis sativus* L., pois causam mudanças nas estruturas
1038 celulares das raízes (BURGOS et al., 2004). O que sugere que os distúrbios nas membranas
1039 celulares resulta em mudanças na permeabilidade das membranas, destruição dos
1040 cloroplastos,mitocôndria, núcleo e retículo endoplasmático. Esses processos fisiológicos
1041 anormais resultam na redução da fotossíntese, contribuindo para a redução do crescimento das
1042 plantas (BURGOS et al., 1994).

1043 Em algumas classes de aleloquímicos a fotossíntese é inibida por induzir mudanças no
1044 conteúdo de clorofila das plantas receptoras (CHOU, 1999). Porém nesse estudo não
1045 observamos a redução de clorofila para as espécie-alvo e sim um aumento na produção de
1046 clorofila em cebola, quando submetidas a FAE.

1047 A atividade respiratória das células das raízes das plântulas de alface sob os tratamentos
1048 foi menor somente quando submetida a FAE nas maiores concentrações ensaiadas. A respiração
1049 celular também pode ser fortemente afetada pela presença de aleloquímicos (RICE, 1984;
1050 CHON et al., 2000) que interferem em várias etapas desse processo em um ou mais níveis, dos
1051 quais dependem as respostas observadas (CHON et al., 2000). Em estudo com compostos
1052 isolados das folhas, da casca dos frutos secos e da casca do tronco de indivíduos do gênero
1053 *Juglans* (Juglandaceae), foi observado redução em até 90% da respiração das raízes de milho,
1054 enquanto o macerado de folhas de artemisia (*Artemisia tridentata* Nutt.) acelerou a respiração
1055 das células radiculares de pepino (DURINGAN e ALMEIDA1993). Logo, a respiração das
1056 células radiculares pode ser aumentada ou diminuída, dependendo da natureza química dos
1057 compostos presentes nos vegetais empregados.

1058 Nos resultados de fitotoxicidade, verificou-se que os extratos de *U. decumbens* inibiram
1059 a germinação, o crescimento do hipocótilo/coleóptilo, bem como estimularam a presença de
1060 enzimas que indicam fatores de estresse de alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*). Os
1061 resultados obtidos evidenciam que os extratos de *U. decumbens* têm ação inibitória sobre as
1062 variáveis do metabolismo analisadas das plantas-alvo, com aumento da atividade de enzimas
1063 antioxidantes o que indica indução do metabolismo de defesa em resposta aos extratos. Todos
1064 esses processos metabólicos são cruciais para o estabelecimento de qualquer planta.

1065

1066

1067

1068

1069

1070

1071

1072

1073

1074

1075

1076

1077

1078

1079

1080 Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), fração hexânica
1081 (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) de *Urochloa decumbens* sobre
1082 o índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) de alface e
1083 cebola.

Tratamento ¹	<i>Brachiaria decumbens</i> Índice de velocidade de germinação (IVG)		
	250 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000 mg.L ⁻¹
Alface; Controle: 66,0			
EEB	47,0	36,0	34,0*
FH	43,5	41,5	39,5
FAE	35,0*	34,5*	26,0*
FEA	56,5	53,5	48,5
Cebola; Controle: 85,0			

EEB	61,5*	59,5*	51,5*
FH	71,0*	68,0*	65,5*
FAE	65,0*	63,5*	68,0*
FEA	64,0*	61,5*	69,0*
Germinabilidade(%)			
Alface; Controle: 60,0			
EEB	23,7*	23,5*	17,0*
FH	32,5	30,5	27,0*
FAE	44,0	39,5	25,0*
FEA	45,0	39,0	37,5
Cebola; Controle: 83,0			
EEB	48,5*	39,5*	35,5*
FH	75,0	67,5	43,0*
FAE	85,0	78,5	75,0
FEA	85,0	78,5	75,5

1084 Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

1085

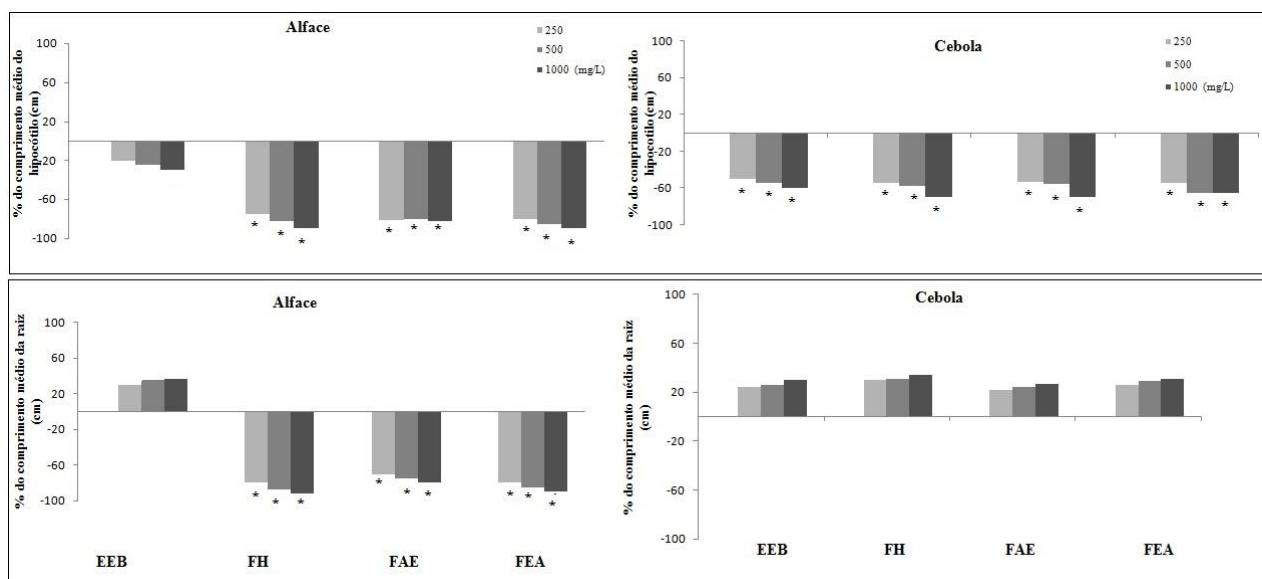
1086

1087

1088

1089

1090



1091

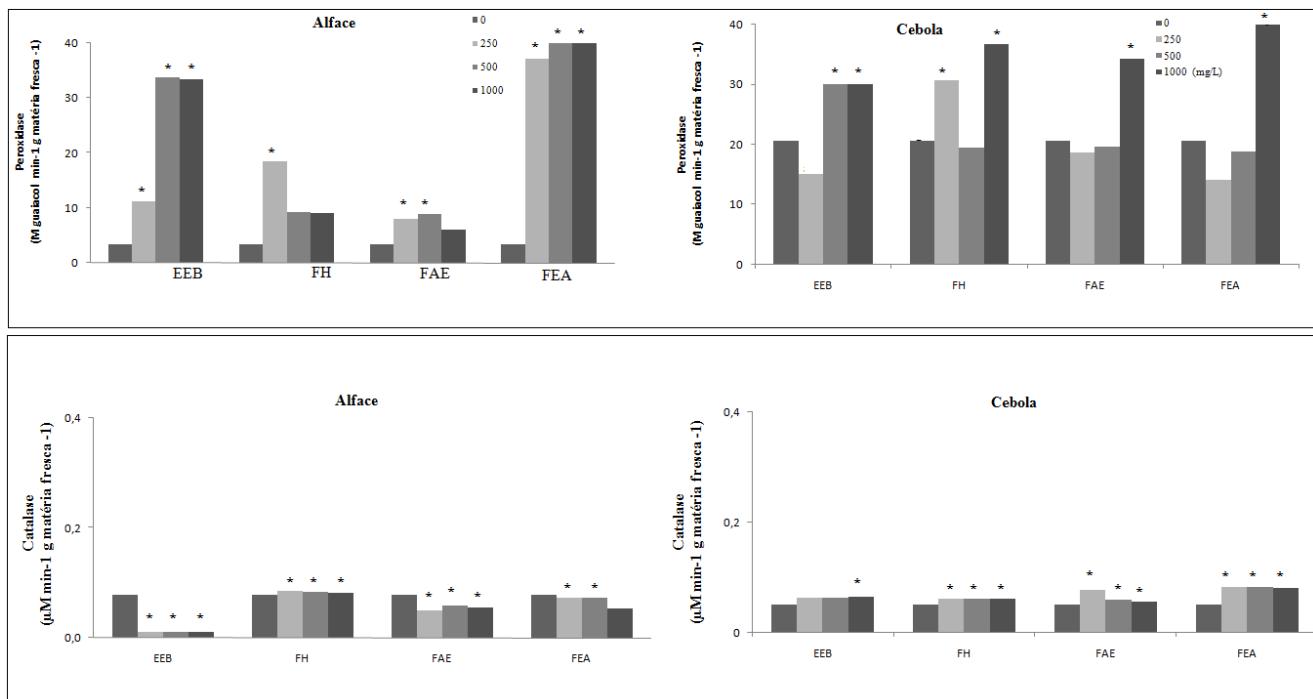
1092

1093 Figura 1. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *U. decumbens* sobre crescimento
1094 do hipocótilo/coleóptilo e raiz das plântulas de alface e cebola (EEB= extrato etanólico bruto;
1095 FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila; FEA= fração etanol água). Dados expressos
1096 em percentual em relação ao controle. * A média do tratamento difere significativamente ($p <$
1097 0,05) em comparação com a média do controle, pelo teste de Tukey.

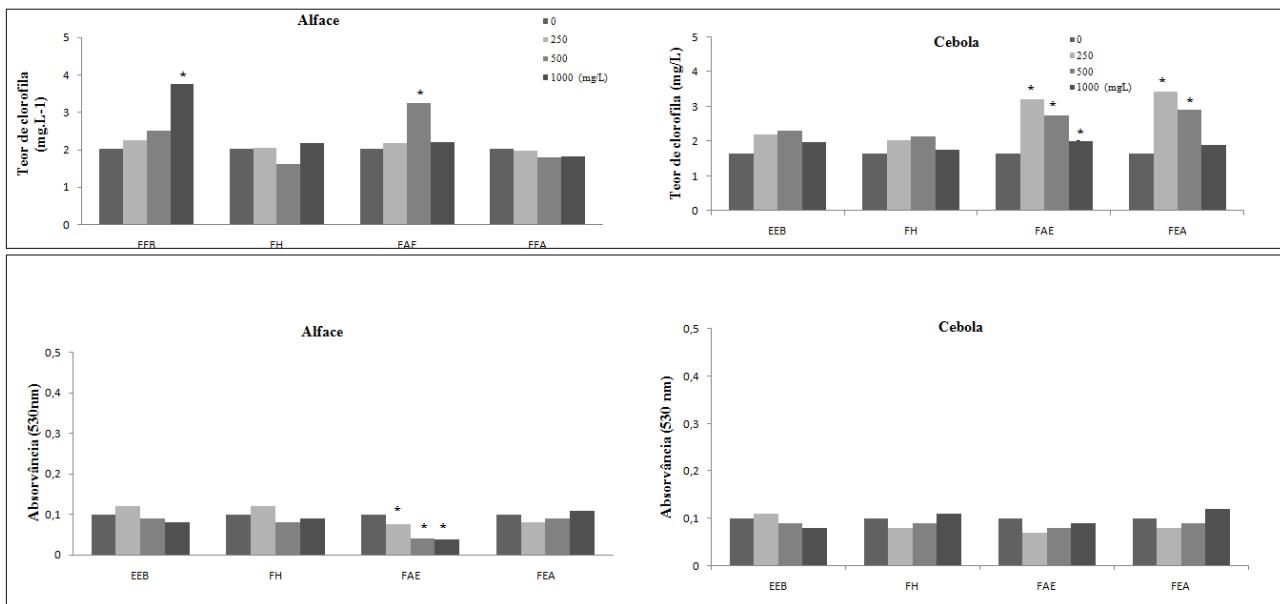
1098

1099

1100
1101
1102
1103
1104
1105
1106
1107



1108
1109 FIGURA 2. Efeito das diferentes concentrações do extrato de *U. decumbens* sobre a atividade
1110 peroxidase e catalase das plântulas de alface e cebola. (EEB= extrato etanólico bruto; FH=
1111 fração hexânica; FAE= fração acetato de etila; FEA= fração etanol água). Dados expressos em
1112 percentual em relação ao controle. * A média do tratamento difere significativamente ($p < 0,05$)
1113 em comparação com a média do controle, pelo teste de Tukey.
1114
1115
1116
1117
1118
1119
1120



1121

1122 FIGURA 3. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *U. decumbens* sobre o teor
 1123 médio de clorofila total na parte aérea e respiração das células das raízes das plântulas de alface
 1124 e cebola. (EEB= extrato etanólico bruto; FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila;
 1125 FEA= fração etanol água). Dados expressos em percentual em relação ao controle. * A média do
 1126 tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste
 1127 de Tukey.

1128

1129

1130

1131

1132

1133

1134

1135

1136

1137

1138

1139

- 1140
1141 **REFERÊNCIAS**
1142
1143 ALMEIDA, G. D. de; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M.
1144 Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de**
1145 **Agronomía**, Medellín, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.
1146
1147 ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.
1148 **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
1149
1150 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para a Análise de Sementes**,
1151 SNDA/DNDU/CLU, Brasília. 2009.
1152
1153 BURGOS, N.R.; TALBERT, R.E.; KIM, K.S.; KUK, Y.I. Growth inhibition and root
1154 ultrastructure of cucumber seedlings exposed to allelochemicals from rye (*Secale cereale*).
1155 **Journal Chemistry Ecology**, v.30, n.3, p.671–689, 2004.
1156
1157 CAKMAK, I.; MARSCHNER, H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance
1158 activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean
1159 leaves. **Plant Physiology**, v.98, p.1222–1227, 1992.
1160
1161
1162 CALLAWAY, R.M.; RIDENOUR, W.M.; LABOSKI, T.; WEIR, T. e VIVANCO, J.M. Natural
1163 selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants. **Journal of Ecology**.p.576-
1164 583, 2005.
1165
1166 CASTAGNARA, D.D.; MEINERZ, C.C.; MULLER, S.F.; HARTMANN, S.M.; PORTZ,
1167 T.M.; OBICI, L.V.; GUIMARÃES, V.F. Potencial alelopático de aveia, feijão guandu, azevém,
1168 e braquiária na germinação de sementes e atividade enzimática do pepino. **Ensaios e Ciência:**
1169 **Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**. v.16, n.2, p. 31-42. 2012.
1170
1171 CHANCE. B. AND A. C. MAEHLY. Assay of catalase and peroxidases. **Methods**
1172 **Enzymology**.v.2, p. 764-775, 1955.
1173
1174 CHON, S.U.; COUTTS, J.H.; NELSON, C.J. Effects of light, growth media and seedling
1175 orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v.92, p. 715-720, 2000.

- 1176
1177 CHOU, C.H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical**
1178 **Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.609-630, 1999.
- 1179
- 1180 DAYAN, F.E.; ROMAGNI, J.G.; DUKE, S.O. Investigating the mode of action of natural
1181 phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n.9, p. 2079-2093, 2000.
- 1182
- 1183 DEVI R.S. & PRASAD M.N.V. Ferulic acid mediated changes in oxidative enzymes of maize
1184 seedlings: implications in growth. **Biological Plants**.v. 38, p.387-395, 1996.
- 1185
- 1186 DURIGAN, J.C.; ALMEIDA, F.L.S. **Noções sobre alelopatia**. Jaboticabal: FUNEP, 1993.
- 1187
- 1188 FERRARESE, M.L.L.; SOUZA, N.E.; RODRIGUES, J.D.; FERRARESE FILHO. Ferulic acid
1189 uptake by soybean root in nutrient culture. **Acta Physiologia e Plantarum**, v. 22, p. 121-124,
1190 2000.
- 1191
1192 FERREIRA, A.G. e AQÜILA, M.E.A. Alelopatia, uma área emergente da ecofisiologia.
1193 **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 12 (edição especial),p.175-204, 2000.
- 1194
- 1195 FERREIRA, A.G. e BORGUETTI F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Ed.
1196 Artmed; 222 p. 2004.
- 1197
1198 GUREVITCH, J.; SCHEINER, S.M.; FOX, G.A. **Ecologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed.
1199 2009.
- 1200
- 1201 HAMDI, A.B. Laboratory bioassays for phytotoxicity: an exemple from wheat straw.
1202 **Agronomy Journal**, p.43-48, 2001.
- 1203
- 1204 IBGE. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf> Acesso em: 10 jan. 2014.
- 1205
1206 KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. SãoPaulo: BASF Brasileira. 825 p. 1997.
- 1207
- 1208 MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; CASTELLANO, D.; VELSACO, R.F. Sesquiterpene
1209 lactones with potencial use as natural herbicides models. 2. Guaianolides. **Journal of**
1210 **Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5288-5296, 2000.

- 1211
1212 MACIEL, C. D. G. et al. Influência do manejo da palhada de capim-braquiária (*Brachiaria*
1213 *decumbens*) sobre o desenvolvimento inicial de soja (*Glycine max*) e amendoim-bravo
1214 (*Euphorbia heterophylla*). **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 365-373, 2003.
1215
1216 PERES, M.T.L.P.; SILVA, L.B.; FACCENDA, O.; HESS, S.C. Potencial alelopático de
1217 espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta Botanica Brasilica**.v.18,n.4, p.723-730. 2004.
1218
1219 RAZAVI, S. M. Plant coumarins as allelophatics agents. **International Journal of Biological
Chemistry**, Pakistan, v. 5, n. 1, p. 86-90, 2011.
1220
1221
1222 RICE, E.L. **Allelopathy**. 2nd. New York: Academic Press, 1984.
1223
1224 ROSSI, C.; LIMA, G.P.P. Cádmio e a atividade de peroxidase durante a germinação de
1225 sementes de feijoeiro. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p.197-199, 2001.
1226
1227 SANTANA, D.G.; RANAL, M.A.; MUSTAFA, C.V. e SILVA, R.M.G. Germination
1228 measurements to evaluate allelopathic interactions. **Allelopathy Journal**.p.43-52. 2006.
1229
1230 STEPONKUS, P.L.; LANPHEAR, F.O. Refinement of the triphenyltetrazoliumchloride method
1231 of determining cold injury. **Plant Physiology**, v. 42, p. 1423-1426, 1967.
1232
1233 ZENG, R.S.; LUO, S.M.; SHI, Y.H.; SHI, M.S.; TU, C.Y. Physiological and Biochemical
1234 Mechanism of Allelopathy of Secalonic Acid F on Higher Plants. **AgronomyJournal**, v. 93, p.
1235 72–79, 2001.
1236
1237
1238
1239
1240
1241
1242
1243
1244
1245
1246

1247 **Capítulo 3**

1248 **Potencial alelopático de duas espécies de *Urochloa* sobre *Guazuma***
1249 ***ulmifolia***

1250 Ana Paula Paniagua de Oliveira¹, Marize Terezinha Lopes Pereira Peres², Valdemir Antônio Laura³

1251

1252 ¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, CEP 79070-900. Campo
1253 Grande, MS, Brasil. ana.op.@hotmail.com

1254 ²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo e Geografia,
1255 CEP 79070-900. Campo Grande, MS, Brasil.

1256 ³Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

1257

1258

1259 **RESUMO**

1260 A inibição do estabelecimento de espécies arbóreas em áreas de pastagem poderia, pelo
1261 menos em parte, ser atribuída à alelopatia, e esta interação pode representar uma limitação por
1262 alterar tanto os padrões de germinação como de crescimento destas espécies. O objetivo deste
1263 trabalho foi avaliar o potencial alelopático de *U. brizantha* e *U. decumbens* na germinação,
1264 crescimento e metabolismo de *Guazuma ulmifolia*. Os biotestes foram feitos para diferentes
1265 concentrações (0, 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹). Os parâmetros avaliados (% de germinação, IVG,
1266 crescimento aéreo e radicular) foram influenciados de maneira distinta e na grande maioria das
1267 vezes de modo dose-dependente, reduzindo o número de sementes germinadas, retardando
1268 germinação, reduzindo o crescimento do hipocôtilo/coleóptilo. Os resultados obtidos sugerem
1269 que *U. brizanthae* *U. decumbens* apresentam potencial alelopático para *G. ulmifolia* em especial
1270 para os parâmetros de germinação, crescimento da parte aérea e radicular, bem como alteraram
1271 o metabolismo, indicando a indução de estresse da espécie arbórea.

1272

1273 **PALAVRAS-CHAVE:** gramínea, atividade biológica, aleloquímicos.

1274

1275 **Allelopathic potential of two species of *Urochloa* on *Guazuma ulmifolia***

1276 **ABSTRACT**

1277

1278 Inhibition of establishment of trees in a grazing areas could, at least in part, be attributed
1279 to allelopathy , and this interaction can represent a limitation by changing the patterns of both
1280 germination and growth of these species. The objective of this study was to evaluate the

1281 allelopathic potential *U. brizantha* and *U. decumbens* on germination, growth and metabolism
1282 *Guazuma ulmifolia*. The bioassays were performed at different concentrations (0, 250, 500 and
1283 1000 mg.l⁻¹). The parameters evaluated (% germination, IVG, shoot and root growth) were
1284 influenced differently and in most cases a dose- dependent manner, reducing the number of
1285 germinated seeds, delaying germination, reducing growth of hypocotyl/coleoptile. The results
1286 suggest that *U. brizantha* e *U. decumbens* present allelopathic potential for *G. ulmifolia*
1287 especially for the parameters of germination, growth of shoots and roots, as well as altered
1288 metabolism, indicating the induction of stress on the tree species.

1289

1290 **KEY- WORDS:** grass, biological activities, allelochemicals

1291

1292 INTRODUÇÃO

1293 Os ecossistemas tropicais têm sido intensamente alterados nas últimas décadas (FAO
1294 1999) e grande parte destas áreas têm sido destinadas à formação de pastagens (CHEUNG et
1295 al., 2010). Muitas destas áreas, contudo, têm sido abandonadas devido à diminuição na
1296 produtividade por exaustão do solo ou mudanças na economia local (HOLL 1998; HOOPER et
1297 al., 2002; FLORENTINE e WESTBROOKE 2004). Após o abandono, áreas intensamente
1298 utilizadas por um longo período normalmente não contemplam mais em seu banco de sementes
1299 espécies-alvo desejáveis, e a recolonização natural tende a ser lenta ou inviável (WAGNER et
1300 al., 2011). Por isso uma reintrodução ativa é normalmente necessária (PYWELL et al., 2007).

1301 Diversos trabalhos têm mostrado a eficácia da utilização de semeadura direta de
1302 espécies arbóreas em projetos de restauração, como técnica de menor custo financeiro e de mais
1303 fácil operacionalização que plantio de mudas (CAMARGO et al., 2002; WOODS e ELLIOTT,
1304 2004; SOVU et al., 2010). Segundo Mattei & Rosenthal (2002), ainda há poucos exemplos de
1305 implantação de florestas por semeadura direta na América Latina, sendo que ainda são
1306 necessários experimentos que avaliem a eficiência dessa técnica em áreas de pastagens
1307 abandonadas (FLORENTINE e WESTBROOKE, 2004) e os fatores que podem influenciar
1308 negativamente a utilização da mesma.

1309 A competição com gramíneas pode inibir o crescimento e a sobrevivência de plântulas
1310 de espécies de árvores em áreas de pastagem, conforme relatado por Griscom et al. (2009),
1311 García-Orth e Martínez-Ramos (2011) e Pereira et al. (2013). No entanto, estes estudos não
1312 determinam ao certo se estes resultados encontrados seriam somente decorrentes da competição
1313 por exploração ou se seriam adicionalmente resultado de competição por interferência. A

1314 competição por interferência, conhecida como alelopatia, ocorre através da produção e
1315 liberação no ambiente de substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas
1316 (aleloquímicos) que são tóxicas para outras espécies. A síntese destas substâncias, oriundas do
1317 metabolismo secundário, pode interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta, desde
1318 a sua germinação (PERES, 2004; BEGON et al., 2007). Assim, a inibição do estabelecimento
1319 de espécies arbóreas em áreas de pastagem poderia, pelo menos em parte, ser atribuída à
1320 alelopatia, e esta interação pode representar uma limitação por alterar tanto os padrões de
1321 germinação como crescimento destas espécies.

1322 Gramíneas africanas do gênero *Urochloa*, amplamente conhecidas com braquiárias,
1323 foram introduzidas no Brasil para fins forrageiros e são amplamente distribuídas pelo país,
1324 tornando-se, inclusive, invasoras de ecossistemas naturais (MATOS e PIVELLO, 2009).
1325 Características do gênero como reprodução vegetativa e por sementes, ciclo reprodutivo rápido,
1326 alta eficiência fotossintética e na utilização de nutrientes e elevadas taxas de crescimento
1327 (LEVINE et al., 2003) o tornam altamente competitivo em relação às espécies arbóreas. Assim,
1328 estudos que avaliem a influência de espécies do gênero *Urochloa* sobre o estabelecimento de
1329 espécies arbóreas são importantes para fornecer informações que subsidiem a re-introdução
1330 destas em pastagens abandonadas. Mais especificamente, em projetos que utilizem a semeadura
1331 direta, seria importante avaliar o potencial alelopático das espécies de gramíneas sobre a
1332 germinação de sementes de árvores.

1333 *Guazuma ulmifolia*, popularmente conhecida como chico-magro ou mutambo, é uma
1334 espécie arbórea com ampla distribuição pela América tropical (CARVALHO, 2007), podendo
1335 ser encontrada em áreas de Cerrado, Mata Atlântica (RIBEIRO e WALTER, 1998; SANTOS
1336 et al., 2005), Floresta Amazônica, Caatinga e Pantanal (CARVALHO, 2007). É uma espécie
1337 pioneira, apresentando crescimento rápido, grande adaptação ao fogo e não é exigente quanto
1338 a solos, habitando tanto sítios secos como úmidos (CARVALHO, 2007). Além disso,
1339 desempenha um importante papel ecológico, pois seus frutos servem de alimento para a fauna
1340 (ALMEIDA et al., 1998; CARVALHO 2007). Por todas essas características é uma espécie
1341 amplamente utilizada em programas de recuperação de áreas degradadas. No entanto, não são
1342 registrados na literatura estudos que enfoquem a germinação e desenvolvimento de plântulas
1343 desta espécie sob a influência de gramíneas do gênero *Urochloa*.

1344 Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de *U. brizantha* e *U.*
1345 *decumbens* na germinação, crescimento e metabolismo de *Guazuma ulmifolia*.

1346 **MATERIAL E MÉTODOS**

1347

1348 Para avaliar o potencial alelopáxico de *U. brizantha* e *U. decumbens* foram coletados
1349 indivíduos adultos das duas espécies (aproximadamente três quilos de matéria fresca (de cada
1350 espécie) em dezembro de 2012, nos campos da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS
1351 (20°25'27"S e 54°41'16"O). O material coletado (porções aérea e subterrânea) foi
1352 fragmentado e acondicionado em saco plástico a -7 °C, para posterior extração através de
1353 maceração com etanol absoluto (m/v, 1:2), à temperatura ambiente. Após 7 dias, foi feita
1354 filtragem e o material sólido descartado, sendo o solvente evaporado (\pm 40 °C) sob vácuo em
1355 evaporador rotativo para obtenção do extrato etanólico bruto (EEB). Para obtenção das frações
1356 semipurificadas (FS), o EEB foi fracionado por meio de partição líquido-líquido com solventes
1357 de diferentes graus de polaridade, hexano e acetato de etila, em funil de decantação, sendo
1358 obtidas as frações hexânica (FH), acetato de etila (FAE) e etanol-água (FEA). O teor de água
1359 foi determinado a partir de uma alíquota do EEB e FS, submetida à secagem (100 °C), até
1360 obtenção de massa constante. Para o preparo das soluções, o EEB e as FS (FH, FAE, FEA)
1361 foram pesados, levando-se em consideração o teor de água e dissolvidas em DMSO
1362 (Dimetilsulfóxido) a 0,1% (DAYAN et al., 2000), obtendo-se a solução estoque de 1000 mg.L⁻¹
1363; as concentrações de 500 e 250 mg.L⁻¹ foram obtidas por diluição. As soluções-teste foram
1364 tamponadas com solução de MES (Ácido 2-morfolinoetanosulfônico) a 10 mM, e o pH foi
1365 ajustado para 6,0 com solução de KOH 0,1 N (MACIAS et al. 2000). As soluções-teste foram
1366 ensaiadas com sementes de *G. ulmifolia*, obtidas pelo viveiro do Instituto Brasileiro de Florestas
1367 (IBF).

1368 As sementes de *G. ulmifolia* foram escarificadas termicamente com água quente a 100°C
1369 por 5 min para a quebra da dormência (CARVALHO, 2007). No bioensaio de germinação, foi
1370 aplicada a metodologia de Macias et al. (2000). Placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo
1371 papel filtro Whatman nº. 1, ambos previamente autoclavados a 100 °C por 24 horas, receberam
1372 5 mL das soluções nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg L⁻¹. Em seguida, foram semeados
1373 sobre cada disco de papel filtro 50 diásporos da espécie alvo, distribuídos aleatoriamente, com
1374 4 repetições para cada solução. Como controle, procedimento similar foi utilizado, porém com
1375 5 ml somente de DMSO a 0,1% e a solução tampão MES. As placas de Petri contendo os
1376 diásporos foram levadas a uma câmara de germinação (BOD), com condições de luz (160 W
1377 m⁻²), umidade relativa (\pm 80%) e temperatura constante (27 °C, com fotoperíodo de 12 h). A
1378 germinação foi avaliada por meio de contagens diárias, sendo consideradas germinadas as
1379 sementes que apresentaram protrusão radicular com no mínimo 2 mm de comprimento. O
1380 experimento foi considerado concluído quando não ocorreu germinação por três dias
1381 consecutivos (FERREIRA e AQUILA, 2000).

1382 Nos bioensaios de crescimento foi utilizada a metodologia descrita por Macias et al.
1383 (2000). Após a germinação, tendo como critério a protrusão radicular de no mínimo 2,0 mm de
1384 comprimento, foram selecionadas 80 plântulas (quatro repetições de 20 plântulas), para cada
1385 tratamento, sendo então transferidas para as placas de Petri contendo as soluções tratamento,
1386 utilizando-se procedimento similar ao descrito nos bioensaios de germinação. Após cinco dias
1387 da protrusão radicular, foi medido o comprimento da raiz e do hipocótilo/coleóptilo (dez
1388 plântulas por placa), utilizando-se papel milimetrado. Posteriormente, essas plântulas foram
1389 levadas a estufa a 60°C até peso constante, para obtenção da massa seca.

1390 Para a determinação dos teores de clorofila foram macerados 20 mg da parte aérea das
1391 plântulas em DMSO 0,1% (Dimetilsulfóxido), sendo posteriormente o macerado deixado em
1392 repouso no escuro por 24 horas, a temperatura ambiente. Após este período as absorbâncias das
1393 soluções contendo clorofila foram lidas em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda 645
1394 e 663 nm e, a partir desses dados, foram calculados os teores de clorofila a, de clorofila b e de
1395 clorofila total (ARNON, 1949).

1396 A respiração potencial das células radiculares foi estimada por meio da redução do
1397 cloridrato de trifeniltetrazólio (TTC) pela atividade da enzima desidrogenase e do surgimento
1398 do formazan. Para a avaliação dessa característica as raízes foram cortadas a 1,0 cm a partir da
1399 coifa, sendo tomadas as suas massas (20 mg) e em seguida transferidas para tubos de ensaios,
1400 onde foram adicionados 3,0 mL de TTC 0,6% (p/v) em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0). Os
1401 tubos de ensaios foram mantidos sob vácuo em dessecadores, por duas horas, sendo
1402 posteriormente transferidos para banho-maria a 30°C por 15 horas. Ao final desse tempo, as
1403 soluções de TTC foram drenadas dos tubos de ensaio e descartadas; em seguida as raízes foram
1404 lavadas uma vez com água destilada que posteriormente, também foi drenada ao máximo e
1405 descartada. Os tubos de ensaios contendo as raízes foram novamente transferidos para banho-
1406 maria com água fervente ($\pm 100^{\circ}\text{C}$), sendo então adicionados 7 mL de etanol 95% (v/v) em
1407 cada um deles. Decorridos 10 minutos as soluções etanólicas obtidas foram drenadas para
1408 outros tubos de ensaio. Após o resfriamento a temperatura ambiente, cada solução foi acrescida
1409 de 10 mL de etanol a 95% (v/v). As absorbâncias dessas soluções etanólicas foram lidas em
1410 espectrofotômetro, no comprimento de onda 530 nm e os resultados expressos nos valores da
1411 absorbância (STEPONKUS e LANPHEAR, 1967).

1412 Para a avaliação da atividade enzimática, primeiramente as plântulas frescas (1,0 g) foram
1413 maceradas em nitrogênio líquido e tampão fosfato de potássio (6,0 mL; 0,2 M; pH 7,0). Em
1414 seguida, o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante utilizado como
1415 extrato enzimático (ZENG et al., 2001). Para a atividade da peroxidase (POD) uma alíquota de

1416 10 μ l de extrato foi adicionado em tubos de ensaio contendo 1 ml de tampão fosfato de potássio
1417 (0,2 M; pH 7,0); em seguida os tubos foram levados para banho-maria até a estabilização da
1418 temperatura a 25°C. Posteriormente, adicionou-se 100 μ L de guaiacol (0,5%), 100 μ L de H₂O₂
1419 (0,08%) e, imediatamente, efetuou-se as leituras de absorbância em espectrofotômetro na
1420 absorbância de 470 nm, com 3 repetições para cada tratamento. A atividade da POD foi
1421 calculada usando o coeficiente de extinção de 25,5 mM⁻¹ cm⁻¹ e o resultado foi expresso em
1422 μ moles de tetraguaiacol produzido (mg de proteína)⁻¹ (ZENG et al., 2001). Para a avaliação da
1423 atividade da catalase (CAT) 100 μ L de extrato enzimático foram adicionados a 3,0 mL de
1424 peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (12,5 mM) em tampão fosfato de potássio (50 mM; pH7,0), a
1425 30°C. Em seguida foi realizada as leituras da absorbância a 240 nm, com três repetições para
1426 cada tratamento (CAKMAK e MARSCHNER, 1992).

1427 Os dados foram submetidos à análise de variância para cada solução e quando os efeitos
1428 dos tratamentos foram significativos, em relação à testemunha, as médias foram comparadas
1429 pelo teste de Tukey. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arco
1430 seno para a análise estatística. Todos os resultados foram analisados considerando o nível de
1431 significância $\alpha = 5\%$.

1432

1433

1434 **RESULTADOS**

1435

1436 As soluções-teste de *U. brizantha* e *U. decumbens* inibiram a germinação de *G. ulmifolia*
1437 de modo dose-dependente.(Tabela 1).O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi
1438 influenciado de forma distinta em relação às duas espécies de gramíneas. As soluções de *U.*
1439 *brizantha* atrasaram a germinação de *G. ulmifolia* em relação ao controle. Ainda, se observou
1440 maior atraso com o aumento da concentração, exceto para a menor concentração do EEB, onde
1441 não houve diferença quando comparado ao controle. Já na presença das soluções de *U.*
1442 *decumbens*, observou-se um atraso na germinação menos acentuado, uma vez que em
1443 concentrações baixas das soluções não houve alteração do IVG, em relação ao controle (Tabela
1444 1).

1445 As duas espécies de gramíneas avaliadas reduziram o crescimento tanto da porção aérea
1446 como da radicular de plântulas de *G. ulmifolia* (Figura 1). Considerando-se a influência de *U.*
1447 *brizantha*, notou-se que com a presença de qualquer solução-teste,independente da
1448 concentração, houve inibição do crescimento aéreo de *G. ulmifolia*. Para *U. decumbens* foi

1449 encontrada uma relação inversamente proporcional, sendo que o aumento da concentração das
1450 soluções utilizadas resultou em uma redução do comprimento do hipocótilo de *G. ulmifolia*
1451 (Figura 1). Este segundo padrão foi semelhante ao encontrado para o crescimento da raiz de
1452 plântulas de *G. ulmifolia* submetidas tanto à soluções de *U. brizantha* como de *U. decumbens*
1453 (Figura 1).

1454 A atividade enzimática da peroxidase (POD) em plântulas de *G. ulmifolia* variou em
1455 função da espécie de *Urochloa* avaliada. Para *U. brizantha*, a produção POD aumentou
1456 significativamente somente nas concentrações mais altas do EEB, FAE e FEA (Figura 2).
1457 Plântulas de *G. ulmifolia* submetidas às soluções *U. decumbens* apresentaram aumento da
1458 atividade da POD somente nas concentrações de 500 e 1000 (mg/L) do EEB. A atividade da
1459 catalase (CAT) não sofreu alteração em nenhum dos testes realizados (Figura 2).

1460 A produção de clorofila em plântulas de *G. ulmifolia* apresentou padrões distintos em
1461 relação às duas espécies de *Urochloa*. Em *U. brizantha* observou-se aumento da produção de
1462 clorofila em todas as soluções ensaiadas, independentemente da concentração avaliada. Em *U.*
1463 *decumbens* observou-se esse aumento somente para o EEB e FEA, sendo que para FAE, nas
1464 maiores concentrações da solução observou-se redução dos teores de clorofila (Figura 3).

1465 A atividade respiratória das células das raízes das plântulas de *G. ulmifolia* foi reduzida
1466 em todas as soluções ensaiadas de *U. brizantha*. Já na presença da *U. decumbens*, com exceção
1467 da fração FH, um aumento na concentração das soluções-teste resultou em aumento da atividade
1468 respiratória das raízes de *G. ulmifolia* (Figura 3).

1469 A massa seca não apresentou diferença em relação ao controle.

1470

1471 **DISCUSSÃO**

1472 Os bioensaios de germinação de sementes na presença de extratos vegetais são pontos de
1473 partida para a investigação de efeitos de alelopatia intra e interespecíficos (HAMDI et al. 2001).
1474 Ambas as espécies de *Urochloa* inibiram a germinação de *G. ulmifolia* (Tabela 1). No campo,
1475 o impedimento da germinação de sementes quimicamente sensíveis a substâncias
1476 alelofitotóxicas pode ter, como consequência, a diminuição da densidade de seus indivíduos o
1477 que, em médio e longo prazos, pode levar à extinção local dessa espécie, com implicações para
1478 a biodiversidade local (LEVIN 1970; CALLAWAY et al., 2003). Assim, a re-introdução de *G.*
1479 *ulmifolia* via semeadura direta em áreas de pastagem deve levar em consideração a densidade
1480 de sementes adequada para sobrepor este primeiro obstáculo oferecido pelas espécies de
1481 gramíneas para a germinação da espécie arbórea.

1482 Estudos recentes mostram que, além da porcentagem final de germinação, o padrão de
1483 germinação, identificado por diferenças tanto na velocidade como na sincronia desse processo,
1484 também pode ser modificado pela ação de aleloquímicos (FERREIRA e BORGUETTI 2004,
1485 SANTANA et al., 2006). Essa alteração também foi encontrada no presente estudo, através da
1486 modificação do IVG de *G. umlifolia* sob a influência das duas gramíneas (Tabela1). O atraso
1487 na germinação, em decorrência do efeito alelopático encontrado, pode resultar na redução da
1488 probabilidade de estabelecimento da espécie em condições de campo, uma vez que submete as
1489 sementes à exposição prolongada a inimigos naturais no solo como fungos (DALLING et al.,
1490 2011) e predadores vertebrados e invertebrados (DOUST et al., 2008), aumentando as chances
1491 de mortalidade dos indivíduos ainda em fase de semente (PEREIRA et al., 2013). Além disto,
1492 os projetos de re-introdução de espécies arbóreas com fins de recuperação ambiental tendem a
1493 ser implantados em épocas com maior disponibilidade hídrica, principalmente em regiões com
1494 déficit hídrico por períodos prolongados. Assim, o atraso na germinação de sementes poderia
1495 ainda acarretar em falha no estabelecimento de plântulas, caso a disponibilidade de água já
1496 tenha se tornado muito reduzida (PEREIRA et al., 2013).

1497 Além das alterações na germinação de sementes, foram detectadas também alterações
1498 no tamanho das plântulas em função da presença das soluções-teste de ambas as espécies de
1499 gramíneas utilizadas. Os resultados obtidos mostraram que as soluções-teste inibiram o
1500 crescimento aéreo e radicular de *G. ulmifolia* (Figuras 1 e 2). Segundo Alves e Santos (2002),
1501 a alteração no comprimento de órgãos da plântula está relacionada à modificação no balanço
1502 hormonal do vegetal. A redução do tamanho de plântulas pode representar um segundo
1503 obstáculo ao estabelecimento de espécies arbóreas em áreas de pastagens, já que plantas
1504 maiores tendem ater vantagens através do acesso mais precoce de água em camadas mais
1505 profundas do solo (LEISHMAN e WESTOBY, 1994) e ser potencialmente melhores
1506 competidoras (HENKIN et al., 1998; WOODS e ELLIOTT, 2004; SCHMIDT, 2008;
1507 LARSON, et al., 2011). Pereira (2012) avaliando o estabelecimento de sete espécies arbóreas
1508 de Cerrado via semeadura direta sob competição com *U. brizantha*, observou que a intensidade
1509 da competição entre as espécies arbóreas e *U. brizantha* foi reduzida após 15 meses da
1510 semeadura. A autora sugere que, após esse período, as raízes das espécies arbóreas superariam
1511 a zona de competição radicular com as gramíneas. Outros estudos com espécies arbóreas
1512 também encontraram o mesmo padrão (GARAU et al., 2009; GUNARATNE et al., 2011).
1513 Assim, o tamanho inicial de plântulas de espécies arbóreas, resultado da interferência
1514 alelopática, pode influenciar a capacidade competitiva de plântulas por recursos no solo,
1515 alterando os padrões de estabelecimento das espécies.

1516 Os vegetais constituem a fonte mais abundante para enzimas da classe oxidorredutase. A
1517 peroxidase faz parte deste grupo, atuando na proteção antioxidativa e, ainda, catalisando uma
1518 variedade de reações envolvendo transferências de elétrons (CHANCE; MAEHLY, 1955).
1519 Segundo Rabinovitch et al. (2004) e Sinsabaugh (2010), a expressão da peroxidase parece ser
1520 uma resposta ao estresse oxidativo e à presença de compostos fenólicos. Estudos indicam que
1521 essas enzimas estão relacionadas aos mecanismos de defesa das plantas em situações de estresse
1522 (ROSSI e LIMA 2001). No presente estudo, detectou-se um aumento da atividade da peroxidase
1523 (POD) em plântulas de *G. ulmifolia* principalmente quando submetidas as altas concentrações
1524 das soluções teste de *U. brizantha* (Figura 3), sugerindo, mais uma vez que esta espécie teria
1525 um maior efeito deletério sobre a espécie arbórea estudada. O aumento da atividade de enzimas
1526 oxidativas, induzido pela ação de aleloquímicos, pode modificar a permeabilidade das
1527 membranas celular e a formação e deposição de lignina, que contribuem para a redução do
1528 alongamento radicular (FERRARESE et al., 2000). Assim, o estresse oxidativo decorrente das
1529 altas concentrações das soluções-teste poderia ser um dos fatores contribuindo para a redução
1530 do tamanho de plântulas constatado no presente estudo (Figura 2)

1531 De maneira geral, a produção de clorofila em *G. ulmifolia* foi estimulada na presença das
1532 soluções teste, exceto para as maiores concentrações de FAE de *U. decumbens*. Como uma
1533 tentativa de aclimatação da espécie, pode-se relacionar o aumento da clorofila, com a sua função
1534 fotoprotetora e captação de energia para a fotossíntese (MARENCO; LOPES, 2005). Já a
1535 diminuição da clorofila mantém a relação ao fato de compostos aleloquímicos interferirem na
1536 fotossíntese, alterando o teor de clorofila envolvendo algumas enzimas, influenciando
1537 negativamente a eficiência de processos fotossintéticos (HUSSAIN; REIGOSA, 2011).

1538 A presença de aleloquímicos pode alterar a respiração celular interferindo em várias
1539 etapas (CHON et al., 2000). Observou-se que as soluções teste de cada espécie atuaram de
1540 forma distinta, onde para *U. brizantha* todos os testes reduziram a taxa de respiração radicular,
1541 e para *U. decumbens* todos os testes apresentaram uma maior taxa de respiração celular
1542 radicular, exceto para FH. Estudos têm demonstrado que os aleloquímicos produzidos por
1543 *Secale cereale* L. reduzem o crescimento radicular de *Cucumis sativus* L., pois causam
1544 mudanças nas estruturas celulares das raízes (BURGOS et al., 2004). Com esses resultados
1545 sugere-se que os distúrbios nas membranas celulares resulta em mudanças na permeabilidade
1546 das membranas, destruição dos cloroplastos,mitocôndria, núcleo e retículo endoplasmático.
1547 Esses processos fisiológicos anormais resultam na redução da fotossíntese, contribuindo para a
1548 redução do crescimento das plantas (SONG et al., 1996).

1549 Os resultados obtidos no presente estudo mostram que os extratos de *U. brizantha* e *U.*
1550 *decumbens* tem ação inibitória sobre o metabolismo de *G. ulmifolia*, afetando tanto a
1551 germinação como o crescimento de plântulas. Verificou-se também aumento da atividade de
1552 enzimas antioxidantes o que indica indução do metabolismo de defesa em resposta aos extratos.
1553 Todos esses processos metabólicos são importantes para o estabelecimento das espécies
1554 vegetais e os dados obtidos neste estudo mostram que as espécies de gramíneas avaliadas
1555 apresentam potencial para restringir a re-introdução de *G. ulmifolia* em áreas de pastagem via
1556 semeadura direta devido à competição por interferência.

1557

1558 **CONCLUSÃO**

1559 Extratos de *U. brizantha* e *U. decumbens* inibem a germinação, o crescimento inicial de
1560 plântulas, bem como alteram o metabolismo de *G. ulmifolia* indicando a indução de estresse da
1561 espécie arbórea.

1562

1563

1564

1565

1566

1567

1568

1569

1570

1571

1572

1573

1574

1575 Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânica
1576 (FH), fração acetato de etila (FAE) e fração etanol-água (FEA) de *U. brizantha* e *U. decumbens*
1577 sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) de
1578 *Guazuma ulmifolia*.

1579

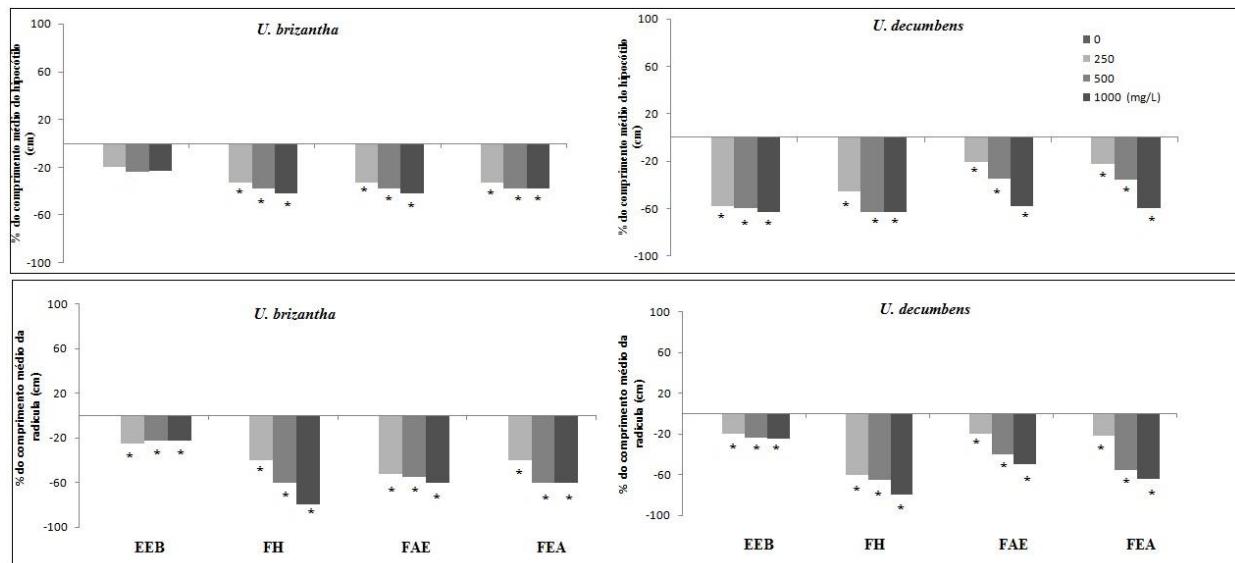
Brachiaria brizantha
Germinabilidade (%)

Brachiaria decumbens
Germinabilidade (%)

Tratamento ¹	250mg.L ⁻¹	500mg.L ⁻¹	1.000mg.L ⁻¹	Tratamento ¹	250mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹	1.000 mg.L ⁻¹
Controle:60,0				Controle: 60,0			
EEB	54,0	38,0*	24,0*	EEB	48,0*	44,0*	14,0*
FH	20,0*	16,0*	10,0*	FH	54,0	46,0*	24,0*
FAE	28,0*	18,0*	8,0*	FAE	54,0	52,0*	28,0*
FEA	34,0*	26,0*	18,0*	FEA	54,0*	44,0*	32,0*
Índice de velocidade de germinação (IVG)				Índice de velocidade de germinação (IVG)			
Controle: 3,06				Controle: 3,06			
EEB	3,26*	2,58*	1,59*	EEB	2,94	2,23*	0,87*
FH	0,88*	0,87*	0,46*	FH	4,20*	3,53*	1,54*
FAE	1,22*	0,94*	0,33*	FAE	3,29	3,06	1,67*
FEA	1,61*	1,58*	0,91*	FEA	3,00	2,60*	1,84*

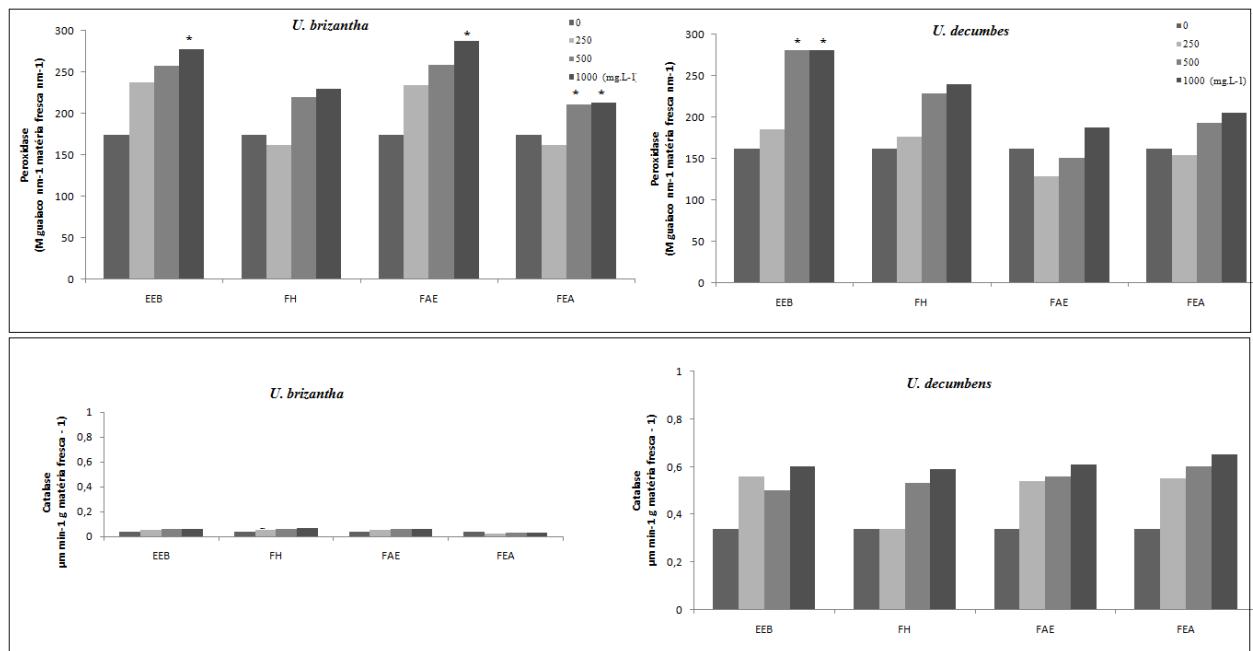
1580 Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

1581
1582
1583
1584
1585
1586
1587
1588
1589
1590
1591
1592
1593
1594
1595
1596
1597
1598
1599
1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607
1608



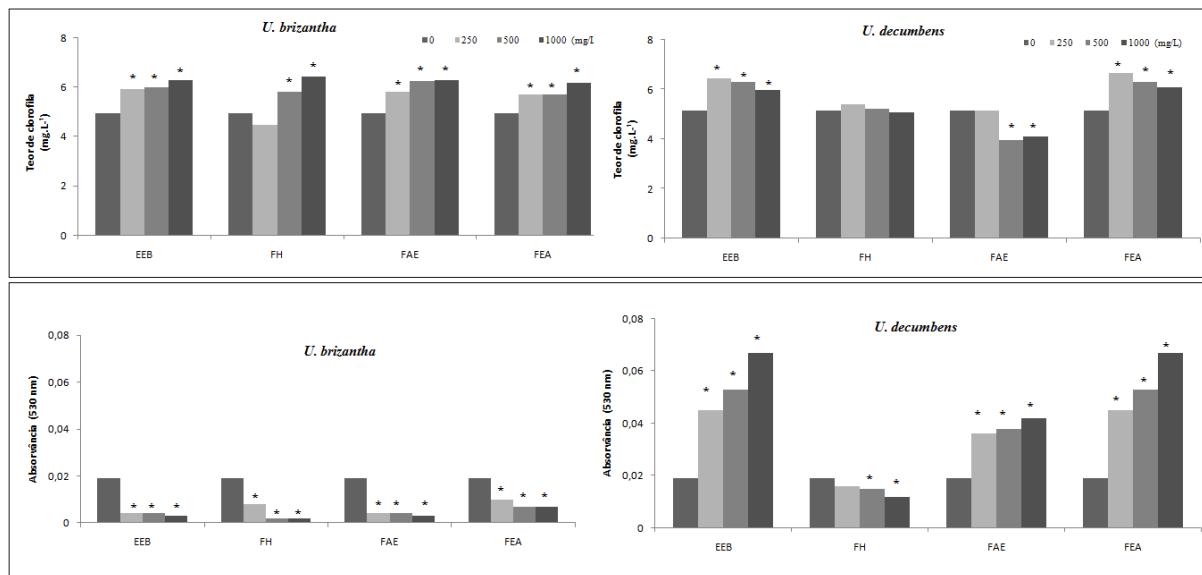
1609
1610
1611
1612 Figura 1. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *Urochloa brizantha* e *Urochloa*
1613 *decumbens* sobre o crescimento do hipocótilo e radícula das plântulas de *Guazuma ulmifolia*
1614 (EEB= espécie extrato bruto; FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila; FEA= fração
1615 etanol água). Dados expressos em percentual em relação ao controle. * A média do tratamento
1616 difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste de
1617 Tukey.

1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628
1629
1630
1631
1632



1633
1634 FIGURA 2. Efeito das diferentes concentrações do extrato de *U. brizantha* e *U. decumbens*
1635 sobre a atividade peroxidase e catalase das plântulas de *Guazuma ulmifolia*. Médias seguidas
1636 da mesma letra do controle não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
1637 (EEB= espécie extrato bruto; FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila; FEA= fração
1638 etanol água).

1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652
1653



1654
1655 FIGURA 3. Efeito das diferentes concentrações dos extratos de *U. brizantha* e *U. decumbens*
1656 sobre o teor médio de clorofila total e respiração celular das raízes das plântulas de *Guazuma*
1657 *ulmifolia*. (EEB= espécie extrato bruto; FH= fração hexânica; FAE= fração acetato de etila;
1658 FEA= fração etanol água). Dados expressos em percentual em relação ao controle. * A média do
1659 tratamento difere significativamente ($p < 0,05$) em comparação com a média do controle, pelo teste
1660 de Tukey.

1661

1662

1663

1664 REFERÊNCIAS

1665

1666 ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts .Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.

1667

Plant Physiology, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.

1668

1669

ALVES, S. M. & SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: SOUZA

1670

FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Ed.). **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**.

1671

Belém: Embrapa Amazônia Oriental. p. 25-47. 2002.

1672

1673

1674

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M. & RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies**

1675

vegetais úteis. Brasília, Embrapa- CPAC, 464 pp. 1998.

1676

1677

BEGON, M., TOWNSEND, C.R. & HARPER, J.L. **Ecologia de Indivíduos a Ecossistemas**

1678

(4^a edição). Ed. Artmed, 2007.

- 1679
1680 BURGOS, N.R.; TALBERT, R.E.; KIM, K.S.; KUK, Y.I. Growth inhibition and root
1681 ultrastructure of cucumber seedlings exposed to allelochemicals from rye (*Secale cereale*).
1682 **Journal Chemistry Ecology**, v.30, n.3, p.671–689, 2004.
1683
1684 CALLAWAY, R.M.; RIDENOUR, W.M.; LABOSKI, T.; WEIR, T. & VIVANCO, J.M. 2005.
1685 Natural selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants. **Journal of**
1686 **Ecology**.v.93, p.576-583. 2005.
1687
1688 CAKMAK, I.; MARSCHNER, H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance
1689 activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean
1690 leaves. **Plant Physiology**, v.98, p.1222–1227, 1992.
1691
1692 CAMARGO, J. L. C., I. D. K. FERRAZ, AND A. M. IMAKAWA. Rehabilitation of degraded
1693 areas of Central Amazonia using direct sowing of forest tree seeds. **Restoration Ecology**. v.10,
1694 p.636-644. 2002.
1695
1696 CARVALHO, P.E.R. Mutamba *Guazuma ulmifolia*. Circular Técnica 141. ISSN 1517-5278.
1697 **Embrapa Florestas**. 2007.
1698
1699 CHANCE, B., MAEHLY, A.C. Assay of catalase and peroxidase. **Methods in Enzymology**,
1700 v. 2, p. 764-775, 1955.
1701
1702 CHEUNG, K. C., D. LIEBSCH, AND M. C. M. MARQUES. Forest recovery in newly
1703 abandoned pastures in Southern Brazil: implications for the Atlantic Rain Forest resilience.
1704 **Natureza e Conservação**.v.8, p.66-70. 2010.
1705
1706 CHON, S.U.; COUTTS, J.H.; NELSON, C.J. Effects of light, growth media and seedling
1707 orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v.92, p. 715-720, 2000.
1708
1709 DALLING, J. W., A. S. DAVIS, B. J. SCHUTTE, AND A. E. ARNOLD. Seed survival in soil:
1710 interacting effects of predation, dormancy and the soil microbial community. **Journal of**
1711 **Ecology**.v.99, p.89-95. 2011.
1712

- 1713 DAYAN, F.E.; ROMAGNI, J.G.; DUKE, S.O. Investigating the mode of action of natural
1714 phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n.9, p. 2079-2093, 2000.
- 1715
- 1716 DOUST, S. J., P. D. ERSKINE, AND D. LAMB. Restoring rainforest species by direct seeding:
1717 Tree seedling establishment and growth performance on degraded land in the wet tropics of
1718 Australia. **Forest Ecology and Management**.v.256, p.1178-1188. 2008.
- 1719
- 1720 FAO. State of the World's Forests. **Food and Agriculture Organization of the United**
1721 **Nations**, Rome. 1999.
- 1722
- 1723 FERRARESE, M.L.L.; SOUZA, N.E.; RODRIGUES, J.D.; FERRARESE FILHO. Ferulic acid
1724 uptake by soybean root in nutrient culture. **Acta Physiologia e Plantarum**, v. 22, p. 121-124,
1725 2000.
- 1726
- 1727 FERREIRA, A.G. & AQÜILA, M.E.A. Alelopatia, uma área emergente da ecofisiologia.
1728 **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.12 (edição especial), p.175-204. 2000.
- 1729
- 1730 FERREIRA AG, BORGUETTI F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Ed.
1731 Artmed; 222 p. 2004.
- 1732
- 1733 GARAU, A. M., C. M. GHERSA, J. H. LEMCOFF, AND J. J. BARAÑAO. Weeds in
1734 *Eucalyptus globulus* subsp. *maidenii* (F. Muell) establishment: effects of competition on sapling
1735 growth and survivorship. **New Forests**.v.37, p.251-264. 2009.
- 1736
- 1737 GARCÍA-ORTH, X., AND M. MARTÍNEZ-RAMOS. Isolated Trees and Grass Removal
1738 Improve Performance of Transplanted *Trema micrantha* (L.) Blume (Ulmaceae) Saplings in
1739 Tropical Pastures. **Restoration Ecology**. v.19, p.24-34. 2011.
- 1740
- 1741 GUNARATNE, A. M. T. A., C. V. S. GUNATILLEKE, I. A. U. N. GUNATILLEKE, H. M.
1742 S. P. MADAWALA WEERASINGHE, AND D. F. R. P. BURSLEM. Release from root
1743 competition promotes tree seedling survival and growth following transplantation into human-
1744 induced grasslands in Sri Lanka. **Forest Ecology and Management**, v.262, p.229-236. 2011.
- 1745

- 1746 GRISCOM, H. P., B. W. GRISCOM, AND M. S. ASHTON. Forest Regeneration from Pasture
1747 in the Dry Tropics of Panama: Effects of Cattle, Exotic Grass, and Forested Riparia.
1748 **Restoration Ecology**.v.17, p.17-126. 2009.
- 1749
- 1750 FLORENTINE, S. K., AND M. E. WESTBROOKE. Restoration on abandoned tropical
1751 pasturelands – do we know enough? **Journal of Nature Conservation**.v.12, p.85-94. 2004.
- 1752
- 1753 HAMDI, A.B. Laboratory bioassays for phytotoxicity: an exemple from wheat straw.
1754 **Agronomy Journal**.43-48. 2001.
- 1755
- 1756 HENKIN, Z., N. G. SELIGMAN, U. KAFKAFI, AND D. PRINZ. End-of-season soil water
1757 depletion in relation to growth of herbaceous vegetation in a sub-humid Mediterranean dwarf-
1758 shrub community on two contrasting soils. **Plant and Soil**.v.202, p.317-326. 1998.
- 1759
- 1760 HOLL, K. D. Effects of above- and below-ground competition of shrubs and grass on
1761 *Calophyllum brasiliense* (Camb.) seedling growth in abandoned tropical pasture. **Forest
1762 Ecology and Management**.v.109, p.187-195. 1998.
- 1763
- 1764 HOOPER, E., R. CONDIT, AND P. LEGENDRE. Responses of 20 native tree species to
1765 reforestation strategies for abandoned farmland in Panama. **Ecological Application**.v.12,
1766 p.1626-1641. 2002.
- 1767
- 1768 HUSSAIN, M. I.; REIGOSA, M. J. Allelochemical stress inhibits growth, leaf water relations,
1769 PSII photochemistry, non-photochemical fluorescence quenching, and heat energy dissipation
1770 in three C3 perennial species. **Journal of Experimental Botany**. Oxford. v. 62, n. 13, p. 453-
1771 4545, 2011.
- 1772
- 1773 LARSON, D. L., J. B. BRIGHT, P. DROBNEY, J. L. LARSON, N. PALAIA, P. A. RABIE,
1774 S. VACEK, D. WELLS. Effects of planting method and seed mix richness on the early stages
1775 of tall grass prairie restoration. **Biological Conservation**.v.144, p.3127-3139. 2011.
- 1776
- 1777 LEISHMAN, M. R., AND M. WESTOBY. The role of seed size in seedling establishment in
1778 dry soil conditions – experimental evidence from semi-arid species. **Journal of Ecology**.v.82,
1779 p.249-258. 1994.

- 1780 LEVIN, S.A. Community equilibria and stability, and an extension of the competitive exclusion
1781 principle. **The American Naturalist**.v.104, p.413-423. 1970.
- 1782
- 1783 LEVINE, J. M. et al. Mechanisms underlying the impacts of exotic plants invasions. **Proc.**
1784 **Royal Soc. London**, v. 270, n. 1517, p. 775-781, 2003.
- 1785
- 1786 MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; CASTELLANO, D.; VELSACO, R.F. Sesquiterpene
1787 lactones with potencial use as natural herbicides models.2. Guaianolides. **Journal of**
1788 **Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5288-5296, 2000.
- 1789
- 1790 MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações**
1791 **hídricas e nutrição mineral**. 2. ed. Viçosa: UFV. 451 p. 2005.
- 1792
- 1793 MATTEI, V. L., AND M. D. ROSENTHAL. Direct seeding of canafístula (*Peltophorum*
1794 *dubium* (Spreng.) Taub.) to regenerate shrubs. **Revista Árvore**.v.26, p.649-654. 2002.
- 1795
- 1796 MATOS, D. M. S.; PIVELLO, V. R. O impacto das plantas invasoras nos recursos naturais de
1797 ambientes terrestres – alguns casos brasileiros. **Ciência Cultura**, v. 61, n. 1, p. 27-30, 2009.
- 1798
- 1799 PEREIRA, S. R.; LAURA, V.A.; SOUZA, A.L.T. Superação de dormência de sementes como
1800 estratégia para restauração florestal de pastagem tropical. **Pesquisa agropecuária brasileira**,
1801 Brasília, v.48, n.2 p. 148-156, 2013.
- 1802
- 1803 PERES, M.T.L.P.; SILVA, L.B.; FACCENDA, O.; HESS, S.C. Potencial alelopático de
1804 espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). **Acta botanica brasiliensis**.v.18, n.4,p.723-730. 2004.
- 1805
- 1806 PYWELL, R. F., J. M. BULLOCK, J. B. TALLOWIN, K. J. WALKER, E. A. WARMAN,
1807 AND G. MASTERS. 2007. Enhancing diversity of species-poor grasslands: an experimental
1808 assessment of multiple constraints. **Journal of Applied Ecology**.v.44, p.81-94.
- 1809
- 1810 RABINOVICH, M.L.; BOLOBOVA, A.V.; VASILCHENKO, L.G. Fungal decomposition of
1811 natural aromatic structures and xenobiotics: A review. Applied. **Biochemistry and**
1812 **Microbiology**,v. 40, p. 1-17, 2004.

- 1813 RIBEIRO, J. F. & WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano, M. S. &
1814 Almeida, S. P. (Org.) **Cerrado: Ambiente e Flora**. Brasília, Embrapa – CPAC, p. 89-166.
1815 1998.
- 1816
- 1817 ROSSI, C.; LIMA, G.P.P. Cádmio e a atividade de peroxidase durante a germinação de
1818 sementes de feijoeiro. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p.197-199, 2001.
- 1819
- 1820 SANTANA, D.G.; RANAL, M.A.; MUSTAFA, C.V. & SILVA, R.M.G. Germination
1821 measurements to evaluate allelopathic interactions. **Allelopathy Journal**.p.43-52. 2006.
- 1822
- 1823 SCHMIDT, L.A review of direct sowing versus planting in tropical afforestation and land
1824 rehabilitation. Development and Environment Series 10-2008. **Forest & Landscape**
1825 **Denmark**. 2008.
- 1826
- 1827 SINSABAUGH, R. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. **Soil**
1828 **Biology and Biochemistry**. v. 42, p. 391-404, 2010.
- 1829
- 1830 SONG, F.M.; ZHENG, Z.; CHUN, G.X. Role of active oxygen and membrane lipid
1831 peroxidation in plant-pathogen interactions. **Plant Physiol. Commun.**, v.32, n.5, p.377-385,
1832 1996.
- 1833
- 1834 SOVU, P. S., M. TIGABU, AND P. C. ODÉN. Restoration of Former Grazing Lands in the
1835 Highlands of Laos Using Direct Seeding of Four Native Tree Species. **Mountain Research**
1836 **and Development**.v.30, p.232-243. 2010.
- 1837
- 1838 STEPONKUS, P.L.; LANPHEAR, F.O. Refinement of the triphenyltetrazoliumchloride method
1839 of determining cold injury. **Plant Physiology**, v. 42, p. 1423-1426, 1967.
- 1840
- 1841 WAGNER, M., R. F. PYWELL, T. KNOPP, J. M. BULLOCK, AND M. S. HEARD. The
1842 germination niches of grassland species targeted for restoration: effects of seed pre-treatments.
1843 **Seed Science Research**.v.21, p.117-131. 2011.
- 1844
- 1845 WOODS, K., AND S. ELLIOTT. Direct seeding for forest restoration on abandoned agricultural
1846 land in northern Thailand. **Journal of Tropical Forest Science**. v.16, p.248-259. 2004.

1847

1848 ZENG, R.S.; LUO, S.M.; SHI, Y.H.; SHI, M.S.; TU, C.Y. Physiological and Biochemical
1849 Mechanism of Allelopathy of Secalonic Acid F on Higher Plants. **Agronomy Journal**, v. 93,
1850 p. 72–79, 2001.

1851

1852

1853

1854

1855

1856

1857

1858

1859

1860

1861

1862

1863

1864

1865

1866

1867

1868

1869

1870

1871

1872

1873

1874

1875

1876

1877

1878 **NORMAS PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS**

1879

Revista Árvore

1880 - O conteúdo e as opiniões apresentadas nos trabalhos publicados não são de responsabilidade
1881 desta revista e não representam necessariamente as opiniões da Sociedade de Investigações
1882 Florestais (SIF), sendo o autor do artigo responsável pelo conteúdo científico do mesmo.

1883 - Ao submeter um artigo, o(s) autor(es) deve(m) concordar(em) que seu copyright seja
1884 transferido à Sociedade de Investigações Florestais - SIF, se e quando o artigo for aceito para
1885 publicação.

1886 Primeira Etapa (exigida para submissão do Manuscrito)

1887 Submeter os artigos somente em formatos compatíveis com Microsoft-Word. O sistema aceita
1888 arquivos até 10MB de tamanho.

1889 O Manuscrito deverá apresentar as seguintes características: espaço 1,5; papel A4 (210 x 297
1890 mm), enumerando-se todas as páginas e as linhas do texto, páginas com margens superior,
1891 inferior, esquerda e direita de 2,5 cm; fonte Times New Roman 12; e conter no máximo 16
1892 laudas, incluindo tabelas e figuras. Tabelas e figuras devem ser limitadas a 5 no conjunto.

1893 Na primeira página deverá conter o título do manuscrito, o resumo e as três (3) Palavras-Chaves.

1894 Não se menciona os nomes dos autores e o rodapé com as informações, para evitar a
1895 identificação dos mesmos pelos avaliadores.

1896 Nos Manuscritos em português, os títulos de tabelas e figuras deverão ser escritos também em
1897 inglês; e Manuscritos em espanhol ou em inglês, os títulos de tabelas e figuras deverão ser
1898 escritos também em português. As tabelas e as figuras devem ser apresentadas ao final do texto,
1899 numeradas com algarismos arábicos consecutivos junto as legendas, e sua localização
1900 aproximada deve ser indicada no texto com uma chamada entre dois parágrafos: Entra Figura
1901 1; Entra Tabela 3. Os títulos das figuras deverão aparecer na sua parte inferior antecedidos da
1902 palavra Figura mais o seu número de ordem. Os títulos das tabelas deverão aparecer na parte
1903 superior e antecedidos da palavra tabela seguida do seu número de ordem. Na figura, a fonte
1904 (Fonte:) deve aparecer na parte superior, na tabela, na parte inferior. As figuras deverão estar
1905 exclusivamente em tons de cinza e, no caso de coloridas, será cobrada a importância de
1906 R\$100,00/página, para versão impressa.

1907 **Forma dos manuscritos**

1908 **O Manuscrito em PORTUGUÊS deverá seguir a seguinte sequência:**

1909 TÍTULO em português; RESUMO (seguido de Palavras-chave não incluindo palavras do
1910 título); TÍTULO em inglês; ABSTRACT (seguido de Keywords não incluindo palavras do
1911 título); 1. INTRODUÇÃO (incluindo revisão de literatura e o objetivo); 2. MATERIAL E
1912 MÉTODOS; 3. RESULTADOS; 4. DISCUSSÃO; 5. CONCLUSÃO; 6.
1913 AGRADECIMENTOS (se for o caso) e 7. REFERÊNCIAS (alinhadas à esquerda e somente as
1914 citadas no texto).

1915 **O manuscrito em INGLÊS deverá obedecer à seguinte sequência:**

1916 TÍTULO em inglês; ABSTRACT (seguido de Keywords não incluindo palavras do título);
1917 TÍTULO em português; RESUMO (seguido de Palavras-chave não incluindo palavras do
1918 título); 1. INTRODUCTION (incluindo revisão de literatura e o objetivo); 2. MATERIAL
1919 AND METHODS, 3. RESULTS; 4. DISCUSSION; 5. CONCLUSION; 6.
1920 ACKNOWLEDGEMENT (se for o caso) e 7. REFERENCES (alinhadas à esquerda e somente
1921 as citadas no texto).

1922 **O manuscrito em ESPANHOL deverá obedecer à seguinte sequência:**

1923 TÍTULO em espanhol; RESUMEN (seguido de Palabras-clave não incluindo palavras do
1924 título); TÍTULO do manuscrito em Português; RESUMO em Português (seguido de palavras-
1925 chave não incluindo palavras do título); 1. INTRODUCCIÓN (incluindo revisão de literatura e
1926 objetivo); 2. MATERIALES Y METODOS; 3. RESULTADOS; 4. DISCUSIÓN; 5.
1927 CONCLUSIÓN; 6. RECONOCIMIENTO (se for o caso) e 7. REFERENCIAS (alinhadas à
1928 esquerda e somente as citadas no texto).

1929 No caso das línguas estrangeiras, será necessária a declaração de revisão lingüística de um
1930 especialista.

1931 Os subtítulos, quando se fizerem necessários, serão escritos com letras iniciais maiúsculas,
1932 antecedidos de dois números arábicos colocados em posição de início de parágrafo.

1933 No texto, a citação de referências bibliográficas deverá ser feita da seguinte forma: colocar o
1934 sobrenome do autor citado com apenas a primeira letra maiúscula, seguido do ano entre
1935 parênteses, quando o autor fizer parte do texto. Quando o autor não fizer parte do texto, colocar,

1936 entre parênteses, o sobrenome, em maiúsculas, seguido do ano separado por vírgula. As
1937 referências bibliográficas utilizadas deverão ser preferencialmente de periódicos nacionais ou
1938 internacionais de níveis A/B do Qualis. A Revista Árvore adota as normas vigentes da ABNT
1939 2002 - NBR 6023.

1940 Não se usa "et al." em itálico e o "&" deverá ser substituído pelo "e" entre os autores.

1941 A Introdução deve ser curta, definindo o problema estudado, sintetizando sua importância e
1942 destacando as lacunas do conhecimento ("estado da arte") que serão abordadas no artigo. Os
1943 Métodos empregados a população estudada, a fonte de dados e critérios de seleção, dentre
1944 outros, devem ser descritos de forma comprehensiva e completa, mas sem prolixidade. A seção
1945 de Resultados devem se limitar a descrever os resultados encontrados sem incluir
1946 interpretações/comparações. O texto deve complementar e não repetir o que está descrito em
1947 tabelas e figuras. A Discussão deve começar apreciando as limitações do estudo (quando for o
1948 caso), seguida da comparação com a literatura e da interpretação dos autores, extraíndo as
1949 conclusões e indicando os caminhos para novas pesquisas. O resumo deverá ser do tipo
1950 informativo, expondo os pontos relevantes do texto relacionados com os objetivos, a
1951 metodologia, os resultados e as conclusões, devendo ser compostos de uma seqüência corrente
1952 de frases e conter, no máximo, 250 palavras. (ABNT-6028).

1953 Para submeter um Manuscrito à Revista, o(s) autor(es) deverá(ão) entrar no site
1954 <www.revistaarvore.ufv.br> e clicar no link "**Submissão de Artigos**".

1955 **Copyright**

1956 *Ao submeter um artigo, o(s) autor(es) deve(m) concordar(em) que seu copyright seja
1957 transferido à Sociedade de Investigações Florestais - SIF, se e quando o artigo for aceito
1958 para publicação.*

1959 *O conteúdo e as opiniões apresentadas nos trabalhos publicados não são de responsabilidade
1960 desta revista e não representam necessariamente as opiniões da Sociedade de Investigações
1961 Florestais (SIF), sendo o autor do artigo responsável pelo conteúdo científico do mesmo.*