

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E  
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

Erly Carlos Porto

Estresse oxidativo mediado por extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L. durante a  
fase de germinação e desenvolvimento de  
*Phaseolus vulgaris* L.

CASCAVEL-PR

Fevereiro - 2018

Erlly Carlos Porto

Estresse oxidativo mediado por extrato aquoso de *Bauhinia forficata* Link  
durante a fase de germinação e desenvolvimento de

*Phaseolus vulgaris* L.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Profa. Dra. Andréa Maria Teixeira Fortes.

Co-orientador: Profa. Dra. Jaqueline Malagutti Corsato.

CASCAVEL-PR

Fevereiro - 2018

Dedico este trabalho aos meus pais Eryl (*in memorian*) e Rejane, por tudo que fizeram por mim. Desejo poder ter sido merecedor do esforço dedicado por vocês em todos os aspectos, especialmente minha formação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de alguma forma, me apoiaram e deram forças para a realização deste trabalho. Em especial:

À minha orientadora e segunda mãe, professora Andrea Maria Teixeira fortes, que desde a iniciação científica me acolheu dentro do laboratório. Obrigado, principalmente pela paciência comigo, pelos seus ensinamentos, compressão, confiança, amizade e sobretudo por me proporcionar crescimento profissional e pessoal.

À minha co-orientadora e amiga, Jaqueline Malagutti Corsato, que me aguentou nos momentos que mais precisei. Obrigado pela sua paciência, pelos ensinamentos e por sempre estar ao meu lado e por acreditar em mim.

À Ivone, que sempre salvou quando mais precisamos, sempre paciente e disposta a ajudar. Obrigado por ser essa pessoa maravilhosa.

Ao Assis Roberto, que me ajudou nas coletas, pelos ensinamentos que não estão em livros ou bibliografias. Grande abraço.

Aos meus amigos do Laboratório de Fisiologia vegetal; Thais, Maiara, Vand, Ezequiel, Guilherme, Henrique Gabi e Ana Paula. Obrigado pela ajuda e pelo companheirismo nos momentos de luta.

À coordenação do programa de Conservação, Marcia e professor Vladimir.

Ao CNPq (conselho Nacional de Desenvolvimento científica e tecnológico) pela concessão da bolsa.

## SUMÁRIO

Resumo.....	i
Abstract .....	ii
CAPÍTULO 1: Resposta do sistema antioxidante e fisiologia da germinação de sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. sob ação de extrato aquoso de <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	1
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO.....	3
MATERIAL E MÉTODOS.....	4
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
REFERÊNCIAS.....	14
ANEXO I.....	19
CAPÍTULO 2: Desempenho fisiológico e sistema antioxidantes de plântulas submetidas ao extrato aquoso de <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	28
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	44
ANEXO II.....	50

Estresse oxidativo mediado por extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L. durante a fase de germinação e desenvolvimento de *Phaseolus vulgaris* L.

## RESUMO

As espécies vegetais podem interagir entre si por meio da produção e liberação de compostos químicos liberados no ambiente, tal evento é conhecido como alelopatia. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi investigar a ação alelopática e o estresse oxidativo do extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L. sobre sementes de *Phaseolus vulgaris*, durante o processo de germinação e desenvolvimento das plântulas. Para isso, foram avaliados o comportamento germinativo, o índice de atividade alelopática, o crescimento inicial e a atividade de enzimas antioxidantes em diferentes tempos de embebição das sementes, no cotilédone (tecido de reserva) e no eixo embrionário e plântulas, para a parte aérea e raiz da espécie alvo. Os resultados indicaram que durante a fase de germinação houve interferência negativa dos extratos de *B. forficata* sobre as sementes para as variáveis: germinação, índice de velocidade e tempo médio de germinação, como também para o índice de atividade alelopática. Em relação a atividade enzimática, foi verificado uma alta atividade das enzimas no início da embebição das sementes, entre 3 e 6 horas para o cotilédone e elevada atividade no eixo embrionário ao final do processo germinativo, entre 12 e 24 horas de embebição. O aumento das proporções de extrato das folhas de *B. forficata* afetaram as atividades enzimáticas no processo germinativo das sementes de feijão resultando um atraso da germinação. Já para a fase de desenvolvimento, houve redução do comprimento médio e massa seca da raiz conforme o aumento das proporções de extrato utilizados. Os níveis de peroxidação lipídica tanto para parte aérea e raiz foram elevados, assim como a atividade da enzima catalase para as raízes também foi elevado quando submetidos aos tratamentos com a presença do extrato. Desta forma, o aumento das proporções de extrato de *B. forficata* L. afetou negativamente o desenvolvimento inicial, sendo o alongamento da raiz primária mais sensível, provocando danos acentuados as membranas das raízes de plântulas de feijão.

Palavras-chave: Alelopatia, enzimas antioxidantes, germinação.

Oxidative stress mediated by aqueous extract of *Bauhinia forficata* L. during a germination and development phase of *Phaseolus vulgaris* L.

ABSTRACT

Plant species can interact with each other through the production and release of chemical compounds released into the environment, such an event is known as allelopathy. The objective of the present study was to investigate the allelopathic action and oxidative stress of the aqueous extract of *Bauhinia forficata* L. on seeds during the germination process and seedlings during the *Phaseolus vulgaris* development phase. The germination behavior, allelopathic activity index, initial growth and activity of antioxidant enzymes were studied at different times of seed imbibition, in the cotyledon (reserve tissue) and in the embryonic axis and seedlings, for aerial part and root target species. The results indicated that during the germination phase there was negative interference of *B. forficata* extracts on the seeds for germination, speed index and mean germination time, as well as the allelopathic activity index. In relation to the enzymatic activity, a high enzyme activity was observed at the beginning of seed imbibition, between 3 and 6 hours for the cotyledon and high activity in the embryonic axis at the end of the germination process, between 12 and 24 hours of imbibition. The increase of the extract proportions of the leaves of *B. forficata* affected the enzymatic activities in the germination process of the bean seeds, resulting in a delay of the germination. As for the development phase, there was reduction of the average length and dry mass of the root as the proportion of extract used increased. the levels of lipid peroxidation for both shoot and root were high, as well as the activity of the catalase enzyme for the roots was also elevated when submitted to the treatments with the presence of the extract. Thus, the increase in the proportion of *B. forficata* extract negatively affected the initial development, being the primary root elongation more sensitive, causing severe damage to the membranes of the bean seedlings roots.

Keywords: allelopathy, antioxidant enzymes, Germination



## CAPITULO 1

**Resposta do sistema antioxidante e fisiologia da germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. sob ação de extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L.**

O artigo segue as normas da revista  
*Fronteiras: Journal of social, Technological  
and Environmental Science* citada em anexo I  
do capítulo 1.

**Resposta do sistema antioxidante e fisiologia da germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. sob ação de extrato aquoso de *Bauhinia forficata* Link.**

Erly C. Porto\*, Jaqueline M. Corsato e Andrea M. T. Fortes.

*Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Cascavel, Paraná, Brasil.*

*\*E-mail: erly.carlos@gmail.com*

**Resumo**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes proporções de extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L. sobre o processo fisiológico germinativo e a atividade enzimática de sementes de feijão no decorrer da germinação. Os tratamentos foram compostos pelas proporções 0 (água); 2.5; 5; 7.5 e 10% (folhas secas da *B. forficata*) e pelas horas de embebição das sementes. O delineamento foi inteiramente casualizado com fator duplo. Foram avaliados a germinação, o índice de velocidade de germinação, o tempo médio de germinação, o índice alelopático (RI), a atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e peroxidase. O índice de velocidade e o tempo médio de germinação como também o índice alelopático foram afetados negativamente conforme o aumento das proporções de extrato testadas. Observamos que nos cotilédones das sementes de feijão o início da embebição apresentou atividade das enzimas avaliadas superiores aos valores encontrados no final do processo germinativo, enquanto que no eixo embrionário os maiores valores foram verificados no final do processo germinativo. O aumento das proporções de extrato das folhas de *B. forficata* afetaram as atividades enzimáticas no processo germinativo das sementes de feijão resultando em um atraso da germinação.

**Palavras-chave:** alelopatia, enzimas antioxidantes, germinação

**Abstract**

The aim of the present work was evaluated in the effect of different proportions of aqueous extract of *Bauhinia forficata* L. on the physiological germination process and an enzymatic activity of bean seeds without germination solution. The treatments were composed of (water) proportions; 2.5; 5; 7.5 and 10% (dried leaves of *B. forficata*). There is a germination, rate of

germination, mean germination time, allelopathic index (RI), enzyme activity superoxide dismutase, catalase and peroxidase. The velocity index and the mean germination time as well as the allelopathic index were negatively affected as the extract ratios tested increased. There was high activity of the enzymes at the beginning of the seed imbibition between 3 and 6 hours for cotyledone activity and high, and no germination at the end of the germination process, between 12 and 24 hours of imbibition. The increase of the extract proportions of the leaves of *B. forficata* affected the enzymatic activities in the germination process of the bean seeds resulting in a delay of the germination.

**Keywords:** allelopathy, antioxidant enzymes, Germination

## **Introdução**

A alelopatia é um fenômeno químico biológico, pois seus produtos são metabolitos químicos produzidos por plantas ou microorganismos durante o crescimento, desenvolvimento e distribuição desses organismos nas comunidades naturais ou em sistemas agrícolas. A maioria dos aleloquímicos são produtos do metabolismo secundário das plantas (Rezende et al. 2003; Blanco 2007; Cheng e Cheng, 2015). Os compostos alelopáticos se originam direta ou indiretamente no meio ambiente por meio da exsudação das raízes, lixiviação, volatilização e decomposição da planta doadora (Ferreira e Aquila 2000).

Esses compostos bioquímicos por sua vez, podem estimular ou inibir o crescimento e o desenvolvimento de sistemas biológicos ao seu redor. A interação alelopática pode ser um dos fatores que contribuem para a distribuição e abundância de espécies dentro de comunidades (Reigosa et al. 1999; Cheng e Cheng 2015). Os mecanismos de ação dos aleloquímicos pode afetar processos vitais de outras plantas, como a germinação, respiração, fotossíntese, atividade enzimática, divisão e alongamento celular, visto que muitos desses processos ocorrem em função do estresse oxidativo (Blanco 2007).

O processo de germinação de uma semente se caracteriza pela reativação do seu metabolismo, que tem início com a entrada da água e finaliza com a protrusão da raiz primária, esse processo de reativação do metabolismo fisiológico da semente, gera uma grande quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Cruz-Ortega et al. 2002; Bewley et al. 2013). O acúmulo dessas EROs, mediado pela presença de aleloquímicos podem levar a danos no crescimento e desenvolvimento dos vegetais (Gniazdowska et al. 2015). Estudos de Gniazdowska e Bogatek (2005) e Cruz-Ortega et al. (2007) relatam que, a ação de compostos

aleloquímicos desencadeiam o aumento da produção de radicais livres causando assim diversos danos celulares.

Segundo Gniazdowska e Bogatek (2005) e Barbosa et al. (2014), a alta taxa de espécies reativas nas células vegetais ativa um sistema de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a peroxidase (POD), tais enzimas atuam para manter a homeostase dessas EROs nas células, evitando assim que ocorra danos ao crescimento e desenvolvimento da planta que em muitas vezes podem levar a morte celular (Alscher et al. 2002; Almeida et al. 2008).

Conhecida popularmente como pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* L), **essa espécie é indicada** para recuperação de áreas degradadas, por apresentar uma rápida germinação e suportar inundações de curto prazo. (Lorenzi 2002).

Alguns estudos com a espécie *Bauhinia forficata* L. já demonstraram interferência negativa, de compostos alelopáticos encontrados no seu extrato (Manoel et al. 2009; Meira et al. 2016).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a ação do extrato aquoso das folhas de *B. forficata* L. sob a resposta do sistema antioxidante e a fisiologia das sementes de *Phaseolus vulgaris* L. nas diferentes fases do processo de germinação.

## **Material e Métodos**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste *Campus* Cascavel – PR, no período de novembro de 2016 a abril de 2017.

Para a avaliação do efeito do extrato de *B. forficata* sobre a germinação e a atividade enzimática, utilizou-se sementes de feijão (*P. vulgaris* L.) cultivar IAC Milênio, adquiridas de um produtor rural local (25°05'19.9" S, 53°19'33.8" W) em Cascavel, Paraná, Brasil. A escolha pela espécie do feijão se deu pelo fato de ser uma semente já padronizada pela literatura e pela facilidade para separação do tecido de reserva e eixo embrionário. As sementes de feijão foram submetidas a assepsia durante 10 minutos em solução de água destilada com detergente (5 gotas para cada 100ml de água destilada), segundo Brasil (2009).

## **Coleta das folhas**

As folhas de *Bauhinia forficata*, foram colhidas em dezembro de 2016, período em que se encontram em pré-floração, no período da manhã, em área de vegetação nativa do Parque Nacional do Iguaçu, próximo ao município de Lindoeste – PR (25°18'38.6" S, 53°38'01.6" W). As excisatas da *B. forficata* foram depositadas no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNOP), campus Cascavel, sob número 2360.

Após a coleta, folhas foram secas em estufa com ventilação forçada de ar à temperatura de  $40 \pm 2$  °C até obter-se a massa seca estável. Em seguida a matéria seca foi triturada em moinho de facas do tipo Willey®, para a obtenção do pó, armazenado em frascos de vidro envoltos por papel alumínio para evitar foto-oxidação.

### **Preparação do Extrato**

O extrato foi obtido a partir do pó das folhas trituradas de *B. forficata*, foi utilizado as proporções de 25; 50; 75 e 100g de pó para 1000 mL de água destilada, relação peso/volume (g mL<sup>-1</sup>). A mistura foi homogeneizada por cerca de 1 minuto, em seguida foi deixada em repouso por 4 horas à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), no escuro (Carvalho et al. 2012).

Posteriormente, o extrato foi filtrado em um pano de algodão, obtendo-se o extrato nas proporções de 2.5%; 5%; 7.5% e 10%, esses 4 tratamentos com extratos de *B. forficata* e mais um, composto apenas por água destilada (0%), totalizando 5 tratamentos.

O potencial hidrogeniônico (pH) de todas as proporções do extrato aquoso utilizado foi medido com pHmetro Micronal B474. Foi determinado também o potencial osmótico, adaptado de Villela et al. (1991), utilizando concentrações conhecidas de Polietileno glicol (PEG 6000), em que foi determinado os valores de Brix de refração em refratômetro de bancada, a partir destas leituras foi ajustada uma reta de regressão linear que possibilitou estimar o potencial osmótico das proporções do extrato, a partir dos valores de Brix, adaptado de Daneluzzi et al. (2014).

### **Germinação**

Para o teste de germinação, foram utilizados os 5 tratamentos citados acima. As sementes de *P. vulgaris* foram dispostas em papel Germitest, previamente autoclavados, 50 sementes por repetição, sendo 4 repetições dentro de cada tratamento e posteriormente umedecido com os extratos na proporção de 2,5 vezes o peso do papel Germitest® seco (Brasil 2009). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com fator único de

cinco níveis, correspondentes as proporções (0; 2.5; 5; 7.5 e 10%) do extrato aquoso de *B. forficata*, com 4 repetições de 50 sementes de *P. vulgaris* cada.

Os experimentos foram mantidos em câmara de germinação tipo B.O.D a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) (Brasil, 2009). A contagem do teste de germinação foi realizada diariamente, considerando como germinada as sementes que apresentaram 2 mm de raiz primária, a leitura foi realizada até a estabilização da germinação, totalizando sete dias após a semeadura (Laboriau, 1983).

Para as análises de germinação foram analisadas as variáveis: Porcentagem de germinação (Brasil, 2009), índice de velocidade de germinação (IVG) segundo Silva e Nakagawa (1995) e tempo médio de germinação (TMG) conforme Edmond e Drapala (1958). O índice de resposta a efeitos alelopáticos (*RI*) foi calculado de acordo com Gao et al. (2009), pela seguinte equação:  $RI = 1 - C/T$  ( $T \geq C$ ) ou  $RI = T/C - 1$  ( $T < C$ ); em que: C = velocidade de germinação do controle (ou testemunha) e T = velocidade de germinação do tratamento.

### **Atividade enzimática**

Para a análise da atividade enzimática foram utilizados os 5 tratamentos dos extratos citados acima e foram determinados 5 pontos de coleta: 3, 6, 9, 12 e 24 horas após a embebição das sementes, com base na curva de embebição das sementes de *P. vulgaris* (Silva et al. 2014).

Foram dispostas 50 sementes de *P. vulgaris* em papel germitest, previamente autoclavados a  $121^\circ \text{C}$ , 20 minutos, 50 sementes por repetição, sendo 4 repetições dentro de cada tratamento de extrato e cada tratamento de horas de embebição. O delineamento experimental para análise da atividade enzimática, foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, em esquema fatorial 5x5, com um dos fatores constituído pelas cinco proporções (0%; 2.5%; 5%; 7.5% e 10%) do extrato aquoso de *B. forficata*, o outro fator, pelos cinco tempos após a embebição (3; 6; 9; 12 e 24h). Totalizando assim 25 tratamentos com 4 repetições cada.

O papel Germitest utilizado como substrato foi umedecido com os extratos na proporção de 2.5 vezes o peso do papel seco. Foi realizada a quantificação da atividade enzimática tanto para o tecido de reserva (cotilédone) das sementes, quanto para o eixo embrionário.

Assim, foram macerados em gral e pistilo com nitrogênio líquido, 50 mg do material vegetal contendo polivinilpirrolidona (PVPP) 1% em solução de tampão fosfato de potássio

0.1 mol L<sup>-1</sup> pH 6.8. O homogenato foi centrifugado a 12.000 rpm por 30 minutos a 4 ° C. A quantificação de proteínas totais foi realizada de acordo com Bradford (1976), para a determinação da atividade específica das enzimas.

A análise da atividade específica das enzimas antioxidantes foram: superóxido dismutase (SOD) adaptado de acordo com Beuchamp e Fridovich (1971), em U/mg de proteína; Catalase (CAT) adaptado conforme Azevedo et al. (1998), em nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumido min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> proteína; Peroxidase (POD) adaptado de acordo com Teisseire e Guy (2000), em μmol de purpurogalina min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

Os dados que não atenderam as suposições associadas ao modelo estatístico de normalidade e homocedasticidade, como a atividade enzimática da peroxidase do tecido de reserva (cotilédone) foram transformados em ( $\sqrt{x+0.5}$ ), atendendo posteriormente as suposições associadas ao modelo estatístico.

Em seguida, foi realizado a análise de regressão para as análises fisiológicas (IVG e TMG) por meio do ajuste de modelos simples e polinomiais (de segunda a quarta ordem). Já os testes bioquímicos (atividade enzimática) foram comparados pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram geradas pelo software livre R studio 3.2.2.

## **Resultados e Discussão**

### **Resultados fisiológicos**

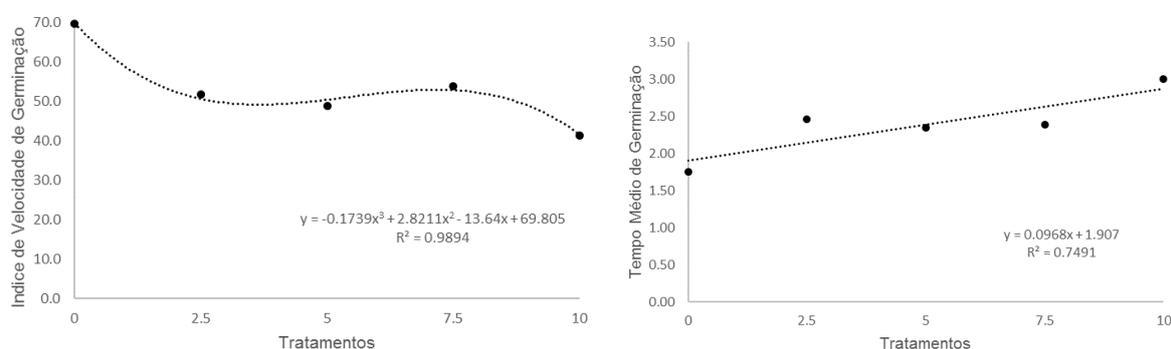
A caracterização dos tratamentos de extrato aquoso quanto ao pH e potencial osmótico apresentaram valores dentro dos parâmetros indicados para a germinação de *P. vulgaris*. Os valores obtidos para o pH, variaram de 6.22 a 7.7. Segundo Ferreira e Aquila (2000), apenas valores muito extremos, ácidos ou alcalinos podem interferir no processo de germinação com efeitos prejudiciais.

Para os valores dos potenciais osmóticos, estes variaram de -0.0142 a -0.003 MPa. Segundo Viçosi et al. (2017), as sementes de feijão apresentam redução de germinação e comprimento de radícula a -0.6 MPa. Os extratos aquosos podem conter determinadas substâncias que podem alterar a propriedade da água, diferindo da pressão osmótica de zero na

solução podendo mascarar os efeitos alelopáticos dos extratos, sendo osmoticamente ativos (Carvalho et al. 2014). O que não ocorreu no presente trabalho.

Para a variável porcentagem de germinação os valores obtidos indicaram que os tratamentos não diferiram entre si, obtendo-se 100% de germinação das sementes. Resultados semelhantes foram verificados em trabalhos realizados com a *B. unguolata* L. e *B. forficata* sobre a germinação de sementes de alface, cebola e tomate, os quais também não identificaram interferência na porcentagem de germinação, do extrato dessas espécies sobre as sementes utilizadas (Manoel et al. 2009; Paula et al. 2015).

Alguns efeitos alelopáticos podem ser mais evidentes durante a distribuição temporal da germinação e no retardo do tempo médio da germinação das sementes (Ferreira e Aquila, 2000). Neste contexto, para as variáveis índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) obtivemos resultados que indicam uma maior ação alelopática dos extratos, verificadas nas proporções 5 e 10% para o IVG e 10% para o TMG, possivelmente, devido a maior proporção de compostos nos extratos das folhas secas de *B. forficata* (Tabela 1).



**Figura 1:** Índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) das sementes de *Phaseolus vulgaris*, submetidas a diferentes proporções do extrato aquoso de *B. forficata*.

O IVG das sementes de *P. vulgaris*, apresentou tendência a uma menor velocidade de germinação nos extratos 5 e 10%, com IVG de 48,86 e 41,42 respectivamente, sendo menor que o tratamento 0%, o qual apresentou um IVG de 69,55 (Figura 1).

De modo semelhante, Manoel et al. (2009), observaram que o extrato seco de folhas de *B. forficata* também atrasou a velocidade média da germinação de sementes de tomate, essa redução foi maior conforme o aumento das concentrações utilizadas. Alguns autores afirmam

que o índice de velocidade de germinação é o indicador fisiológico mais sensível aos efeitos alelopáticos, comparados com a porcentagem de germinação, visto que, o IVG identifica esses efeitos ao longo da germinação, e não somente ao final dela (Wardle et al. 1991; Souza Filho et al. 1996; Rizzardi et al. 2008).

Com relação ao tempo médio de germinação (TMG), observamos que, com o aumento das proporções de extrato testadas houve também um aumento no tempo médio de germinação das sementes de *P. vulgaris*, fato este que, confirma os dados obtidos no IVG, uma vez que são inversamente proporcionais. Verificamos que as sementes do tratamento 10% apresentaram maior TMG, levando em média três dias para germinar, 1.5 vezes a mais do que o tratamento 0%, que apresentou 1.75 dias.

O nível de inibição dos compostos aleloquímicos é dependente da sua proporção dentro das diluições do extrato, quando em baixas proporções, as substâncias alelopáticas podem não interferir na germinação de outras espécies, enquanto que em altas proporções, muitas vezes, exercem ação inibitória (Harper & Balke 1981; Rice 1984).

Esses resultados corroboram com o verificado por Maraschin-Silva e Aquila (2006), que obtiveram o tempo médio de germinação prolongado de aquênios de alface submetidas ao extrato aquoso de 4% de *Peltophorum dubium*, uma Fabaceae assim como *B. forficata*, porém sem efeito na porcentagem de germinação. Da mesma forma, Manoel et al. (2009) observaram que extratos de *B. forficata* não interferiram na porcentagem de germinação das sementes de tomate, porém houve aumento significativo no tempo médio de germinação quando submetidas aos extratos.

Quanto ao índice de resposta ao efeito alelopático (RI), observamos que as sementes de feijão apresentaram valores negativos para todas as proporções de extrato, indicando que o extrato de *B. forficata* exerceu forte efeito inibitório sobre o processo de germinação (Tabela 1). Da mesma forma, Meira et al. (2016), trabalhando com *Cajanus cajan*, uma leguminosa assim como *B. forficata*, observou valores negativos para as proporções de extratos utilizadas.

### **Atividade enzimática nos cotilédones**

Observamos que a atividade da SOD nos cotilédones de *P. vulgaris*, foi elevada para os tratamentos 0%, com 6 horas de embebição (5.12 U/mg de proteína), e 5% em 3 horas de embebição (4.68 U/mg de proteína), seguido de uma redução nesses mesmos tratamentos a partir de 9 e 6 horas, respectivamente (Tabela 2). Já para os intervalos de embebição,

verificamos que houve diferença significativa para as diferentes proporções do extrato testadas apenas para 6, 9 e 24 horas. Observamos que a atividade da SOD com 9 horas na presença do extrato 2,5% dobrou em relação a testemunha, e houve uma redução na atividade dessa enzima com 6 e 24 horas para o extrato 5% (Tabela 2).

**Tabela 1:** Atividade enzimática dos cotilédones das sementes de *P. vulgaris* L. em 3,6,9,12 e 24 horas de embebição, submetidas as diferentes proporções de extrato aquoso de *B. forficata* L.

<b>SOD (U/mg de proteína)</b>						
Tratamentos	3h	6h	9h	12h	24h	
0%	3.82 aB	5.12 aA	2.42 bB	3.40 aB	3.54 aB	
2.5%	3.85 aA	3.73 aA	4.89 aA	2.84 aA	3.38 aA	
5%	4.68 aA	2.93 bB	2.84 bB	3.15 aB	1.61 bB	
7.5%	3.22 aA	4.07 aA	2.65 bA	2.66 aA	4.36 aA	
10%	2.88 aA	2.25 bA	3.02 bA	2.97 aA	3.39 aA	
CV(%)	31.55					
<b>CAT (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína)</b>						
0%	108.44 aA	6.73 aB	4.11 aB	6.36 aB	16.25 aB	
2.5%	104.38 aA	6.34 aB	5.93 aB	5.02 aB	5.76 aB	
5%	121.96 aA	4.10 aB	3.87 aB	3.65 aB	3.36 aB	
7.5%	17.00 bA	4.74 aA	3.94 aA	2.79 aA	7.99 aA	
10%	11.74 bA	3.39 aA	32.49 aA	2.56 aA	10.35 aA	
CV(%)	49.88					
<b>POD (μmol de purpurogalina min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína)</b>						Média
0%	0.106	0.096	0.034	0.099	0.110	0.0895 a
2.5%	0.136	0.076	0.062	0.080	0.142	0.0998 a
5%	0.108	0.082	0.130	0.098	0.131	0.1105 a
7.5%	0.088	0.066	0.060	0.065	0.129	0.0823 a
10%	0.082	0.039	0.061	0.074	0.075	0.0668 a
Média	0.1045 A	0.0723 B	0.0701 B	0.0839 B	0.1181 A	
CV(%)	3,88					

\*Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ). C.V: coeficiente de variação.

Para a atividade da CAT nos cotilédones das sementes de *P. vulgaris*, verificamos uma atividade a partir de 6 horas de embebição, tanto para a testemunha (0%) quanto para os extratos nas proporções 2,5 e 5%. Quando analisada a atividade dessa enzima nos períodos embebição, observamos que, apenas com 3 horas de embebição houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo que as proporções 7.5 e 10% reduziram em 10 vezes a atividade da enzima (Tabela 1).

A atividade da POD não apresentou interação entre os fatores proporções de extrato e horas de embebição, porém a média para o fator horas de embebição indicou que independente da proporção de extrato utilizada, após 6, 9 e 12 horas de embebição ocorre uma redução na atividade específica dessa enzima, seguida de um aumento com 24 horas de embebição (Tabela 1).

Segundo Gniazdownska et al. (2015), nas primeiras horas de embebição, com a reativação da cadeia de transporte de elétrons da respiração na presença dos extratos utilizados, estes, podem ter estimulado em uma maior atividade da SOD. Assim como a SOD, a CAT também acompanhou a alta atividade enzimática ao começo do processo germinativo no cotilédone, em 3 e 6 horas. Segundo Alscher et al. (2002) a enzima superóxido dismutase atua na primeira linha de defesa para conter os radicais livres, transformando o  $O_2^-$  em  $H_2O_2$ , que por sua vez são transformados em água e oxigênio molecular pela POD e CAT.

Desta forma o atraso da atividade da peroxidase, pode ser devido ao mecanismo compensatório sugerido por Apel e Hirt (2014), por exemplo, quando a atividade da catalase é alta, outras enzimas são expressas em menores quantidades. Tal fato é observado em nossos resultados, com a alta atividade da catalase em 6 e 9 horas de embebição e apenas com 24 horas de embebição é observado alta atividade da peroxidase.

Os cotilédones das sementes de *P. vulgaris* atuam como tecido de reserva e a presença dos extratos de *B. forficata* gera uma desordem metabólica nesse tecido, devido às alterações observadas na atividade do sistema antioxidante já nas primeiras horas de embebição (Tabela 2). Segundo Lara-Nuñez et al. (2009) essa desordem, pode refletir na velocidade de mobilização das reservas para o eixo embrionário, resultando em um atraso do tempo médio e índice de velocidade de germinação (Figura 1), assim como os resultados obtidos por Porto et al. (2018, dados não publicados), em que as proporções do extrato de *B. forficata* atrasaram a degradação de açúcares solúveis totais, também comprometendo a distribuição temporal da germinação.

### **Atividade enzimática do eixo embrionário**

Na avaliação da atividade específica da SOD para o eixo embrionário das sementes de *P. vulgaris*, verificamos que de modo geral a atividade desta enzima é elevada com 24 horas de embebição. A presença do extrato na proporção de 5% promoveu um aumento na atividade da SOD já com 9 horas de embebição. Na análise do desdobramento dentro das horas de embebição, observamos que, com 3 horas o extrato das folhas de *B. forficata* na proporção de 2,5% aumenta a atividade da SOD, com 9 e 12 horas o aumento é observado na proporção de

5%, enquanto que com 24 horas de embebição, este mesmo comportamento é observado com o extrato nas proporções de 2,5 e 7,5% (Tabela 2).

**Tabela 2:** Atividade enzimática (SOD, CAT e POD) do eixo embrionário das sementes de *P. vulgaris* L. em 3, 6, 9, 12 e 24 horas de embebição, submetidas as diferentes proporções de extrato aquoso de *B. forficata* L.

<b>SOD (U/mg de proteína)</b>					
Tratamentos	3h	6h	9h	12h	24h
0%	1.46 bB	0.86 aB	1.10 bB	1.74 bA	2.26 bA
2.5%	2.03 aB	1.09 aC	1.32 bC	1.91 bB	3.10 aA
5%	1.04 bC	1.02 aC	2.92 aA	2.95 aA	2.31 bB
7.5%	1.17 bC	1.12 aC	0.93 bC	2.00 bB	3.23 aA
10%	1.35 bB	0.55 aC	0.82 bC	2.73 aA	2.61 bA
CV(%)	24.44				
<b>CAT (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína)</b>					
0%	1.34 aB	1.14 aB	0.98 aB	1.90 bA	1.44 cB
2.5%	0.87 bB	1.02 aB	0.72 bB	0.90 dB	1.95 bA
5%	0.73 bB	1.11 aB	1.00 aB	2.94 aA	1.02 cB
7.5%	1.45 aA	0.73 aB	0.51 bB	1.48 cA	1.92 bA
10%	0.43 bC	0.71 aC	1.44 aB	1.35 cB	3.31 aA
CV(%)	26.27				
<b>POD (μmol de purpurogalina min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína)</b>					
0%	0.08 aA	0.03 aB	0.03 bB	0.06 aA	0.09 bA
2.5%	0.09 aB	0.04 aC	0.05 bC	0.06 aC	0.12 aA
5%	0.05 bB	0.05 aB	0.08 aA	0.07 aA	0.06 cB
7.5%	0.04 bC	0.04 aC	0.05 bC	0.08 aB	0.12 aA
10%	0.06 bB	0.03 aC	0.05 bB	0.07 aB	0.10 bA
CV(%)	25.33				

\*Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade (p<0.05). C.V: coeficiente de variação.

A atividade da catalase no eixo embrionário foi significativa entre os fatores estudados. O eixo embrionário submetido às proporções 2,5 e 10% apresentaram as maiores atividades da catalase apenas com 24 horas de embebição (Tabela 2), enquanto que na presença das proporções 5% a atividade dessa enzima foi elevada com 12 horas e na proporção 7,5% com 3, 12 e 24 horas de embebição. Dentro do intervalo de horas de embebição, observamos que com 3 horas os extratos na proporção 2,5; 5 e 10% reduziram a atividade da CAT e com 9 horas de embebição essa mesma redução ocorreu com os extratos 2,5 e 7,5%. Com 12 e 24 horas a presença do extrato aquoso na proporção de 5 e 10%, respectivamente, aumentaram a atividade da CAT (Tabela 2).

Para a peroxidase, observamos que, no eixo embrionário os extratos de *B. forficata* na proporção 2,5, 7,5 e 10% aumentam a atividade dessa enzima com 24 horas de embebição, enquanto o extrato na proporção de 5% esse aumento é verificado com 9 e 12 horas (Tabela 2). Com a análise das horas de embebição, verificamos que, com 3 horas a atividade da POD é reduzida a partir da proporção 5%, enquanto que com 9 horas, a atividade dessa enzima aumenta na presença do extrato a 5% e com 24 horas o aumento é observado com os extratos na proporção de 2,5 e 7,5%.

Os resultados da atividade enzimática do embrião evidenciam que ocorreu uma maior atividade das enzimas, de maneira geral, no período de 9 a 24 horas de embebição. Possivelmente, uma alta atividade verificada nesse intervalo de horas, pode ser devido ao aumento na absorção de água pelo eixo embrionário dessas sementes, como foi observado no trabalho de Silva et al. (2014), em que o eixo embrionário aumenta 100g/kg de água, no intervalo de 6 para 9 horas de embebição.

As atividades enzimáticas ao final do processo germinativo evidenciam uma tentativa de minimizar os danos causados pela presença dos extratos, visto que na presença deles a atividade foi mais elevada. Resultados do estudo de Ribeiro et al. (2017), também identificaram em sementes de *Cucumis sativus* submetidas a extratos de *Leucaena leucocephala*, alta atividade da catalase com 24 horas de embebição, porém nos tratamentos de menor proporção. Entretanto, os autores não observaram redução na porcentagem de germinação, e sim aumento do tempo médio de germinação e baixo índice de velocidade de germinação, assim como nos nossos resultados.

Observamos que a atividade da POD foi alta com 24 horas de embebição, para todos os tratamentos testados, exceto o 5%. Uma vez que a atividade da peroxidase, através do seu ciclo de eliminação, gera a radical hidroxila, esta, responsável pela quebra das ligações covalentes entre os polissacarídeos de parede celular (Schopfer 2001). Tal evento pode estar relacionado com o direcionamento do metabolismo para o alongamento celular (Quiroga et al. 2000).

Dessa forma, concluímos que a alteração da atividade da POD no eixo embrionário de *P. vulgaris*, serve como um indicativo da protrusão da raiz primária na germinação, visto que a baixa quantidade de  $H_2O_2$  permite o afrouxamento da parede celular em eudicotiledôneas (Passardi et al. 2005).

Ao verificarmos em conjunto o padrão de atividade enzimática, nas sementes de feijão (cotilédone e eixo embrionário) observamos que, na fase inicial do processo germinativo ocorre

um maior dano de membrana e conseqüentemente uma elevada atividade das enzimas, possivelmente tal evento esteja associado ao fato de estar ocorrendo no tecido de reserva a mobilização das reservas energéticas necessárias durante a germinação.

Ao quantificar as atividades para o eixo embrionário, verificamos que a atividade das enzimas foi mais elevada ao final do processo possivelmente, devido ao processo de alongamento celular, com destaque para a atuação da SOD e POD.

### **Conclusão**

Os resultados do presente estudo apontam que, possivelmente o extrato aquoso de *B. forficata* apresenta atividade alelopática, devido ao índice negativo de resposta alelopática e também retardando a germinação das sementes de feijão, devido ao estresse oxidativo gerado pela presença do extrato, onde foi observado pela atividade das enzimas.

### **Referências**

- Almeida GD, Zucoloto M, Zetun MC, Coelho I, Sobreir FM 2008. Oxidative stress in vegetable cells mediated by allelochemicals. *Rev Fac Nac de Agro Medellín* 61(1):4237-4247.
- Alscher RG, Erturk N, Heath LS 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp Bot* 53:1331–1341.
- Apel K, Hirt H 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev of Plant Biol* 55:373–399.
- Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea PJ 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiol Plant*. 104:280-292.
- Barborsa MR, Sailva MMA, Willadino L, Ulisses C, Camara TR 2014. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural* 44(3):453-460.
- Brasil 2009. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa, 399 pp.
- Bradford MM 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254.

Beauchamp C, Fridovich I 1971. Superoxide dismutase improved as says and as say applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 44:276-287.

Bohm PAF, Zanardo FML, Ferrarese MLL, Ferrarese OF 2006. Peroxidase activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone. *Biol plant* 50(2):315-317.

Bewley JD, Bradford K, Hilhorst H, Nonogaki H 2013. *Seeds Physiology of development and germination* vol. III. Springer-Verlag, New York, 392 pp.

Blanco JA 2007. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. *Ecolo model.* 109:65-67.

Carpanezi AA, Carpanezi OTB 2006. *Espécies Nativas Recomendadas para Recuperação Ambiental no Estado do Paraná, em Solos Não Degradados*. Vol. I Colombo: Embrapa Florestas, 57 pp.

Carvalho WP, Carvalho GJ, Neto DDOA, Teixeira LGV 2014. Allelopathy of green manures extracts on germination and initial growth of the lettuce. *Biosc J*, 30(3):1-11.

Cheng, F. Cheng Z. 2015. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. *Front Plant Sci.* 6:1020.

Cruz-Ortega R, Ayala-Cordero G, Anaya AL. 2002. Allelochemical stress produced by the aqueous leachate of *Callicarpa acuminata*: effects on roots of bean, maize, and tomato. *Physiol Plant* 116:20–27.

Cruz-Ortega R, Lara-Núñez A, Anaya AL 2007. Allelochemical stress can trigger oxidative damage in receptor plants. *Plant Sign Behavior* 2(4):269-270.

Daneluzzi GS, Dos Santos VHM, Silva LP, Da Silva RMG 2014. Evaluation of phytotoxic and cytotoxic potential of *Pyrostegia venusta* (Ker-gawl.) Miers (bignoniaceae). *Biosc J* 30(4):1231-1240.

Edmond JB, Drapala WJ 1958. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proce American Soc Horti Sci* 71:428-434.

Ferreira A, Aquila MA 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Rev. Bras. de Fisiol. Vegetal* 12:175-204.

Gniazdowska A, Krasuska U, Andrzejczak O, Soltys D 2015. Allelopathic Compounds as Oxidative Stress Agents: Yes or NO. In Gupta JK, Igamberdiev AU, *Reactive Oxygen and Nitrogen Species Signaling and Communication in Plants, Signaling and Communication in Plants*. Springer international Publishing, Switzerland, p.155–176.

Gniazdowska A, Bogatek R 2005. Allelopathic interactions between plants. Multisite action of allelochemicals. *Acta Physiol Plant* 27(3):395–407.

Gao X, Li MEI, Gao Z, Li C, Sun Z 2009. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata* on the germination and growth of wheat, sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. *Weed Biol Manag* 9(3):243-249.

Harper JR, Balke NE 1981. Characterization of the inhibition of K<sup>+</sup> absorption in oat roots by salicylic acid. *Plant Physiol.* 68:1349–1353.

Labouriau LG 1983. *A germinação de sementes*. Organização dos Estados Americanos, Washington, 174 pp.

Lorenzi H 2002. *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Vol II, 4 ed. Nova Odessa, São Paulo, 384 pp.

Manoel DD, Doiche CFR, Ferrari TB, Ferreira G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e pata-de vaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. *Sem Ciênc Agrs* 30(1):63-70.

Maraschin-Silva F, AQUILA MEA 2006. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. *Rev Árvore* 30(4):547-555.

Meira RO 2016. *Alelopátia entre espécies de diferentes categorias sucessionais utilizadas na restauração ecológica*, Master Thesis, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 96 pp.

Paula CS, Canteli VCD, Silva CB, Miguel OG, Miguel MD 2015. Potencial fitotóxico com enfoque alelopático de *Bauhinia unguolata* L. sobre sementes e plântulas de alface e cebola. *Rev Ciênc Farm Básica e Apli* 36(3):445-452.

Passardi F, Cosio C, Penel C, Dunand C, 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep* 24: 255–265.

Quiroga M, Guerrero C, Botella MA, Barceló A, Amaya I, Medina MI, Alonso FJ, Milrad FS, Tigier H, Valpuesta V 2000. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiol* 122:1119–1128.

Reigosa MJ, Sánchez-Moreiras A, González L 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. *Crit. Rev. Plant Sci* 18(5):577-608.

Rezende CP, Pinto JC, Evangelista AR, Santos IPA 2003. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. *Boletim Agrop* 54:1-55.

Resende LA, Pinto LVA, Santos EC, Silva S 2015. Crescimento e sobrevivência de espécies arbóreas em diferentes modelos de plantio na recuperação de área degradada por disposição de resíduos sólidos urbanos. *Rev Árvore* 39(1):147-157.

Rice EL, 1984. *Allelopathy*, vol.II, Academic Press, Orlando, 353pp.

Ribeiro VM, Spiassi A, Marcon TR, Lima GP, Corsato JM, Fortes AMT 2017. Antioxidative enzymes of *Cucumis sativus* seeds are modulated by *Leucaena leucocephala* extracts. *Acta Scientiarum* 39:373-380.

Rizzardi MA, Neves R, Lamb TD, Johann LB 2008. Potencial alelopático da cultura da canola (*Brassica napus* L. var. oleifera) na supressão de picão-preto (*Bidens* sp.) e soja. *Rev Bra Agroc* 14(2):239-248.

Silva JB, Nakagawa J (1995) Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. *Informativo Abrates* 5:62-73.

Schopfer P, Plachy C, Frahry G 2001. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide & hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. *Plant Physiol* 125:1591–1602.

Souza filho APS, RODRIGUES LRA, Rodrigues TJD 1996. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. *Plant Daninha* 14(2):93-101.

Teisseire H, Guy V 2000. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Science* 153:65-72.

Viçosi KA, Ferreira AAS, Oliveira LAB, Rodrigues F 2017. Estresse hídrico simulado em genótipos de feijão, milho e soja. *Rev Agri Neot* 4(1):36-42.

Villela FA, Doni filho L, Sequeira EL 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. *Pes Agropec Bras* 26:1957-1968.

Wardle DA, Ahmed M, Nicholson KS 1991. Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth of pasture plants. *J Agric Res* 34(2):185-191.

## ANEXO I

NORMAS DA REVISTA *Journal of social, Technological and Environmental Science*

ISSN: 2238-8869

Classificação Qualis 2013-2016 – Ciências Ambientais: B1

### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- **FRONTEIRAS** publica trabalhos originais em Espanhol, Português ou Inglês em formato de Artigos; Notas Técnicas, Pedagógicas ou Científicas; Resenhas; e Entrevistas.

- **ARTIGOS:**

Textos originais resultantes de pesquisa avançada ou reflexão teórica.

Mínimo de 5000 e máximo de 10.000 palavras, incluindo notas de rodapé.

Título em Espanhol e Inglês ou Português e Inglês

Resumo em Espanhol e Inglês ou Português e Inglês, máximo de 150 palavras.

3-4 palavras-chave em Espanhol e Inglês ou Português e Inglês

- **NOTAS TÉCNICAS, PEDAGÓGICAS OU CIENTÍFICAS:**

Comunicações sobre experiências de ensino em Ciências Sociais, Tecnológicas, Ambientais ou da Saúde.

Máximo de 2.000 palavras, incluindo notas de rodapé.

Título em Espanhol e Inglês ou Português e Inglês

Resumo em Espanhol e Inglês ou Português e Inglês, máximo de 150 palavras

3-4 palavras-chave em Espanhol e Inglês ou Português e Inglês

- **RESENHAS:**

Enfoque em livros publicados nos últimos três anos

Máximo de 1.000 palavras.

- **ENTREVISTAS:**

Efetuada pelos Editores e Conselho Editorial

- **REFERÊNCIAS:** Todas as referências devem ser precisas e apenas citações que aparecem no texto devem ser referenciadas. Trabalho não publicado não deve ser

citados a não ser que já tenha sido aceito para publicação. Neste caso, deve ser referido como "in press". Resultados não publicados devem ser citados como "unpublished observations". As referências devem ser colocadas no final do manuscrito, em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do primeiro autor.

- **TÍTULOS DAS REVISTAS:** Devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus.

Consult: <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>

- **CITAÇÕES NO TEXTO:**

- No caso de um único autor:

Pereira (1991) ou (Pereira 1991)

- No caso de dois autores:

(Pereira & Silva 1992) ou Pereira and Silva (1992)

- No caso em que mais de dois autores são citados, apenas o primeiro deve ser mencionado:

Pereira et al. (1993) ou (Pereira et al. 1993).

- **PARA LISTAR REFERÊNCIAS NO FINAL DO ARTIGO USAR OS SEGUINTE ESTILOS:**

- a) Artigo de periódico:

Baptista L, Pfeifer R, da Silva EC, Arbilla G 2011. Kinetics and thermodynamics of limonene ozonolysis. *J Phys Chem A* 115(40):10911-10919.

- b) Livros e teses:

Cruz AL 1996. *Biodiversidade e Conservação* Vol. XI, Edgard Blucher, Rio de Janeiro, 343 pp.

Mello-Silva CC 2005. *Controle alternativo e alterações fisiológicas em Biomphalaria glabrata (Say, 1818), hospedeiro intermediário de Schistosoma mansoni Sambom, 1907 pela ação do látex de Euphorbia splendens var. hislopii N.E.B (Euphorbiaceae)*, PhD Thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 85 pp.

- c) Capítulo em livro:

Cruz OG 1911. The prophylaxis of malaria in central and southern Brasil. In R Ross, *The Prevention of Malaria*, John Murray, London, p. 390-398.

- d) Artigo da Internet:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.].

Available from:

<http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

e) Monografia na Internet:

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

f) Homepage/Web site:

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

g) Parte de uma homepage/Web site:

American Medical Association [homepage on the Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated 2001 Aug 23; cited 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [about 2 screens]. Available from: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

- **BASE DE DADOS NA INTERNET:**

a) Base de dados aberta:

Who's Certified [database on the Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp>

b) Base de dados fechada:

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from: [http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome\\_title.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome_title.html)

c) Parte de uma base de dados:

MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from:

<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly. Updated June 15, 2005

### **Diretrizes para Autores**

A Revista Fronteiras publica artigos de autores com titulação mínima de mestre. Artigos de alunos de mestrado serão avaliados desde que em co-autoria com o orientador.

Os artigos para o processo editorial deverá ser submetido por meio

do [link](http://revistas.unievangelica.edu.br/index.php/fronteiras/index) <http://revistas.unievangelica.edu.br/index.php/fronteiras/index>. Neste caso, os autores

devem registrar-se antes de iniciar o processo. Caso os autores desejem, podem, também, estar

encaminhando o artigo para o e-mail [fronteiras.unievangelica@gmail.com](mailto:fronteiras.unievangelica@gmail.com). **O envio por e-mail não elimina a necessidade de envio do artigo através do sistema Open Journal.**

Os editores podem decidir sobre a pertinência em abrir o processo editorial para o artigo proposto, fundamentando-se nos seguintes critérios: vínculo com a identidade e a missão da revista, apresentando originalidade, clareza do argumento central, conclusões baseadas em investigações sistemáticas e adequação nas normas de submissão de artigos.

O processo editorial pode levar entre 3 e 6 meses. A avaliação dos trabalhos submetidos é feita às cegas por pelo menos dois avaliadores ad hoc voluntários, em formulário próprio que avalia os aspectos formais, éticos e de conteúdo do trabalho avaliado. O processo editorial se dá por e-mail (anexo), com troca de informações entre os editores e os pares (avaliadores ou autores).

Os artigos selecionados para o processo editorial serão enviados para dois revisores. O processo de avaliação será anônimo e o Comitê Editorial procede a seleção final da publicação.

Todos os manuscritos devem ser enviados em Word. Em uma página de rosto deve apresentar-se o título do artigo, nome do autor, a instituição a que pertence, *e-mail*, endereço completo, agência de fomento. Para garantir que o manuscrito seja anônimo para os revisores, o autor deve:

- 1) Omitir o seu nome e filiação na página 2 e seguintes, cabeçalhos e rodapés.
- 2) Remover as referências a apresentações de documentos anteriores em conferências ou seminários.

**Imagens:** arquivo jpg/300 dpi (apresentar, se necessário, a autorização de uso das imagens)

### **Declaração de Direito Autoral**

Esta revista oferece acesso livre imediato ao seu conteúdo, seguindo o princípio de que disponibilizar gratuitamente o conhecimento científico ao público proporciona maior democratização mundial do conhecimento.

A partir da publicação realizada na revista os autores possuem copyright e direitos de publicação de seus artigos sem restrições.

A Revista *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science* segue os preceitos legais da licença [Creative Commons - Atribuição-NãoComercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Internacional. 

### **Política de Privacidade**

### **Declaração de ética da publicação e publicação imperícia:**

## **Guia ético para publicação no periódico**

### **1. Obrigações dos autores**

#### **1.1. Normas dos relatórios**

Autores de relatórios originais devem apresentar uma avaliação precisa do trabalho demonstrado, bem como uma discussão objetiva da sua significância. Dados subjacentes devem ser representados apuradamente no trabalho. O trabalho deve conter detalhes e referências suficientes para permitir outros a replicar a sua obra.

Declarações fraudulentas e a conscientização imprecisa do mesmo constitui um comportamento antiético e inaceitável.

Artigos de revisões e publicações profissionais devem sempre ser precisos e objetivos, e trabalhos e opiniões editoriais devem claramente ser identificados com tal.

#### **1.2. Acesso e retenção de dados**

Autores podem ser solicitados a providenciar dados crus em conexão com um trabalho para revisões editoriais, devem estar preparados a providenciar o acesso público destes dados, se viável, e devem independente da instância estar preparados a reter tais dados por um período adequado depois de sua publicação.

#### **1.3. Originalidade e plágio**

Os autores devem assegurar que tenham escrito obras totalmente originais, e se os autores usarem o trabalho e/ou palavras de outra pessoa, que o mesmo seja citado devidamente. O plágio toma várias formas, alguns destes sendo, quando um autor pega o trabalho de outro como seu, ao copiar ou parafrasear partes substanciais de um trabalho feito por outro (sem atribuição), ou até mesmo a reivindicação dos resultados de uma pesquisa feita por outros. Plágio em todas as suas formas constitui um comportamento de publicação antiético, sendo inaceitável.

#### **1.4. Publicações múltiplas, redundantes e simultâneas**

Em geral um autor não deve publicar manuscritos que descrevem essencialmente a mesma pesquisa em mais de um periódico ou publicação primária. Apresentação do mesmo manuscrito para mais de um periódico simultaneamente constitui um comportamento de publicações antiético, sendo inaceitável. Em geral um autor não deverá apresentar para considerações um trabalho publicado anteriormente em outro periódico. A publicação de alguns tipos de artigos (ex. diretrizes clínicas, traduções) em mais de um periódico é justificável, desde que certas condições sejam atendidas. Os autores e editores dos periódicos interessados devem concordar na publicação secundária que deve refletir os mesmos dados e interpretações do documento primário. A referência primária deve ser citada na publicação

secundaria.

### **1.5. Reconhecimento das fontes**

O devido reconhecimento do trabalho feito por outro deve sempre ser dado. Autores devem citar publicações que foram influentes na determinação da natureza do trabalho relatado. Informações obtidas particularmente, tais como em conversas, correspondências, ou discussões com terceiros, não devem ser usadas ou relatadas sem explícita permissão escrita da fonte. Informações obtidas no decurso de serviços confidenciais, tais como manuscritos referidos ou aplicações para bolsas, não deverão ser utilizadas sem explícita permissão escrita do autor do trabalho envolvido nestes serviços.

### **1.6. Autoria do trabalho**

A autoria deve ser limitada àqueles que tenham feito contribuições significativas à concepção, estruturação, execução, ou interpretação do estudo relatado. Todos aqueles que tenham feito uma contribuição significativa devem ser listadas como coautores. Nos lugares que contenham participantes em certo aspecto substantivos do projeto de pesquisa, os mesmos devem ter reconhecimento ou serem listados como contribuintes. O autor correspondente deve assegurar que todos os coautores apropriados e não os coautores inapropriados sejam incluídos no trabalho, e que todos os coautores tenham visto e aprovado a versão final do trabalho e concordem em sua apresentação para publicação.

### **1.7. Perigos e cobaias humanas ou animais**

Se o trabalho envolver produtos químicos, procedimentos ou equipamentos que demonstram qualquer risco inerente em seu uso, o autor deve identificar isso claramente em seu manuscrito. Se o trabalho envolver o uso de cobaias humanas ou animais, o autor deve assegurar que o manuscrito contenha uma declaração de que todos os procedimentos foram realizados de acordo com leis atuais e orientações institucionais e que há aprovação do(s) comitê(s) institucional(s) apropriado(s). Os autores devem incluir uma declaração no seu manuscrito informando que houve consentimento para experimentos com cobaias humanas. Os direitos humanos de privacidade devem sempre ser observados.

### **1.8. Divulgação e conflitos de interesse**

Todos os autores devem divulgar em seu manuscrito qualquer conflito de interesse seja financeiro ou outro conflito de interesse relevante que poderia ser entendido como influência nos resultados de interpretação do manuscrito. Todas as fontes de suporte financeiro ao projeto devem ser divulgadas. Exemplos de possíveis conflitos de interesses que deveriam ser divulgados podem incluir vínculo empregatício, consultoria, propriedade de ações, honorários, depoimentos pagos de especialistas, aplicações / registros de patente, e bolsas ou

outros financiamentos. Possíveis conflitos de interesses devem ser divulgados o mais cedo possível.

### **1.9. Erros básicos em trabalhos publicados**

Quando o autor descobre um erro significativo ou impreciso no seu trabalho publicado, é o dever do autor notificar imediatamente o editor ou a editora do periódico, e cooperar com o editor para retratar ou corrigir o trabalho. Se o editor ou a editora descobrir por terceiros que um trabalho publicado contém erros significativos, é obrigação do autor imediatamente retratar ou corrigir o trabalho ou providenciar evidência para o editor sobre a exatidão no trabalho original.

## **2. Obrigações do Conselho Editorial**

(Essas orientações são baseadas em políticas existentes da Elsevier e Orientações das Melhores Práticas para Editores de Periódicos da COPE).

### **2.1. Decisões de Publicações**

O editor de um periódico de revisão por pares é responsável pela decisão de quais artigos apresentados ao periódico serão publicadas. A validação do trabalho em questão e a sua importância para pesquisadores e leitores deve sempre ser o que impulsiona tais decisões. O editor pode ser guiado pelas políticas do conselho editorial do periódico e limitado pelos requisitos legais vigentes em matéria de difamação, violação de direitos autorais e plágio. O editor pode conferir com outros editores e revisores na tomada dessa decisão.

### **2.2. Jogo Limpo**

Um editor deve avaliar manuscritos por seu conteúdo intelectual sem distinção de sua raça, gênero, orientação sexual, crenças religiosas, origens étnicas, cidadania, ou filosofia política dos autores.

### **2.3. Confidencialidade**

O editor ou qualquer outra pessoa da equipe editorial não devem divulgar quaisquer informações sobre um manuscrito apresentado, a não ser para o correspondente autor, revisores, colaboradores potenciais, outros conselheiros editoriais, e a editora, conforme o caso.

### **2.4. Divulgação e conflitos de interesse**

A divulgação de materiais não publicados em um manuscrito submetido não deve ser utilizada pelo editor em sua própria pesquisa sem a autorização expressa por escrito do autor. Informações privilegiadas ou ideias obtidas por revisões de pares devem ser mantidas confidenciais e não utilizadas para proveito pessoal. Os editores devem recusar-se (ou seja, deve perguntar a um coeditor, editor adjunto ou outro membro do conselho editorial para

analisar e ponderar) a considerar manuscritos dos quais eles tenham conflitos de interesse, sendo estes resultantes de concorrência, colaboração, ou outros relacionamentos ou ligações com qualquer um dos autores, empresas, ou (eventualmente) as instituições ligados aos trabalhos. Os editores devem exigir que todos os contribuintes divulguem interesses conflitantes relevantes e que publiquem correções se os interesses conflitantes forem revelados após a publicação. Se necessário, devem ser tomadas outras medidas adequadas, tais como a publicação de uma retratação ou nota de interesse.

### **2.5. Envolvimento e cooperação em investigações**

Um editor deve tomar medidas de responsabilidade razoáveis, quando reclamações a respeito de conduta ética forem apresentadas com relação a um manuscrito ou trabalho publicado, em conjunto com a editora (ou sociedade). Tais medidas geralmente incluirão contatar o autor do manuscrito ou trabalho passando-lhe as devidas considerações com relação às reclamações feitas, mas também poderão incluir futuras comunicações com as instituições e corpo de pesquisa relevantes, e se as reclamações forem comprovadas, a publicação de uma correção, retratação, nota de interesse, ou outra nota, caso seja relevante. Todo ato relatado sobre uma conduta antiética nas publicações deverá ser analisado, mesmo se for descoberto depois de vários anos de publicação.

### **3. Deveres dos revisores**

(Essas orientações são baseadas em políticas existentes da Elsevier e Orientações das Melhores Práticas para Editores de Periódicos da COPE).

#### **3.1. Contribuições para decisões editoriais**

A revisão por pares auxilia o editor ao tomar as decisões editoriais, e o editorial através da comunicação com o autor pode trazer melhorias para o próprio trabalho. A revisão por pares é um componente essencial da comunicação acadêmica formal, sendo considerada como a alma da metodologia científica. A Elsevier compartilha o ponto de vista, de que aqueles acadêmicos que desejam contribuir para publicações tenham a obrigação de fazer a sua parte nas revisões.

#### **3.2. Prontidão**

Qualquer avaliador selecionado que se sente desqualificado para revisar a pesquisa relatada em um manuscrito ou que tem conhecimento de que sua revisão rápida será impossível, deverá notificar ao editor e pedir que seja retirado do processo de revisão.

#### **3.3. Confidencialidade**

Qualquer manuscrito recebido para revisão deve ser tratado como documento confidencial. Os manuscritos não devem ser mostrados ou discutidos com outros a não ser que possuam

autorização pelo editor.

### **3.4. Padrões de objetividade**

Revisões devem ser conduzidas objetivamente. Críticas pessoais do autor são inadequadas. Avaliadores devem expressar seus pontos de vistas claramente com argumentos partidário.

### **3.5. Reconhecimentos das fontes**

Revisores devem identificar publicações de trabalhos relevantes que não tenham sido citadas pelos autores. Qualquer afirmação de que uma observação, derivação, ou argumento tenha sido relatado anteriormente deve ser acompanhada pela citação relevante. O revisor deve também chamar a atenção do editor sobre qualquer similaridade substancial ou sobreposição entre o manuscrito em avaliação e qualquer outro trabalho publicado do qual ele tenha conhecimento pessoal.

### **3.6. Divulgação e conflitos de interesse**

Materiais não publicados divulgados em um manuscrito submetido não devem ser usados na pesquisa pessoal de um pesquisador sem o consentimento expresso de forma escrita pelo autor. Informações privilegiadas ou ideias obtidas através de revisões por pares devem ser mantidas em confidencialidade e não devem ser usadas para vantagem pessoal. Revisores não devem considerar manuscritos dos quais tenham conflitos de interesses, seja resultado de competitividade, colaboração, ou outra relação ou vínculo com qualquer outro autor, companhias, ou instituições que tenha conexão com o trabalho.

## CAPITULO 2

**Interferência alelopática do extrato aquoso de folhas de *Bauhinia forficata* L. no sistema antioxidante de plântulas de *Phaseolus vulgaris*.**

O artigo segue as normas da revista de *Ciências Agrárias de Portugal* citada em anexo II do capítulo 2.

1 **Desempenho fisiológico e sistema antioxidantes de plântulas submetidas**  
2 **ao extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L.**

3

4

5 Erly C. Porto\*, Jaqueline M. Corsato e Andrea M. T. Fortes.

6

7 *Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Cascavel, Paraná,*

8 *Brasil.*

9

10 *\*E-mail: erly.carlos@gmail.com*

11

12 **Resumo**

13

14 O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes proporções do extrato  
15 aquoso de *Bauhinia forficata* L. sobre o desempenho fisiológico e atividade enzimática  
16 durante o desenvolvimento inicial de plântulas de feijão. As proporções dos extratos  
17 utilizados foram 0% (água); 2.5; 5; 7.5 e 10% (folhas secas). Foram avaliados o comprimento  
18 médio de parte aérea e raiz, massa seca total da parte aérea e raiz, lipoperoxidação lipídica e  
19 atividade enzimática da superóxido-dismutase, catalase e peroxidase da parte aérea e da raiz.  
20 O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Houve redução do comprimento  
21 médio e massa seca da raiz conforme aumento das proporções utilizadas. A peroxidação  
22 lipídica e a atividade da enzima catalase foram elevadas quando submetidas aos tratamentos

23 com proporções do extrato. O aumento da proporção do extrato de folhas de *B. forficata* L.  
24 afeta negativamente o desenvolvimento radicular e provoca danos acentuados as membranas  
25 das raízes de plântulas de feijão.

26

27 **Palavras-chave:** alelopatia, enzimas antioxidantes, *Phaseolus vulgaris*

28

29 **Abstract**

30

31 The present work had the objective of evaluating the effect of different proportions of the  
32 aqueous extract of *Bauhinia forficata* L. on the physiological performance and enzymatic  
33 activity during the initial development of bean seedlings. The proportions of the extracts  
34 used were 0% (water); 2.5; 5; 7.5 and 10% (dry leaves). The average length of shoot and  
35 root, total dry mass of shoot and root, lipid lipid peroxidation and enzymatic activity of  
36 superoxide dismutase, catalase and root and shoot peroxidase were evaluated. There was  
37 reduction of the average length and dry mass of the root as the proportions used increased.  
38 The lipid peroxidation and the activity of the catalase enzyme were high when submitted to  
39 the treatments with proportions of the extract. Increasing the proportion of *B. forficata* L.  
40 leaf extract adversely affects root development and causes marked damage to the  
41 membranes of bean seedlings.

42

43 **Keywords:** allelopathy, antioxidant enzymes, *Phaseolus vulgaris*

44

45

46 **Introdução**

47

48 As interações alelopáticas são mediadas por metabolitos químicos (aleloquímicos)  
49 liberados de plantas doadoras para o meio ambiente e influenciam o crescimento e o  
50 desenvolvimento de outras plantas. Essas substâncias são oriundas do metabolismo  
51 secundário das plantas, conhecidos como aleloquímicos. São liberadas no ambiente por meio  
52 da lixiviação, exsudação das raízes, volatilização e decomposição de resíduos vegetais e uma  
53 vez liberadas no meio, podem interferir em processos vitais de crescimento e  
54 desenvolvimento de outras plantas e organismos, (Reigosa *et al.*, 1999; Ferreira e Aquila,  
55 2000).

56 A ação dos aleloquímicos está diretamente ligada na alteração de processos  
57 fisiológicos essenciais a planta, sendo que, muitos autores acreditam que essa interferência  
58 resulta em um aumento da produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs)  
59 (Rezende *et al.*, 2003; Almeida *et al.*, 2008), as quais acarretam em danos que podem causar  
60 morte celular, devido a despolarização das membranas celulares que induzem a peroxidação  
61 lipídica (Almeida *et al.*, 2008; Barbosa *et al.*, 2014).

62 Com a finalidade de evitar danos oxidativos nas células, as plantas possuem sistemas  
63 de defesa antioxidante, que envolvem enzimas como a superóxido-dismutase (SOD),  
64 catalase (CAT) e peroxidases (POD). Esses agentes enzimáticos atuam diretamente na  
65 redução e remoção de radicais livres (EROs). Em respostas ao aumento desses radicais  
66 livres, as plantas aumentam a produção dessas enzimas como defesa, no entanto, há relatos

67 de que alguns aleloquímicos podem reduzir a atividade dessas enzimas (Apel & Hirt, 2004,  
68 Almeida *et al.*, 2008; Gill & Tuteja 2010).

69 O aumento de radicais livres em células de plantas em resposta aos aleloquímicos tem  
70 se tornado objeto de estudo, uma vez que esses podem interferir no processo de  
71 estabelecimento das espécies no meio. Logo, espécies que possuem relatos de atividades  
72 alelopáticas são de interesse para compreender sobre os diferentes processos fisio-  
73 metabólicos decorrentes do agente estressor, no caso, os aleloquímicos (Rezende *et al.*,  
74 2003; Almeida *et al.*, 2008; Aumonde *et al.*, 2015; Barbosa *et al.*, 2014).

75 A *B. forficata* Link conhecida como pata-de-vaca, é uma espécie pioneira que  
76 apresenta uma rápida germinação, alta taxa de sobrevivência, é capaz de suportar inundações  
77 de curto prazo e se adapta em quase todos os tipos de solo, por conta disso é recomendada  
78 para restaurações ecológicas (Carpanezzi, 2006; Resende *et al.*, 2015). Tal espécie pertence  
79 à família Fabaceae, e é caracterizada como árvore de porte médio com ocorrência em floresta  
80 de Mata Atlântica do Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul (Lorenzi, 2002).

81 Alguns estudos, já comprovaram a interferência negativa de compostos alelopáticos  
82 da *Bauhinia. forficata* sobre a germinação e desenvolvimento de sementes bioindicadoras  
83 (Manoel *et al.*, 2009; Meira *et al.*, 2016). A atuação dos aleloquímicos, principalmente da  
84 kaempinefrina, composto identificado em *B. forficata*, apresentou uma interferência, em  
85 altas concentrações, durante o processo germinativo em sementes de *Lactuca sativa* (Weston  
86 *et al.*, 2013).

87 Nesse sentido, o entendimento do metabolismo antioxidativo junto a análise  
88 fisiológica de crescimento da planta, auxilia-nos a entender melhor os estudos alelopáticos,  
89 pois permite inferir o mecanismo de defesa de plantas quando impostas a situações de  
90 estresse além de compreender sobre a dinâmica das populações inseridas no ambiente.

91           Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes  
92   proporções do extrato aquoso de *Bauhinia forficata* L. sobre o desempenho fisiológico e  
93   atividade enzimática durante o desenvolvimento inicial de plântulas de feijão.

#### 94   **Material e métodos**

95           Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia Vegetal da  
96   Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste *Campus* Cascavel – PR, no período de  
97   novembro de 2016 a abril de 2017.

98           Para a avaliação do efeito do extrato sobre o desenvolvimento, utilizou-se sementes  
99   de feijão (*P. vulgaris* L.) cultivar IAC Milênio, adquiridas de um produtor rural local  
100   (25°05'19.9" S, 53°19'33.8" W) em Cascavel, Paraná, Brasil.

101           As sementes de feijão foram submetidas a assepsia, durante 10 minutos em solução  
102   de água destilada com detergente (5 gotas para cada 100ml de água destilada) segundo Brasil  
103   (2009). Posteriormente, foi instalado um teste de pré-germinação com 50 sementes de *P.*  
104   *vulgaris* para cada um dos 6 tratamentos. A escolha da espécie feijão, foi baseada pela vasta  
105   literatura descrita sobre a espécie, sobretudo, pela uniformidade da germinação.

#### 106   **Preparação do Extrato**

107           A coleta das folhas de *Bauhinia forficata* foram realizadas no mês de dezembro de  
108   2016, quando as plantas estavam em estágio vegetativo no período de pré-floração, no  
109   período da manhã, em área de vegetação nativa do Parque Nacional do Iguaçu, próximo ao  
110   município de Lindoeste – PR (25°18'38.6" S, 53°38'01.6" W). As exsiccatas da *B. forficata*  
111   foram depositadas no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNOP),  
112   campus Cascavel, sob número 2360.

113 As folhas de *B. forficata* foram secas em estufa de secagem com circulação de ar  
114 forçado a  $40 \pm 2$  °C por aproximadamente 60 horas, até que atingiram uma estabilização da  
115 massa (g). Após a secagem, as folhas foram trituradas em moinho de faca do tipo Willey®,  
116 para a obtenção do pó, o qual foi armazenado em frascos de vidro, envoltos por papel  
117 alumínio para evitar foto-oxidação do material, mantidos em local seco e temperatura  
118 ambiente até sua utilização.

119 O extrato aquoso foi obtido a partir do pó das folhas secas e trituradas de *B. forficata*  
120 nas proporções de 25; 50; 75 e 100g de pó para 1000 mL de água destilada, relação  
121 peso/volume ( $\text{g mL}^{-1}$ ). A mistura foi homogeneizada por 1 minuto com bastão de vidro em  
122 seguida foi deixada em repouso por 4 horas à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), no escuro  
123 (Carvalho *et al.*, 2012).

124 Em seguida, o extrato foi filtrado em uma malha de algodão, obtendo-se o extrato  
125 nas proporções de 2.5%; 5%; 7.5% e 10%, sendo esses 4 tratamentos com extratos de *B.*  
126 *forficata* e mais um, composto apenas por água destilada (0%), totalizando 5 tratamentos.

127 Após a obtenção dos extratos aquosos das folhas secas de *B. forficata* foi realizado a leitura  
128 do potencial hidrogeniônico (pH) de todas as proporções com o auxílio do pHmetro Micronal  
129 B474.

### 130 **Experimento de crescimento e desenvolvimento inicial**

131 Foram utilizadas 10 sementes de *P. vulgaris* pré-germinadas apresentando entre 1 e  
132 3 cm de raiz primária por repetição, as quais foram acondicionadas em papéis Germitest  
133 previamente autoclavados e umedecidos com as diferentes concentrações do extrato aquoso  
134 de *B. forficata* na proporção de 2,5x o peso seco do papel, além de um tratamento com água

135 destilada, totalizando seis tratamentos (0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%), cada tratamento  
136 foi composto por 4 repetições com 10 plântulas pré-germinadas cada.

137 Esses tratamentos foram acondicionados em recipientes plásticos de 1L, na posição  
138 vertical, com as mesmas proporções de extrato utilizadas para umedecer os papeis Germitest.  
139 Esses tratamentos permaneceram em câmara de germinação do tipo B.O.D com temperatura  
140 de 25 ° C e fotoperíodo de 12h luz/escuro por mais 6 dias. O Extrato aquoso foi trocado no  
141 terceiro dia de experimento.

#### 142 **Análises fisiológicas**

143 Para a análise do desenvolvimento inicial, ao final do teste de crescimento e  
144 desenvolvimento inicial, 6 dias, foi verificado o comprimento médio da parte aérea (CMPA)  
145 e comprimento médio de raiz (CMR) de sete plântulas por repetição no último dia de  
146 avaliação, as medições foram realizadas com auxílio de régua graduada e os resultados foram  
147 expressos em centímetros (cm).

148 A massa seca foi avaliada com a utilização de 3 plântulas de cada repetição,  
149 separando a parte aérea da raiz. As partes foram acondicionadas em sacos de papel kraft e  
150 em estufa de circulação forçada de ar à  $40 \pm 2$  ° C até que atingissem massa constante, em  
151 seguida foram pesadas em balança analítica de precisão, os valores foram expressos em  
152 miligramas (mg).

#### 153 **Atividade enzimática e peroxidação lipídica**

154 A análise das atividades enzimáticas e peroxidação lipídica, nas plântulas foram  
155 realizadas ao final do experimento de crescimento e desenvolvimento inicial. Foi separada  
156 parte aérea e raiz das plântulas. Os dados apresentados de determinação da atividade  
157 enzimática e da peroxidação lipídica, foram valores médios de ensaios em triplicata.

158 Foram homogeneizados 50 mg do material vegetal em solução de tampão fosfato de  
159 potássio 0.1 mol L<sup>-1</sup> pH 6.8. O homogenato foi centrifugado a 12.000 rpm por 30 minutos a  
160 4<sup>o</sup> C. A quantificação de proteínas totais foi realizada de acordo com Bradford (1976), para  
161 a determinação da atividade específica das enzimas.

162 A peroxidação lipídica foi avaliada via acúmulo de malondialdeído (MDA), um  
163 subproduto da degradação dos lipídios, adaptado segundo metodologia de Heath e Packer  
164 (1976), expressos em nmol g<sup>-1</sup> massa fresca.

165 A análise da atividade específica das enzimas antioxidantes foram: superóxido  
166 dismutase (SOD) de acordo com Beuchamp & Fridovich (1971), em U/mg de proteína;  
167 Catalase (CAT) conforme Azevedo et al. (1998), em nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumido min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup>  
168 proteína; Peroxidase (POD) de acordo com Teisseire & Guy (2000), em μmol de  
169 purpurogalina min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

## 170 **Delineamento experimental e análise estatística**

171 O delineamento experimental para análise das variáveis de desenvolvimento inicial  
172 como também a análise da atividade enzimática e peroxidação lipídica nas plântulas, foi  
173 inteiramente casualizado, composto pelos tratamentos utilizados, 0% água destilada e as  
174 proporções de extrato aquoso de *B. forficata* (2.5, 5, 7.5 e 10%) totalizando 6 tratamentos,  
175 com 4 repetições cada.

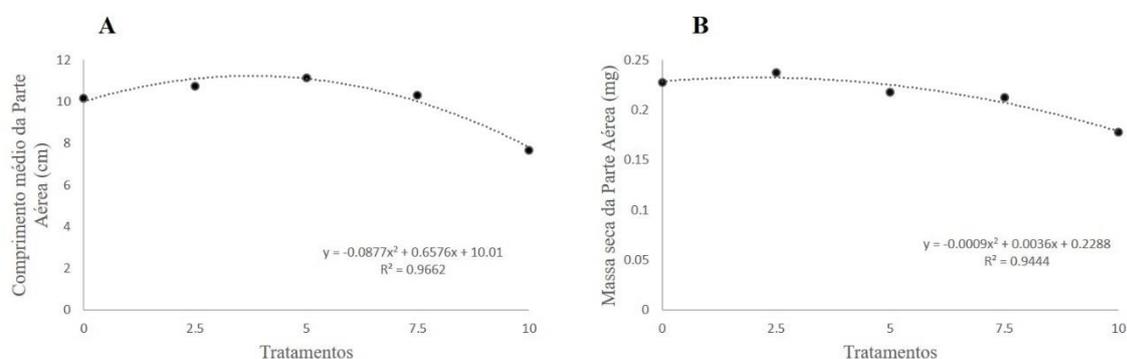
176 As médias foram analisadas pela regressão linear por meio do ajuste de modelos  
177 simples e polinomiais (de segunda a quarta ordem) a 5 % de probabilidade. Todas as análises  
178 estatísticas foram realizadas com auxílio do programa R versão 3.2.5.

## 179 **Resultados e discussão**

180 Os valores médios do pH (6,42) obtidos para o extrato de *B. forficata*, estavam dentro  
 181 da faixa de neutralidade (pH neutro 7), não interferindo no desenvolvimento inicial das  
 182 plântulas de *P. vulgaris*. Valores extremos de pH, muito ácido ou muito alcalino, podem  
 183 interferir no desenvolvimento das plântulas e assim mascarar o efeito alelopático (Ferreira e  
 184 Aquila, 2000).

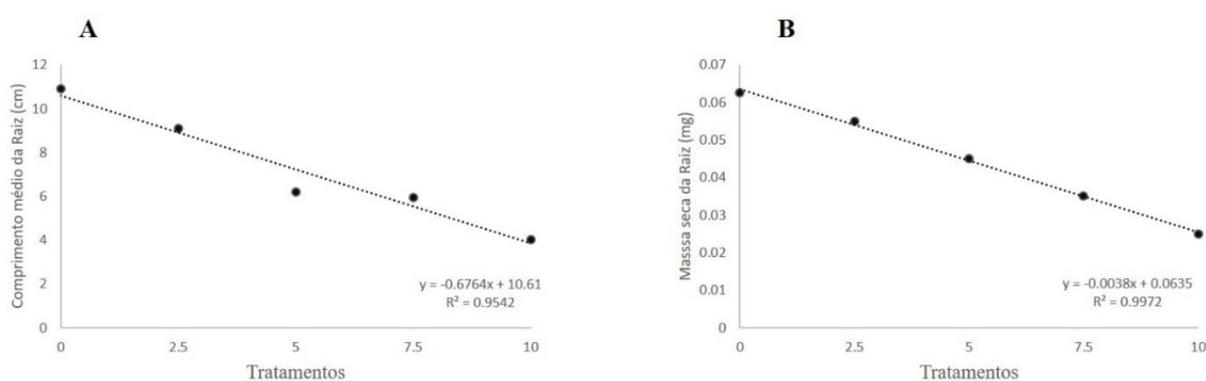
185 As análises fisiológicas realizadas 6 dias após a instalação do experimento de  
 186 desenvolvimento, indicam que, o extrato aquoso de *B. forficata* interferiu negativamente nos  
 187 comprimentos médios das plântulas de feijão (Fig 1).

188 Verificamos que, para o comprimento médio da parte aérea houve uma tendência de  
 189 estímulo de crescimento até o tratamento 5%, seguido de redução para os tratamentos com  
 190 maiores proporções, sendo que 10%, apresentou menor média (7.67 cm) (Fig. 1 A).  
 191 Semelhante ao comprimento da parte aérea, a massa seca apresentou um aumento até o  
 192 tratamento 2.5% seguido de uma redução nos tratamentos 5, 7.5 e 10% (Fig. 1 B).



193 Figura 1. Comprimento médio da parte aérea e massa seca da parte aérea das plântulas de *P.*  
 194 *vulgaris* submetidas aos tratamentos; 0% com água destilada e com extrato aquoso de folhas  
 195 secas de *B. forficata* (2.5, 5, 7.5 e 10%).

196 O comprimento médio das raízes das plântulas de feijão foi reduzindo continuamente  
 197 conforme o aumento das proporções dos extratos testados, sendo que o extrato na proporção  
 198 de 10% apresentou um comprimento 2.5 vezes menor do que o tratamento 0% (Fig. 2 A).  
 199 Análogo ao comprimento das raízes, a massa seca da raiz também foi reduzida conforme o  
 200 aumento das proporções dos extratos aquosos (Fig. 2 B). Houve uma redução de  
 201 aproximadamente 60% na massa seca da raiz entre o tratamento 0% (água destilada) e o  
 202 tratamento 10%.



203 Figura 2. Comprimento médio da raiz e massa seca da raiz das plântulas de *P. vulgaris*  
 204 submetidas aos tratamentos; 0% com água destilada e com extrato aquoso de folhas secas de  
 205 *B. forficata* (2.5, 5, 7.5 e 10%).

206 A atividade alelopática de *B. forficata* também foi observado no trabalho de Manoel  
 207 *et al.* (2009) sobre plântulas de *Lycopersicon esculentum* (tomate) que apresentou uma  
 208 redução do comprimento médio da raiz quando submetidas aos extratos fresco e seco.  
 209 Ribeiro *et al.* (2017), trabalhando com extrato de *Leucaena leucocephala*, uma espécie  
 210 leguminosa assim como a *B. forficata*, apresentou resultados semelhantes ao nosso estudo.  
 211 Para o comprimento médio da parte aérea e raiz de plântulas de *Cucumis sativus*, onde as  
 212 maiores proporções de extrato apresentaram uma maior redução do comprimento, porém a  
 213 massa seca não reduziu.

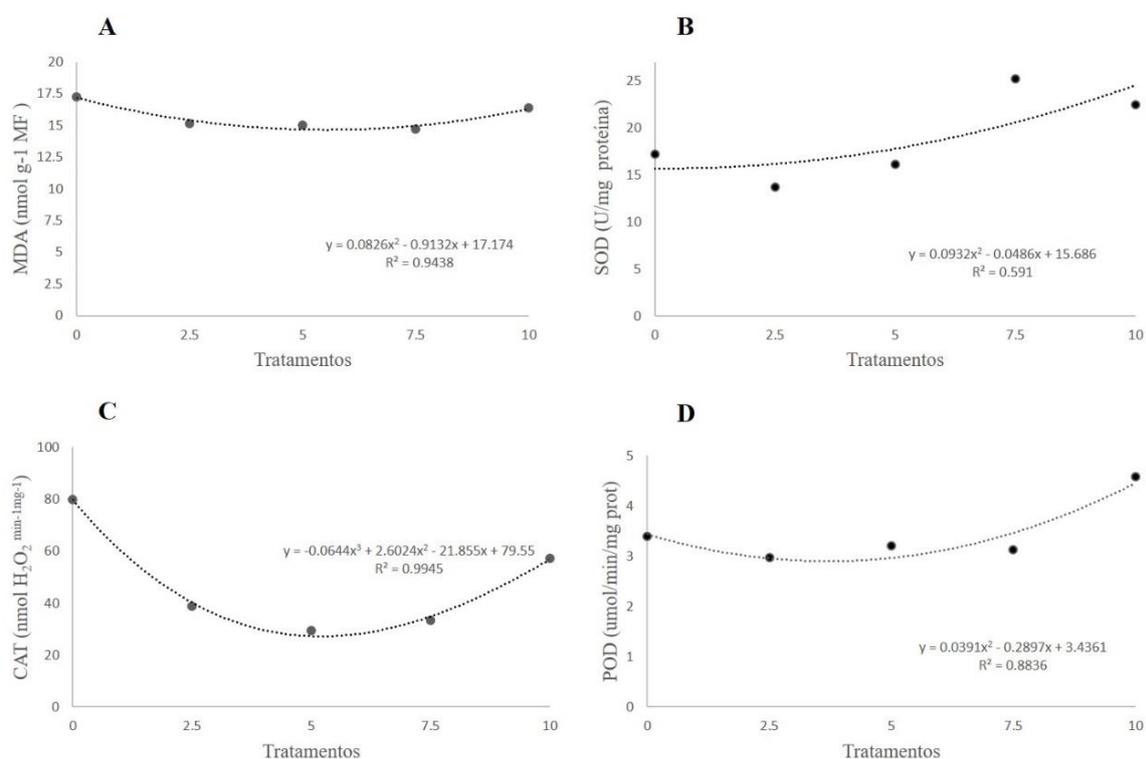
214 Mourão-filho e Souza filho (2010), relataram em estudos com o gênero *Bauhinia*, a  
215 redução do eixo da raiz de *Mimosa pudica*, quando expostas aos extratos das folhas de  
216 *Bauhinia guianensis*, afirmando que a raiz é órgão mais sensível à presença dos  
217 aleloquímicos em comparação com a parte aérea.

218 Segundo Alves & Santos (2002), a redução ou incremento dos órgãos da plântula  
219 pode ser explicado devido a influência do extrato sobre o balanço hormonal da plântula,  
220 conseqüentemente essa interferência é mais expressiva sobre a raiz, devido a sua alta  
221 capacidade de absorção e assim maior concentração de fitotoxinas nos tecidos radiculares,  
222 sendo mais sensível em relação a parte aérea (Souza Filho *et al.*, 2010). Além disso, o  
223 alongamento do sistema radicular depende de divisões celulares, que, se inibidas pela ação  
224 de aleloquímicos acarretam no comprometimento do seu desenvolvimento normal (Alves e  
225 Santos, 2002).

226 A inibição dos órgãos (raiz e parte aérea) das plântulas pode ser devido a presença  
227 de compostos fenólicos, visto que esses já foram identificados na composição de *B. forficata*  
228 por Silva e Filho (2002) e Marques *et al.* (2012), tais compostos podem afetar de forma  
229 negativa o desenvolvimento de plantas através da interferência no metabolismo energético,  
230 divisão celular, absorção mineral e processos biossintéticos (Zhang e Fu, 2010).

231 Segundo Weir *et al.* (2004) a redução da massa seca das plântulas pode estar  
232 relacionada com o estresse oxidativo causado pelos compostos aleloquímicos presentes no  
233 extrato, visto que as EROs podem causar alteração na permeabilidade das membranas,  
234 induzindo a peroxidação lipídica.

235 Produto da peroxidação lipídica, o MDA (malondealdeído) é um importante  
 236 marcador para avaliar injúria celular das membranas, em resposta ao estresse submetido, um  
 237 aumento no conteúdo de MDA pode refletir reduções no crescimento de plântulas (Ullah *et*  
 238 *al.*, 2015). A peroxidação lipídica (MDA) da parte aérea das plântulas de *P. vulgaris*,  
 239 ajustou-se ao modelo quadrático e apresentou baixos níveis de peroxidação lipídica, quando  
 240 submetidas aos tratamentos 2.5, 5 e 7.5%, apresentando tendência ao aumento no tratamento  
 241 10% (Fig. 3 A).



242 Figura 3. Peroxidação lipídica (MDA) e atividade enzimática (SOD, POD e CAT) da parte  
 243 aérea das plântulas de *P. vulgaris* submetidas aos tratamentos; 0% com água destilada e com  
 244 extrato aquoso de folhas secas de *B. forficata* (2.5, 5, 7.5 e 10%).

245 A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD), da parte  
 246 aérea das plântulas (Fig. 3 B, D), apresentam uma tendência ao aumento da atividade quando  
 247 submetidas aos tratamentos 5, 7,5 e 10%, e 7,5, 10%, respectivamente. Logo, o aumento da  
 248 atividade dessas enzimas (SOD e POD) possivelmente esteja ligado a resposta na elevação

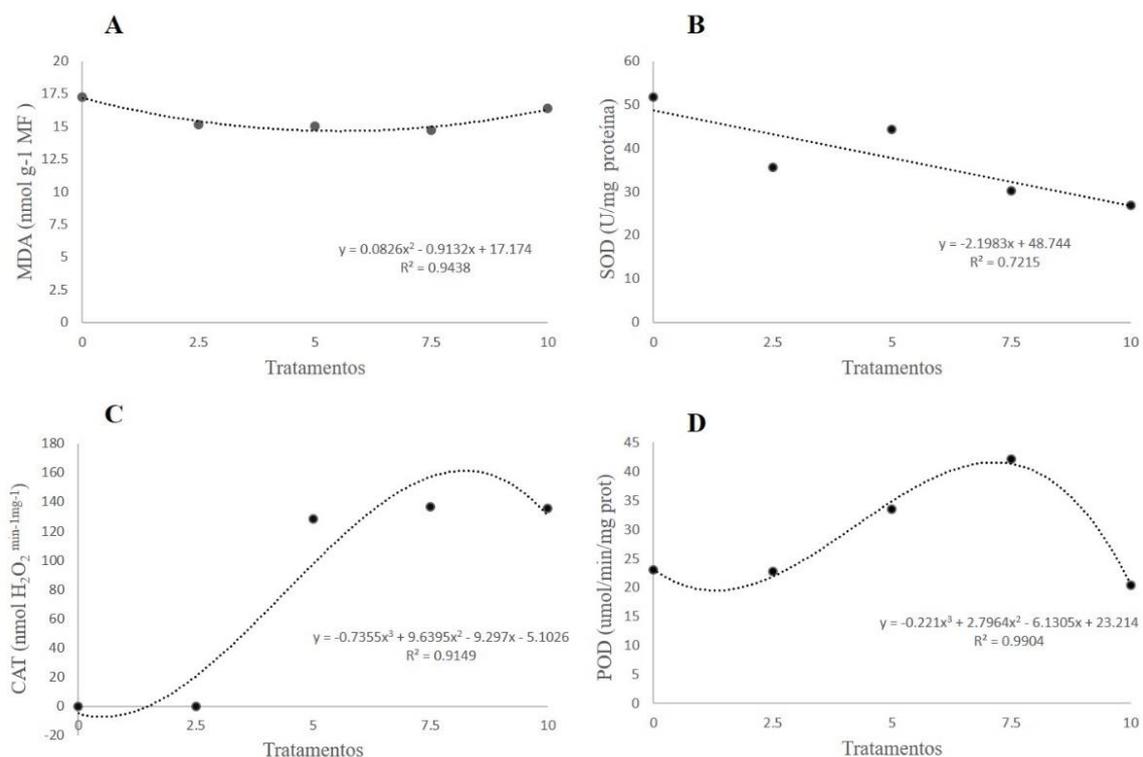
249 da quantidade de radicais superóxido e peróxido de hidrogênio, os quais podem ter  
250 comprometido as variáveis massa seca e comprimento de parte aérea valor devido à redução  
251 observada quando as plântulas de *P. vulgaris* foram submetidas a estes tratamentos (5, 7.5 e  
252 10%).

253 Na linha de defesa enzimática das plantas, a SOD é a primeira a atuar na eliminação  
254 das EROs, sendo responsável pela redução do radical superóxido ( $O_2^-$ ), um radical altamente  
255 instável que por sua vez é um dos responsáveis pela peroxidação lipídica das membranas de  
256 células vegetais, convertendo esse radical em  $H_2O_2$ , um radical moderado que é capaz de  
257 difundir-se através das membranas e atuar como mensageiro da condição de estresse  
258 (Alscher *et al.*, 2002; Scandalios, 2005; Barbosa *et al.*, 2014).

259 Para a atividade da enzima catalase na parte aérea (CAT) (Fig. 3 C), foi observado  
260 um decréscimo nos tratamentos de 2,5; 5 e 7,5%, com um aumento na atividade no  
261 tratamento 10%, sendo que o tratamento 0% foi o que apresentou maior atividade (79.92  
262 mKat  $mg^{-1}$  de proteína).

263 Por sua vez, a peroxidase e a catalase realizam a eliminação do radical gerado pela  
264 SOD, porém a POD possui uma maior afinidade pelo peróxido de hidrogênio em relação a  
265 CAT (Barbosa *et al.*, 2014). Provavelmente, a atividade das enzimas SOD, juntamente com  
266 a peroxidase, que possui uma maior afinidade para o  $H_2O_2$ , atuaram de forma mais eficiente  
267 na presença dos extratos de *B. forficata* da parte aérea (Wier *et al.*, 2004).

268 Os níveis de MDA na raiz das plântulas apresentaram ajuste ao modelo quadrático,  
269 porém com tendência a elevação dos níveis de MDA ao aumentar as proporções dos extratos  
270 aquosos, indicando dano à membrana devido a peroxidação lipídica, principalmente no  
271 tratamento 10% (17.83  $nmol\ g^{-1}$  massa fresca) (Fig. 4 A) que apresentou menor comprimento  
272 médio de raiz, 4.02cm e menor quantidade de massa seca 0.025g (Fig. 2 A).



273 Figura 4. Peroxidação lipídica (MDA) e atividade enzimática (SOD, POD e CAT) das raízes  
 274 das plântulas de *P. vulgaris* submetidas aos tratamentos; 0% com água destilada e com  
 275 extrato aquoso de folhas secas de *B. forficata* (2,5; 5; 7,5 e 10%).

276 Para as raízes das plântulas de feijão, a atividade da SOD apresentou tendência a  
 277 redução quando submetidas aos tratamentos com as maiores proporções do extrato aquoso  
 278 (Fig. 4 B). Essa baixa atividade da SOD, nas raízes, pode ter resultado em um maior dano  
 279 de membrana, devido as elevadas concentrações de MDA observadas nesse experimento  
 280 (Fig. 4 A). Assim, essa enzima não foi suficiente para eliminar os radicais superóxido que  
 281 por sua vez atuam na peroxidação lipídica da membrana plasmática (Alscher *et al.*, 2002;  
 282 Scandalios, 2005), comprometendo o comprimento médio das raízes (Fig. 2 A).

283 Já para as enzimas CAT e POD, ajustaram-se ao modelo cubico, sendo que a  
 284 metodologia utilizada para a CAT não foi suficiente para leitura nos tratamentos 0% e 2,5%.  
 285 Para os demais, apresentou uma tendência de aumento quando submetidas os tratamentos

286 com maiores proporções do extrato (5 e 7,5. A enzima POD teve sua atividade aumentada  
287 até o tratamento 7.5%, sendo que este foi o ponto máximo da sua atividade (42.1751  
288 umol/min/mg prot).

289 É visto que nas maiores proporções 10% a peroxidase apresenta uma tendência a  
290 reduzir sua atividade, assim como para a catalase em 10%. Sabendo que a catalase e a  
291 peroxidase possuem funções semelhantes na remoção de peróxido de hidrogênio (Weir *et*  
292 *al.*, 2004; Barbosa *et al.*, 2014), observamos que nesses tratamentos, essas enzimas, não  
293 foram suficientes na remoção de radicais livres, visto que o comprimento médio da raiz e a  
294 massa seca da raiz foram afetados negativamente.

295 As peroxidases da classe III (E.C.1.11.1.7), analisadas nesse estudo, fazem parte do  
296 grupo de enzimas que atuam na parede celular das células vegetais, responsáveis pela  
297 eliminação de radicais livres e manutenção dos níveis de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).  
298 Através dessa manutenção dos níveis desse radical, podem interferir na arquitetura da parede  
299 celular, tornando mais rígida ou flexível (Passardi *et al.*, 2005). Como identificado em *Allium*  
300 *cepa* L. por Cordoba-Pedregosa *et al.*, (2003), em que os níveis do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estavam diretamente  
301 ligados com a lignificação e crescimento dos tecidos na plântula.

302 Assim, podemos inferir que a presença dos aleloquímicos do extrato aquoso de *B.*  
303 *forficata* podem ter alterado a formação dos níveis de peróxido de hidrogênio nas células da  
304 raiz das plântulas de *P. vulgaris*, prejudicando o crescimento da raiz (Fig. 2 A), visto que as  
305 enzimas peroxidase (POD) e catalase (CAT), não foram suficientes para reduzir os níveis de  
306 peróxido de hidrogênio até um ponto em que eles pudessem atuar como sinalizadores  
307 promovendo o afrouxamento da parede celular.

308 O processo de afrouxamento das paredes celulares ocorre mediante a atividade da  
309 peroxidase, que por sua vez, gera o radical hidroxila através do ciclo hidroxílico, responsável

310 pela quebra das ligações covalentes entre os polissacarídeos de parede celular (Francoz *et*  
311 *al.*, 2015).

312 Semelhante a esses resultados, Bohm *et al.* (2006) verificaram que soluções mais  
313 concentradas do composto fenólico Juglone, isolados de nozes, inibiram o crescimento da  
314 raiz, bem como, a atividade da peroxidase em plântulas de *Glycine max* sendo essa inibição  
315 do crescimento relacionada à elevação nos níveis do peróxido de hidrogênio na região  
316 meristemática.

317 A baixa atividade da enzima catalase (CAT) na raiz dos tratamentos 0% e 2.5% pode  
318 indicar que a peroxidase (POD) (Fig. 4 C, D) seja suficiente na remoção dos níveis de  
319 peróxido de hidrogênio, no entanto com um aumento das proporções dos extratos, a atividade  
320 da catalase é aumentada, sugerindo assim, uma provável resposta as fitotoxinas presentes  
321 nos extratos de maiores proporções.

## 322 **Conclusão**

323 Os extratos aquosos das folhas de *Bauhinia forficata* apresentam atividade  
324 alelopática, inibindo o sistema enzimático antioxidativo, ocasionando danos de membrana  
325 (MDA), acarretando a diminuição do comprimento das plântulas, devido ao estresse gerado  
326 durante o desenvolvimento e crescimento das plântulas de *Phaseolus vulgaris*.

## 327 **Referências**

328 Almeida, G.D.; Zucoloto, M.; Zetun, M.C.; Coelho, I.; Sobreir, F.M. (2008) - Oxidative  
329 stress in vegetable cells mediated by allelochemicals. *Revista Facultad Nacional Agronomía*  
330 *Medellín*, vol. 61, n. 1, p. 4237-4247.

331

332 Alves, S. M. & Santos, L. S. (2002) - Natureza química dos agentes alelopáticos. *In*: Souza  
333 Filho, A. P. S.; Alves, S. M. (Ed.). - *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais*. Belém:  
334 Embrapa Amazônia Oriental, p. 25-47.

335

336 Alscher, R.G.; Erturk, N.; Heath, L.S. (2002) - Role of superoxide dismutases (SODs) in  
337 controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, vol.53, p.:1331–1341.

338

339 Apel, K. & Hirt, H. (2004) - Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and  
340 signal transduction. *Annual Review Plant Biology*, vol. 55, p. 373-399.

341

342 Aumonde, T.Z.; Martinazzo, E.G.; Pedó, T.; Borella, J.; Amarante, L.; Villela, F.A &  
343 Moraes, D.M. (2015) - Desempenho fisiológico e metabolismo antioxidativo de plântulas  
344 de arroz-vermelho sob ação do extrato de *Philodendron bipinnatifidum* Schott. *Iheringia*  
345 vol.70, n. 1, p. 47-56.

346

347 Azevedo, R.A.; Alas, R.M.; Smith, R.J. & Lea, P.J. (1998) - Response of antioxidant  
348 enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves  
349 and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum*,  
350 Vol. 104, p. 280-292.

351

352 Barborsa, M.R.; Sailva, M.M.A.; Willadino, L.; Ulisses, C. & Camara, T.R. Geração e  
353 desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, v.44,  
354 n.3, p.453-460, 2014.

355

356 Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa  
357 Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília: Mapa/ACS; 2009. 399 p.

358

359 Bradford, M.M. (1976) - A rapid and sensitive method for the quantification of microgram  
360 quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*,  
361 New York, vol. 72, p. 248-254.

362

363 Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971) - Superoxide dismutase improved as says and as say  
364 applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, New York, vol. 44, p. 276-287.

365

366 Bohm, P.A.F.; Zanardo, F.M.L.; Ferrarese, M.L.L. & Ferrarese, O.F. (2006) Peroxidase  
367 activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone. *Biologia plantarum*  
368 vol. 50, n. 2, p. 315-317.

369

370 Carpanezi, A.A. & Carpanezi, O.T.B. (2006) - *Espécies Nativas Recomendadas para*  
371 *Recuperação Ambiental no Estado do Paraná, em Solos Não Degradados*. 1 ed. Colombo:  
372 Embrapa Florestas. 15-56 p.

373

374 Cordoba-Pedregosa, M.C.; Cordoba, F.; Villalba, J.M. & Gonzalez-Reyes, J.A. (2003) -  
375 Zonal changes in ascorbate and hydrogen peroxide contents, peroxidase, and ascorbate-  
376 related enzyme activities in onion roots. *Plant Physiology*. Vol. 131, n. 2, p. 697-706.

377

378 Francoz, E.; Ranocha, P.; Nguyen-Kim, H.; Jamet, E.; Burlat, V. & Dunand, D. (2015) –  
379 Roles of cell wall peroxidases in plant development. *Phytochemistry*. Vol. 12, p. 15-21.

380

381 Ferreira, A. & Aquila, M.A. (2000) - Alelopátia: uma área emergente da ecofisiologia.  
382 *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. Vol. 12, p. 175-204.

383

384 Gill, S.S. & Tuteja, N. (2010) - Reactive oxygen species and antioxidante machinery in  
385 abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol.48, p. 909-  
386 930.

387

388 Heath, R.L. & Packer, L. (1968) - Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and  
389 stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Vol.  
390 125, n. 1, p. 189-198.

391

392 Lorenzi, H. (2002) - *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas*  
393 *arbóreas nativas do Brasil*. Volume 1, 4 ed. São Paulo, Nova Odessa, 159 p.

394

395 Manoel, D.D.; Doiche, C.F.R.; Ferrari, T.B. & Ferreira, G. (2009) - Atividade alelopática  
396 dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.)  
397 Coville) e pata-de vaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento  
398 inicial de plântulas de tomate. *Semina (Ciências Agrárias)*. Vol. 30, n. 1, p. 63-70.

399

400 Marques, G.S.; Lyra, M.A.M.; Peixoto, M.S., Monteiro, R.P.M.; Leão, W.F. & Xavier, H.S.  
401 (2012) - Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de *Bauhinia forficata* Link  
402 coletada em duas regiões brasileiras. *Revista de Ciências Farmceuticas Básica e aplicada*.  
403 Vol. 33, n. 1, p. 57-62.

404

405 Meira, R.O. (2016) - Alelopátia entre espécies de diferentes categorias sucessionais  
406 utilizadas na restauração ecológica. Tese de mestrado. Cascavel, Centro de ciências  
407 Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 96 p.

408

409 Mourão Junior, M. & Souza Filho, A.P.S. (2010) - Diferenças no padrão da atividade  
410 alelopática em espécies da família leguminosae. *Planta Daninha*. Vol. 28, p. 939-951.

411

412 Resende, L.A.; Pinto, L.V.A.; Santos, E.C. & Silva, S. (2015) - Crescimento e sobrevivência  
413 de espécies arbóreas em diferentes modelos de plantio na recuperação de área degradada por  
414 disposição de resíduos sólidos urbanos. *Revista Árvore*. Vol. 39, n. 1, p.147-157.

415

416 Rezende, C.P.; Pinto, J.C.; Evangelista, A.R. & Santos, I.P.A. (2003) - Alelopátia e suas  
417 interações na formação e manejo de pastagens. *Boletim Agropecuário*. Vol. 54, p.1-55.

418

419 Ribeiro, V.M.; Spiassi, A.; Marcon, T.R.; Lima, G.P.; Corsato, J.M. & Fortes, A.M.T. (2017)  
420 - Antioxidative enzymes of cucumis sativus seeds are modulated by *Leucaena leucocephala*  
421 extracts. *Acta Scientiarum*. Vol.39, p.373-380.

422

423 Reigosa, M.J.; Sánchez-Moreiras A. & González, L. (1999) - Ecophysiological approachh  
424 in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, Boca Raton, vol. 18, n. 5, p. 577-608.

425

426 Souza filho, A. P. S.; Guilhon, G. M. S. P.; Santos, L. S. Metodologias empregadas em  
427 estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório-Revisão crítica.  
428 *Planta Daninha*, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.

429

430 Silva, K.L. & Filho, V.C. (2002) - Plantas do gênero Bauhinia: composição química e  
431 potencial farmacológico. *Química nova*. 2002;25: 449-454.

432

433 Teisseire, H. & Guy, V. (2000) - Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities  
434 in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Science*, Amsterdam, vol. 153, p. 65-72.

435

436 Zhang, C. & Fu, S. (2010) - Allelopathic effects of leaf litter and live roots exudates of  
437 Eucalyptus species on crops. *Allelopathy Journal*. Vol. 26, p. 91–99.

438

439 Wier, T.L.; Park, S.W. & Vivanco, J.M. (2004) - Biochemical and physiological mechanisms  
440 mediated by allelochemicals. *Current opinion in Plant Biology*. Vol.7, p. 472-479.

441

442 Ullah N.; Haq I.U.; Safdar N. & Mirza B. (2015) - Physiological and biochemical  
443 mechanisms of allelopathy mediated by the allelochemical extracts of *Phytolacca latbenia*  
444 (Moq.) H. Walter. *Toxicology and industrial health*. Vol. 31, p. 931-937.

445

446 Scandalios J.G. (2005) - Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals  
447 triggering antioxidant gene defences. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*.

448 Vol.38, p. 995-1014.

449

450 Passardi, F., C. Cosio, C. Penel & C. Dunand, (2005) - Peroxidases have more functions  
451 than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*. Vol. 24, p. 255–265.

452

## **Anexo II**

Normas da revista de *Ciências Agrárias de Portugal*

ISSN: 0871-018x

Classificação Qualis 2013-2016 – Ciências Ambientais: B1

### **Escopo e política**

- **A Revista de Ciências Agrárias edita artigos científicos ou técnicos e revisões bibliográficas, inéditos, no âmbito das Ciências Agrárias e afins, e aceita manuscritos de sócios e não sócios da Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal (SCAP);**
- **Uma vez recebidos, os manuscritos serão escrutinados pelo Editor-Chefe. Caso o manuscrito seja selecionado para avaliação, o Editor-Chefe endereçará o manuscrito ao Editor Associado referente à área científica correspondente. Caso considere o manuscrito pertinente para avaliação, o Editor Associado remeterá o manuscrito para avaliação por dois revisores especializados por si selecionados e emitirá um parecer (no sentido da aceitação, rejeição ou da necessidade de correções) tomando em consideração os comentários dos revisores bem como a sua própria apreciação do manuscrito;**
- **Os autores deverão assegurar que os manuscritos submetidos não sejam enviados para nenhuma outra publicação;**
- **A doutrina dos artigos é da exclusiva responsabilidade do(s) autor(es);**
- **Todos os direitos de edição pertencem à Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal;**
- **Os interessados deverão observar as normas fixadas sobre a apresentação dos trabalhos.**

- No âmbito do processo editorial de apreciação dos manuscritos submetidos à Revista de Ciências Agrárias procurar-se-á assegurar que os trabalhos não enfermem de qualquer forma de plágio, duplicação ou outras condutas anti-éticas.
- Os artigos publicados são de acesso livre na rede pública de internet, sendo permitido a qualquer utilizador a leitura, descarregamento, cópia, distribuição, impressão, pesquisa ou ligação aos textos destes artigos, indexação, alimentação como dados a software, ou usá-los para qualquer outro objetivo no cumprimento da lei, sem barreiras financeiras, legais, ou técnicas para além daquelas inseparáveis do processo de acesso à internet em si.

#### Forma e preparação de manuscritos

Os artigos devem ter a seguinte estrutura:

Os manuscritos deverão ser escritos de forma clara e sucinta, em Português, Inglês ou Espanhol. As palavras usadas em língua diferente do texto principal devem surgir em *itálico*. Devem ser utilizadas as unidades padrão do SI.

Os manuscritos não podem exceder as 20 páginas A4, utilizando fonte Times New Roman, corpo 12, justificado, e deverão incluir numeração de linhas, que deverá ser consecutiva ao longo de todo o documento. O espaçamento deverá ser duplo, incluindo páginas com quadros, legendas de figuras, notas de rodapé e citações. O cabeçalho e o rodapé devem ser de 2,5 cm e as margens esquerda e direita de 3 cm. Não reentrar qualquer subtítulo ou parágrafos.

**Título** – Corpo 14, negrito, alinhado à esquerda, seguido da sua tradução em Inglês (ou Português, se a língua principal for Inglês ou Espanhol), corpo 12, negrito, espaçamento de uma linha entre títulos. Indicar um título resumido com um máximo de 50 caracteres, caso o título exceda este limite na língua principal.

**Autor(es)** – Deve ser indicado o nome de todos os autores, mas apenas o nome próprio e o apelido por extenso, em corpo 12, alinhado à esquerda, separando cada autor por vírgulas, sendo o último antecedido da palavra “e”. O espaçamento entre os títulos e os nomes dos autores deverá ser de duas linhas. Deverá ser indicada a afiliação institucional completa de todos os autores, incluindo o nome da instituição (Ex: Departamento/Centro, Faculdade e Universidade), cidade e país. O autor para

correspondência deverá ser assinalado com um asterisco (\*). No caso de haver mais que uma instituição, estas devem ser numeradas sequencialmente e essa numeração deve ser reproduzida após o apelido de cada autor em formato superior à linha . Após as afiliações, deverá surgir uma linha contendo a indicação do endereço de correio eletrónico do autor para correspondência de acordo com o seguinte exemplo “(\*E-mail: abc@def.gh)”. As afiliações e endereço de correio eletrónico serão em corpo 10, em itálico, alinhado à esquerda, com o espaçamento de uma linha.

Os artigos deverão ser divididos, sempre que possível, em secções na seguinte ordem: **Resumo** , **Palavras-chave** , **Abstract** , **Keywords** , **Introdução** , **Material e Métodos** , **Resultados**, **Discussão** (ou **Resultados e Discussão** combinados numa só secção ), **Conclusões** , **Agradecimentos** (opcional) e **Referências bibliográficas** . Os títulos das secções deverão ser indicados em **negrito**. Os títulos de subsecções deverão ser indicados em **itálico não negrito** e as sub-subsecções deverão ser formatadas em **estilo sublinhado não itálico não negrito**.

Ex.:

**Materiais e Métodos**

**Material vegetal**

**Colheitas de campo**

**Resumo e Abstract** – cada um não deve exceder 200 palavras.

**Palavras-chave e Keywords** – não mais de cinco palavras, separadas por vírgulas, Com espaçamento de uma linha do resumo.

**Quadros e Figuras** – Em fonte Times New Roman , devem ter numeração árabe sequencial (Ex: Quadro 1 – Produção de sementes). Os quadros e figuras serão entregues em ficheiro separado. Devem ser todos citados no texto, em ordem numérica, devendo ser sinalizado o local desejado da sua inserção. Os quadros não devem ter mais de 120 caracteres de largura. Todo o texto dentro do quadro deve ser em letra minúscula, excepto a primeira letra de uma frase. Todos os dados experimentais devem ser apresentados na forma de quadro ou gráfico, nunca nas duas formas. Os gráficos devem incluir os pontos relativos aos dados e as equações

relevantes. As legendas devem ser acima dos quadros e em baixo das figuras. As figuras devem ter 300 d.p.i. ou mais.

**Material suplementar – Informação relevante mas que pela sua natureza e/ou extensão não seja exequível a sua publicação no corpo do artigo poderá ser submetida (e publicada) na forma de material suplementar, devendo este restringir-se a um único ficheiro no formato pdf , com um máximo de 5 Mb.**

**Referências bibliográficas - As referências devem ser citadas no texto da seguinte forma: – Martínez (1999) ou (Martínez, 1999) e Radish e Baptist (2005). Quando existam mais de dois autores, apenas o primeiro deverá ser citado, seguido de “ et al. ”. As referências devem ser ordenadas alfabeticamente, pelo apelido do primeiro autor, e cronologicamente para várias referências com idêntica autoria. Nestas circunstâncias, e quando exista mais que uma citação para o mesmo ano, a citação no texto deve ser acrescida da letra (a,b,c...) que permita uma correspondência inequívoca com a referência bibliográfica (ex: Martinez, 1999a). Sempre que disponível, deve ser fornecido o DOI de qualquer referência bibliográfica. Salienta-se o sistema de pontuação nos exemplos seguintes:**

**Artigo em revista:**

**Monteiro, F.; Marques, P. & Madeira, M. (2015) - São os Podzóis dominantes nas formações arenosas do litoral português? O caso da Mata Nacional de Leiria. Revista de Ciências Agrárias , vol. 38, n. 4, p. 455-472. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA15135>**

**Livro:**

**Martínez, H.E.P. (1999) – O uso do cultivo hidropônico de plantas em pesquisa . 2ª ed. Viçosa, Imprensa Universitária, 47 p.**

**Capítulo em livro:**

**Bierhuizen, J.F. (1973) - The effect of temperature on plant growth, development and yield. In: Slatyer, R.O. (Ed.) – Plant responses to climatic factors . Paris, Unesco, p. 89-98.**

**Teses ou Dissertações:**

**Ker, J.C. (1995) - Mineralogia, sorção e desorção de fosfato, magnetização e elementos traços em latossolos do Brasil . Tese de Doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 181 p.**

**Atas de Congressos/Conferências:**

**Bickerstaffe, R.; Couter, E.C. & Morton, J.D. (1997) - Consistency tenderness of retail meat in New Zealand. In: Proceedings of the 43rd International Congress of Meat Science and Technology . Auckland, New Zealand, ICOMST, p. 196-197.**

**Documentos electrónicos:**

**Radish, M.C. & Baptist F.O. (2005) - Floresta e sociedade: um percurso (1875-2005). Silva Lusitana , vol. 13, n. 2, p. 143-157. [cit. 2006-06-14].**  
<<http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/slu/v13n2/v13n2a01.pdf>>.

**A Revista aceita ainda Comunicações breves , destinadas à publicação de trabalhos relevantes mas que, pela sua natureza, apresentam uma extensão mais reduzida que a de um artigo completo. Não deverão exceder as 2000 palavras no total (dos títulos ao final das referências bibliográficas, incluindo legendas de Quadros e Figuras), contendo no máximo um quadro, uma figura e 10 referências bibliográficas. O Resumo e o Abstract não deverão exceder as 100 palavras. O texto principal não deverá ser estruturado em secções, admitindo-se apenas o Resumo, as Palavras-chave, o Abstract e as Key-words, bem como os Agradecimentos e as Referências bibliográficas. Aplicam-se as restantes indicações fornecidas para artigos completos.**

**Submissão: Os manuscritos deverão ser enviados à Comissão Editorial da Revista de Ciências Agrárias , por correio eletrónico para revista@scap.pt, em ficheiro com o nome do artigo resumido, em formato Microsoft Word. Os quadros e figuras deverão ser entregues em ficheiro separado, com o nome “Elementos de nome do artigo ”.**

**As ilustrações coloridas serão reproduzidas na publicação em linha, sem nenhum custo adicional para o autor. Na publicação impressa, no entanto, as ilustrações serão**

**impressas a preto e branco, a menos que o autor suporte o custo total (50 € por cada página a cores) envolvido na reprodução das ilustrações a cores.**

**Custos de publicação: Para os não sócios da SCAP, a publicação de cada artigo aceite é de 150 € (cento e cinquenta Euros). Para assegurar a isenção do pagamento da taxa de publicação, pelo menos um dos autores deverá ser sócio da SCAP antes da data de submissão do manuscrito. O artigo só pode ser publicado após boa cobrança, sendo todas as despesas de transferência suportadas pelos autores. Não é cobrada qualquer taxa de submissão.**