

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

RENNAN OLIVEIRA MEIRA

ALELOPATIA ENTRE ESPÉCIES DE DIFERENTES CATEGORIAS
SUCCESIONAIS UTILIZADAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA

CASCATEL-PR

Abril/2016

RENNAN OLIVEIRA MEIRA

ALELOPATIA ENTRE ESPÉCIES DE DIFERENTES CATEGORIAS
SUCESSIONAIS UTILIZADAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA

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: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Maria Teixeira Fortes

Co-orientadora: Profa. Dra. Jaqueline Malagutti Corsato

CASCADEL-PR

Abril/2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M452a

Meira, Rennan Oliveira

Alelopatia entre espécies de diferentes categorias sucessionais utilizadas na restauração ecológica./Rennan Oliveira Meira. Cascavel, 2016.
97 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andréa Maria Teixeira Fortes

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Jaqueline Malagutti Corsato

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Campus de Cascavel, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de
Recursos Naturais

1. Adubo verde. 2. *Cajanus cajan*. 3. Enzimas antioxidantes. 4. Sucessão ecológica. 5. *Bauhinia forficata*. 6. *Parapiptadenia rígida*. I. Fortes, Andréa Maria Teixeira. II. Corsato, Jaqueline Malagutti. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 20.ed. 631.874

CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9^a/965

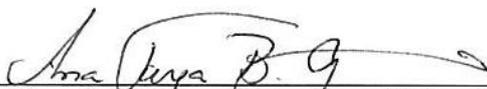
RENNAN OLIVEIRA MEIRA

**“ALELOPATIA ENTRE ESPÉCIES DE DIFERENTES CATEGORIAS SUCESSIONAIS
UTILIZADAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA”.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de 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, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Prof. Dra. Andrea Maria Teixeira Fortes
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente Orientadora)



Prof. Dra. Ana Tereza Bittencourt Guimarães
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dra. Luciana Alves Fogaça
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Aprovada em 25 de abril de 2016.

Local da defesa: Sala 56

Prédio de Salas de Aula, Unioeste, Cascavel-PR.

Dedico, este trabalho à minha família (meu pai, minha mãe e minha irmã), que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e me incentivando, em mais essa caminhada.

"O conhecimento serve para encantar as pessoas, não para humilhá-las."

Mario Sergio Cortella

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela proteção e força, me iluminando e guiando para que eu pudesse concluir mais esta jornada da minha vida.

A minha orientadora Profa. Dra. Andréa Maria Teixeira Fortes pela oportunidade, por me orientar e ter compartilhado todo o seu conhecimento, permitindo assim, o aprimoramento da minha formação na Fisiologia Vegetal.

A minha co-orientadora Profa. Dra. Jaqueline Malagutti Corsato, por todo seu apoio e dedicação me inserindo nesse mundo de Bioquímica das Plantas, pelas trocas de experiências dentro e fora do laboratório sempre me incentivando para a realização desse trabalho.

As minhas colegas de laboratório que nunca mediram esforços para me ajudar, estando ao meu lado em todos os momentos, e acabaram se tornando minha segunda família, já que passamos muito mais tempo juntos durante esses dois anos de dedicação.

A Ivone, nossa técnica de laboratório, uma grande amiga/mãe que sempre nos socorre com o sorriso aberto.

Agradeço principalmente a minha família, minha mãe (Cirlei), meu pai (Sebastião) e minha irmã (Rayssa), por serem a base de tudo, sempre me dando apoio e me incentivando nessa caminhada do mundo da pesquisa, com todo o carinho e o conforto, em todos os momentos possíveis e impossíveis.

E a todos aqueles que tiveram alguma participação seja ela direta ou indireta, ao longo do mestrado, merecem todo meu agradecimento e a minha gratidão.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa.

Obrigado...

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1	1
ATIVIDADE ALELOPÁTICA E ESTRESSE OXIDATIVO DE FEIJÃO GUANDU DURANTE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE TOMATE.....	2
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	4
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4. CONCLUSÃO	34
5. REFERÊNCIAS	35
ANEXO I.....	42
CAPÍTULO 2	47
ALELOPATIA ENTRE ESPÉCIES DE DIFERENTES CATEGORIAS SUCESSIONAIS UTILIZADAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA	48
RESUMO	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS.....	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS.....	76
ANEXO I.....	82

RESUMO

O uso da adubação verde com diferentes espécies florestais nativas, destaca-se entre as técnicas alternativas para restauração das mesmas. Essa convivência (adubação verde + espécies florestais) pode ser influenciada pela liberação de compostos químicos no ambiente, fenômeno conhecido como alelopatia. Deste modo, a presente dissertação foi dividida em dois capítulos elaborados na forma de artigo. No primeiro capítulo, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade alelopática do extrato aquoso do adubo verde *Cajanus cajan* (feijão guandu) por meio da análise do estresse oxidativo sobre o tomate, em condições laboratoriais. Como resultado, houve aumento da atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase e peroxidase nas menores proporções, no entanto a 10% as enzimas não foram eficientes na detoxificação dos tecidos resultando em maior peroxidação lipídica, durante a germinação, evidenciando efeito inibitório, assim como nas plântulas, resultando em menores comprimentos de raiz e parte aérea na proporção 10%. Portanto, o extrato aquoso de feijão guandu apresenta atividade alelopática, inibindo o sistema antioxidativo, ocasionando danos de membrana, retardando a germinação das sementes e diminuindo o comprimento radicular das plântulas de tomate. No segundo capítulo, o objetivo foi avaliar o efeito alelopático do adubo verde *C. cajan*, sobre a espécie pioneira *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) e secundária inicial *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho), além de avaliar a influência alelopática da espécie pioneira sobre a espécie secundária inicial. O extrato aquoso de *C. cajan* exerceu efeito positivo, principalmente, nas menores proporções (2,5 e 5%) para as sementes e plântulas de *B. forficata*, já para *P. rigida* apresentou efeito inibitório nas maiores proporções (7,5 e 10%). O extrato aquoso de *B. forficata* sobre a secundária *P. rigida*, atrasou a germinação e diminuiu o número de sementes germinadas por dia, além de influenciar no crescimento das plântulas diminuindo o comprimento médio da raiz e parte aérea, na proporção 10%. Desse modo, o adubo verde *C. cajan*, apresenta efeitos alelopáticos benéficos sobre a germinação e desenvolvimento inicial da espécie pioneira *B. forficata*, porém o mesmo não acontece sobre a espécie secundária inicial *P. rigida*. Além disso, a pioneira apresenta efeitos inibitórios sobre *P. rigida*, conforme o aumento da proporção do extrato, tanto na germinação quanto no desenvolvimento inicial.

Palavras-chave: Adubo verde, *Cajanus cajan*, enzimas antioxidantes, sucessão ecológica, *Bauhinia forficata*, *Parapiptadenia rigida*.

ABSTRACT

The use of green manure with different native species stands out among the alternative techniques for restoring them. This coexistence (green manure + forest species) may be influenced by the release of chemicals in the environment, a phenomenon known as allelopathy. Thus, the present work was divided in two sections made in the form of an article. In the first chapter, the objective of this study was to evaluate the allelopathic activity of aqueous extract of green manure *Cajanus cajan* (pigeon pea) by oxidative stress analysis of tomato, under laboratory conditions. As a result, there has been increased activity of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in minor proportions, however 10% of the enzymes were not effective in detoxification of tissues resulting in increased lipid peroxidation during germination, showing inhibitory effect, as well as in seedlings, resulting in lower root length and shoot in the proportion 10%. Therefore, the aqueous extract of pigeonpea has allelopathic activity, inhibiting the antioxidative system, causing damage membrane, delaying the germination of seeds and reducing the length of the root tomato seedlings. In the second chapter, the objective was to evaluate the allelopathic effect of green manure *C. cajan* on the pioneer species *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) and early secondary *P. rigida* (angico-vermelho), and to evaluate the allelopathic influence of the species pioneer of the early secondary species. The aqueous extract of *C. cajan* had a positive effect, especially in smaller proportions (2.5 and 5%) for the seeds and seedlings of *B. forficata*, as for *P. rigida* showed inhibitory effect in the highest proportions (7.5 and 10%). The aqueous extract of *B. forficata* on secondary *P. rigid*, delayed germination and decreased the number of germinated seeds per day, besides influencing seedling growth decreasing the average length of roots and shoots in the proportion 10%. Thus, the green manure *C. cajan*, has beneficial allelopathic effects on germination and early development of pioneer species *B. forficata*, but the same is not true of the initial *P. rigida* secondary species. Furthermore, the pioneering has inhibitory effects on *P. rigida*, with increasing proportion of the extract, during germination and early development.

Keywords: Green manuring, *Cajanus cajan*, antioxidant enzymes, ecological succession, *Bauhinia forficata*, *Parapiptadenia rigid*.

CAPÍTULO 1

ATIVIDADE ALELOPÁTICA E ESTRESSE OXIDATIVO DE FEIJÃO GUANDU DURANTE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE TOMATE

O artigo segue as normas sugeridas pela revista *Bragantia* citada em Anexo I do Capítulo 1.

1 **ATIVIDADE ALELOPÁTICA E ESTRESSE OXIDATIVO DE FEIJÃO**
2 **GUANDU DURANTE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE**
3 **TOMATE**

4 **ALLELOPATHIC ACTIVITY AND STRESS OXIDATIVE OF**
5 **PIGEONPEA DURING GERMINATION AND INITIAL DEVELOPMENT OF**
6 **TOMATO**

7 Rennan Oliveira Meira; Andréa Maria Teixeira Fortes; Jaqueline Malagutti Corsato

8
9 **RESUMO**

10 A adubação verde destaca-se entre as técnicas alternativas, por promover melhorias no
11 solo, além de exercer importante efeito no manejo das doenças e de plantas indesejáveis
12 pelos efeitos físicos e/ou alelopáticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade
13 alelopática do extrato aquoso do adubo verde feijão guandu (*C. cajan*) por meio da
14 análise do estresse oxidativo, ao longo da germinação e desenvolvimento inicial do
15 tomate. Foi obtido o extrato aquoso da massa seca do guandu nas proporções 0; 2,5; 5;
16 7,5 e 10% (p/v). Foram avaliados atividade das enzimas superóxido-dismutase, catalase
17 e peroxidase, peroxidação lipídica, durante a germinação e no desenvolvimento inicial,
18 além de, porcentagem germinação, índice de velocidade, tempo médio, sincronização e
19 frequência da germinação, índice de resposta a efeitos alelopáticos, comprimento médio
20 de raiz e parte aérea do tomate. Houve aumento da atividade das enzimas superóxido-
21 dismutase, catalase e peroxidase nas menores proporções, no entanto a 10% as
22 enzimas não foram eficientes na detoxificação dos tecidos resultando em maior
23 peroxidação lipídica, durante a germinação. O extrato 10% reduziu o desempenho
24 fisiológico das sementes de tomate, evidenciando também, maior efeito inibitório. Nas

25 plântulas, as enzimas tiveram maiores atividades nas menores proporções do extrato, na
26 proporção 10% elas não foram eficientes, resultando em maior peroxidação lipídica e
27 conseqüentemente menores comprimentos de raiz e parte aérea. Desse modo, o extrato
28 aquoso de feijão guandu, apresenta atividade alelopática, inibindo o sistema
29 antioxidativo, ocasionando danos de membrana, retardando a germinação das sementes
30 e diminuindo o comprimento radicular das plântulas de tomate.

31 **Palavras-chave:** alelopatia, adubo verde, *Cajanus cajan*, enzimas antioxidantes, extrato
32 aquoso, *Solanum lycopersicum*.

33

34 **ABSTRACT**

35 Green manure stands out among alternative techniques, to promote improvements in the
36 soil, and have an important effect on the management of diseases and unwanted plants
37 by physical and / or allelopathic effects. The objective of this study was to evaluate the
38 allelopathic activity of aqueous extract of green manure pigeonpea (*C. cajan*) by
39 oxidative stress analysis along the germination and initial development of the tomato. It
40 was obtained aqueous extract of the dry mass of pigeonpea in the proportions 0; 2.5; 5;
41 7.5 to 10% (w / v). We evaluated the activity of superoxide dismutase, catalase and
42 peroxidase, lipid peroxidation, during germination and early development, and,
43 percentage germination speed index, average time synchronization and frequency of
44 germination, response rate to allelopathic effects, average length of root and shoot.
45 There was increased activity of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in
46 minor proportions, however 10% of the enzymes were not effective in detoxification of
47 tissues resulting in increased lipid peroxidation during germination. The extract 10%
48 reduced the physiological performance of tomato seeds, showing also a greater
49 inhibitory effect. In seedlings, the enzymes had higher activities in smaller proportions

50 of the extract in the proportion 10% they were not effective, resulting in increased lipid
51 peroxidation and consequentemente smaller root length and shoot. Thus, the aqueous
52 extract of *Cajanus cajan*, presents allelopathic inhibiting the antioxidant system,
53 resulting in membrane damage by delaying the germination of seeds and decreasing the
54 root length of the tomato seedlings.

55 **Key words:** allelopathy, antioxidant enzymes, aqueous extract, *Cajanus cajan*, green
56 manure, *Solanum lycopersicum*.

57

58 1. INTRODUÇÃO

59 Mudanças na política global com diretrizes ecológicas, associado a crescente
60 demanda por produtos orgânicos e as restrições impostas pelos países importadores
61 quanto à qualidade e à segurança alimentar, têm gerado a necessidade de estudos de
62 técnicas alternativas para a produção orgânica, que aumenta a cada dia mais, em
63 resposta aos danos provocados à saúde humana pela utilização descontrolada de adubos
64 minerais e de agroquímicos (Fontanetti et al., 2004; Copping & Duke, 2007).

65 A adubação verde destaca-se entre essas técnicas, definida como prática
66 conservacionista pela qual certas espécies de plantas são cultivadas e, a seguir,
67 incorporadas ou mantidas na superfície do solo, em determinado estágio fenológico,
68 com a finalidade de assegurar ou aumentar a capacidade produtiva do mesmo (Calegari
69 et al., 1993).

70 Uma espécie de adubação verde com grande potencial de uso em diferentes
71 regiões do Brasil, como na recuperação de áreas degradadas, alimentação animal e
72 protetora do solo é o feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), espécie leguminosa
73 pertencente à família Fabaceae, nativa da África Tropical Ocidental, com porte

74 arbustivo e crescimento rápido, de 2 a 3 metros de altura, com potencial produtivo de
75 massa seca para a cobertura do solo no estágio inicial (restauração física), cobrindo
76 rapidamente o solo e aumentando a biomassa inicial do sistema (Fernandes et al., 1999;
77 Alves et al., 2004). Além do importante papel na adubação por meio da fixação de
78 nitrogênio (restauração química), a espécie possui ciclo de vida de até três anos, o que
79 dificulta uma ação invasora (Beltrame & Rodrigues, 2008), no entanto, pouco se
80 conhece sobre a sua ação alelopática.

81 O uso da adubação verde promove melhorias físicas, químicas e biológicas do
82 solo, além de exercer importante efeito no manejo das doenças e de plantas invasoras
83 pelos efeitos físicos e/ou alelopáticos (Fontanetti et al., 2004), pois produz substâncias
84 químicas, que podem contribuir para sua sobrevivência e ou desenvolvimento de
85 mecanismos de defesa.

86 Essas substâncias são metabólitos bioativos (aleloquímicos) oriundos do
87 metabolismo secundário dos vegetais. Via de regra, são substâncias solúveis em água,
88 destacando-se as saponinas, os taninos, os alcalóides, os terpenóides e os flavonóides,
89 que são liberadas diretamente no ambiente por meio de lixiviação, exsudação das raízes
90 e volatilização, bem como pela decomposição de resíduos vegetais (Alves et al., 2004).

91 Na natureza a ação desses aleloquímicos podem influenciar no crescimento e
92 desenvolvimento de sistemas biológicos circundantes (Razavi, 2011). No entanto, o
93 mecanismo de ação dos aleloquímicos pode afetar os processos de respiração,
94 fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, abertura de estômatos, nível de
95 fitormônios, disponibilidade mineral, divisão e alongamento celular, estrutura e
96 permeabilidade de membranas e parede celular, sendo que muitos desses processos
97 ocorrem em função do estresse oxidativo (Resende & Pinto, 2003).

98 A germinação é um processo de reativação do metabolismo que tem início com a
99 entrada de água, e essa reativação leva a produção de espécies reativas de oxigênio
100 (EROs) (Bewley & Black, 1994; Prodanović et al., 2007). As EROs são subprodutos do
101 metabolismo aeróbico e podem causar danos a célula. Estes compostos podem ser
102 radicais livres (radical superóxido – O_2^- , radical hidroxila – OH^- , radical peridroxil –
103 HO_2^- e radical alcóxi – RO^-) e não-radicais (peróxido de hidrogênio – H_2O_2 e oxigênio
104 singleto – 1O_2) que em desequilíbrio com a ação do sistema antioxidante causam danos
105 às proteínas, aos lipídeos, aos carboidratos, ao ácido nucléico e ao DNA levando a
106 peroxidação lipídica, conseqüentemente, morte celular (Gill & Tuteja, 2010).

107 As enzimas superóxido-dismutase (SOD), catalases (CAT) e peroxidases (POD),
108 fazem parte de um sistema antioxidante, que estão envolvidas diretamente na remoção
109 de radicais livres (EROs) durante o processo de mobilização de reservas nas sementes
110 (Rosa et al., 2005) e em condições ambientais que desenvolvam algum estresse em
111 plantas.

112 Contudo, Samaj et al. (2004) e Cruz-Ortega et al. (2007) relatam que a ação de
113 determinados aleloquímicos aumenta a atividade de enzimas do metabolismo
114 antioxidativo, além de afetar a permeabilidade de membranas e as concentrações de
115 hormônios. O aumento de radicais livres em células de plantas em respostas aos
116 aleloquímicos, mostra-se de forma similar à infecção por patógenos, bem como outros
117 fatores abióticos que resultam no estresse oxidativo (Gniazdowska & Bogatek, 2005).

118 Nesse sentido, a elucidação do metabolismo antioxidativo conjuntamente à
119 determinação de atributos de qualidade fisiológica, torna-se importante ferramenta em
120 estudos alelopáticos, pois permite a compreensão de respostas visuais da semente ou da

121 plântula ao estresse imposto pelo extrato, fornecendo subsídios à descrição do seu
122 mecanismo de ação.

123 Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade alelopática do
124 extrato aquoso do adubo verde *C. cajan* por meio da análise do estresse oxidativo, ao
125 longo da germinação e desenvolvimento inicial do tomate, espécie bioindicadora.

126

127

2. MATERIAL E MÉTODOS

128 **Coleta do material vegetal**

129 O adubo verde utilizado foi a espécie leguminosa *Cajanus cajan* (L.) Millsp. CV
130 BRS Mandarin, coletada em área rural do município de Palotina, oeste do Estado do
131 Paraná, nas coordenadas aproximadas de 24°17'S de latitude e 53°50'O de longitude,
132 altitude de 350 m, pertencente ao Terceiro Planalto Paranaense, solo classificado como
133 Latossolo Vermelho Eutroférico (EMBRAPA, 2006). O clima predominante na região
134 é do tipo Cfa, subtropical úmido, com chuvas abundantes no verão e inverno seco,
135 segundo classificação de Köppen, adotada pelo IAPAR (2012).

136 A parte aérea do *C. cajan* foi colhida em dezembro de 2014, no período da
137 manhã, quando estavam em pré-floração, na qual foi seca em estufa com ventilação
138 forçada de ar à temperatura de 40±2 °C até obter-se a massa seca estável.

139 Após este processo, a matéria seca foi triturada em moinho de facas do tipo
140 Willey, com peneira de granulação de 10 mm, para a obtenção do pó que foi
141 armazenado em potes de vidro, envoltos por papel alumínio, ao abrigo da luz e
142 devidamente identificados, mantidos em local seco a temperatura ambiente, até a
143 preparação do extrato.

144

145

146

147 Preparação do extrato aquoso

148 O extrato aquoso da parte aérea seca do adubo verde *C. cajan*, foi obtido a partir
149 da mistura do pó, nas proporções de 25; 50; 75 e 100 g de pó em 1000 mL de água
150 destilada, relação peso/volume (g/mL). A mistura foi homogeneizada por cerca de 1
151 minuto e em seguida, permaneceu em repouso por um período de 4 horas à temperatura
152 ambiente, no escuro (evitando a fotodegradação). A proposta dessa metodologia é
153 aproximar-se das condições de campo, onde a extração de aleloquímicos da serapilheira
154 ocorre principalmente por lixiviação causada pela chuva ou por orvalho (Carvalho et al.,
155 2012).

156 Posteriormente o extrato foi filtrado em pano de algodão, obtendo-se o extrato
157 nas proporções de 2,5%; 5%; 7,5% e 10% (p/v). No tratamento testemunha foi utilizada
158 apenas água destilada (0%).

159 O potencial hidrogeniônico (pH) de todas as proporções do extrato aquoso adubo
160 verde *C. cajan*, foi medido com pHmetro Micronal B474. Realizou-se também a
161 determinação do potencial osmótico de acordo com Villela et al (1991), utilizando
162 concentrações conhecidas de Polietileno glicol 6000 (PEG 6000), na qual foram
163 determinados seus valores de °Brix de refração em refratômetro de bancada, a partir
164 destas leituras foi ajustada uma reta de regressão linear que possibilitou estimar o
165 potencial osmótico das proporções do extrato, a partir de seus valores de °Brix,
166 conforme Daneluzzi et al. (2014).

167 A prospecção fitoquímica ou *screening* fitoquímico, foi realizada com base em
168 Matos (1998) e Carvalho et al. (2006), para alcaloides, cumarinas, esteroides,

169 flavonoides, fenóis, triterpenóides, saponinas espumídicas e taninos, em que o extrato
170 aquoso, em sua maior proporção (10% p/v), foi submetido à prospecção fitoquímica,
171 por meio de ensaios colorimétricos e/ou precipitação, os quais tiveram caráter
172 qualitativo.

173

174 **Bioensaio de germinação e desenvolvimento inicial**

175 De modo a avaliar o efeito deste extrato sobre a germinação, desenvolvimento
176 inicial, atividade de enzimas antioxidativas e peroxidação lipídica de sementes e
177 plântulas, utilizou-se a espécie bioindicadora tomate (*Solanum lycopersicum* L.),
178 variedade Super Marmande (Gaúcho/Maçã), adquiridas comercialmente e sem
179 tratamento químico.

180 Os testes de germinação foram realizados sobre sementes de tomate, dispostas
181 em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com folhas de papel filtro, que foram
182 previamente autoclavadas a 121 °C por meia hora. Estas foram umedecidas com água
183 destilada (testemunha) ou pelas diferentes proporções do extrato aquoso de feijão
184 guandu, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 2009), totalizando
185 3mL por placa de Petri. As soluções foram adicionadas apenas uma vez, no início do
186 bioensaio, sendo, a partir de então, adicionada apenas água destilada, quando se fez
187 necessário.

188 O experimento foi conduzido com quatro repetições de 30 sementes por placa de
189 Petri, que foram mantidas em câmara de germinação (BOD) a 25±2 °C com fotoperíodo
190 de 12 horas (claro/escuro) (BRASIL, 2009).

191 A germinação foi registrada diariamente, iniciando-se no dia seguinte a
192 semeadura, sendo considerada como semente germinada aquela que apresentou no

193 mínimo 2 mm de raiz (Hadas, 1976), até estabilização da germinação, totalizando sete
194 dias após a semeadura.

195 Posteriormente, para análise da germinação foram consideradas as variáveis:
196 porcentagem de germinação (PG) (BRASIL, 2009), índice de velocidade de germinação
197 (IVG) conforme Maguire (1962), tempo médio de germinação (TMG) segundo Edmond
198 e Drapala (1958), frequência relativa e o índice de sincronização da germinação (U)
199 foram calculados de acordo com Labouriau (1983).

200 O índice de resposta a efeitos alelopáticos (*RI*) foi calculado de acordo com Gao
201 et al. (2009), pela seguinte equação: $RI = 1 - C/T$ ($T \geq C$) ou $RI = T/C - 1$ ($T < C$); em
202 que: C = velocidade de germinação do controle (ou testemunha) e T = velocidade de
203 germinação do tratamento. O *RI* é um índice qualitativo, em que os valores negativos
204 indicam atividade inibitória e valores positivos atividade estimulante (GAO et al.,
205 2009).

206 Para análise do desenvolvimento inicial, ao final do teste de germinação foi
207 verificado o comprimento médio de raiz (CMR) e comprimento médio de parte aérea
208 (CMPA) de cinco plântulas por repetição no último dia de avaliação (no sétimo dia de
209 avaliação), as medições foram realizadas com paquímetro digital e os resultados foram
210 expressos em centímetros.

211

212 **Atividade enzimática e peroxidação lipídica**

213 Para a análise da atividade enzimática e peroxidação lipídica, nas sementes
214 foram determinados três pontos de coleta: as 2, 12 e 24 horas após período de
215 embebição. Já nas plântulas foram ao final da avaliação da germinação, ou seja, no
216 sétimo dia (168 horas), quando as mesmas apresentavam raiz e parte aérea

217 desenvolvida. Os dados apresentados de determinação da atividade enzimática e da
218 peroxidação lipídica, foram valores médios de ensaios em triplicata.

219 Deste modo, foram homogeneizados 50 mg do material vegetal em solução
220 tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ pH 6,8. O homogenato foi centrifugado a 12.000
221 rpm por 20 minutos a 4° C. A quantificação de proteínas totais foi realizada de acordo
222 com Bradford (1976), para a determinação da atividade específica das enzimas.

223 A análise da atividade específica das enzimas antioxidantes foram em:
224 Superóxido dismutase (SOD) conforme Beauchamp & Fridovich (1971), em U/mg de
225 proteína; Catalase (CAT) conforme proposto por Azevedo et al. (1998), em nmol H₂O₂
226 consumido min⁻¹mg⁻¹ proteína; Peroxidase (POD) de acordo com Teisseire & Guy
227 (2000), em μmol de purpurogalina min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

228 A peroxidação lipídica foi avaliada via acúmulo de malondialdeído (MDA), um
229 subproduto da degradação dos lipídios, segundo metodologia de Heath & Packer
230 (1976), expressos em nmol g⁻¹ massa fresca.

231

232 **Delineamento experimental e análise estatística**

233 O delineamento experimental para análise da atividade enzimática e peroxidação
234 lipídica nas sementes, foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x3, sendo um
235 dos fatores constituído pelas cinco proporções (0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10%) do extrato
236 aquoso de *C. cajan*, o outro fator, pelos três tempos de embebição (2, 12 e 24h). Sendo
237 assim, compostos por 15 tratamentos com quatro repetições cada.

238 Para as variáveis de germinação e desenvolvimento inicial, como também a
239 análise da atividade enzimática e peroxidação lipídica nas plântulas, o delineamento
240 experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), constituído pelas proporções

241 (0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10%) do extrato aquoso de *C. cajan*, totalizando cinco
242 tratamentos, cada um com quatro repetições.

243 As variáveis analisadas foram testadas quanto às suposições do modelo
244 estatístico (normalidade e/ou homocedasticidade das variâncias). Os dados que não
245 atenderam as suposições associadas ao modelo estatístico, como a porcentagem de
246 germinação (PG), foram transformados em $\text{arc sen } (\sqrt{x/100})$, como também, os dos
247 dados da atividade enzimática e peroxidação lipídica, nas sementes e plântulas, que
248 foram transformados em $\text{Log } (x)$, atendendo posteriormente as suposições associadas ao
249 modelo estatístico.

250 Logo em seguida, procedeu-se a realização da análise de variância (ANOVA) e
251 quando significativa ($p < 0,05$), os tratamentos foram comparados entre si e as médias
252 foram agrupadas pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram
253 geradas pelo pacote ExpDes (Ferreira et al., 2011) pelo software livre R 3.2.0 (R
254 DEVELOPMENT CORE TEAM, 2015).

255 Não foi efetuada análise estatística dos valores do índice de resposta a efeitos
256 alelopáticos (*RI*), devido à ausência de repetições, uma vez que o índice é calculado
257 baseando-se na média obtida das repetições do controle (ou testemunha).

258

259 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

260 Os valores do pH e do potencial osmótico do extrato aquoso de *C. cajan*, nas
261 proporções (0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10%), variaram de 5,77 a 6,99 para o pH, e de -
262 0,003 a -0,008 MPa para o potencial osmótico (Tabela 1).

263 Quanto ao pH, em casos extremos, seja ele ácido ou alcalino (Roy, 1986),
264 podem afetar tanto a germinação, quanto o crescimento das plântulas, observados em

265 condições de pH abaixo de 4 e superior a 10, conforme descrito por Eberlein (1987), o
 266 que não ocorreu no presente estudo. Os valores de pH obtido (Tabela 1), manteve-se
 267 dentro dos limites tolerados, não interferindo na germinação e no desenvolvimento
 268 inicial do tomate.

269

270 **Tabela 1.** Valores de pH e potencial osmótico, do extrato aquoso da parte aérea seca do
 271 adubo verde *C. cajan* (feijão guandu), nas proporções 2,5%; 5%; 7,5% e 10% (p/v), e na
 272 testemunha 0% - água destilada. Cascavel - PR, 2016.

Tratamentos	pH	Potencial osmótico (MPa)
Testemunha (0%)	6,99	-0,003
2,5%	5,94	-0,005
5%	5,89	-0,005
7,5%	5,80	-0,007
10%	5,77	-0,008

273

274 Para os valores dos potenciais osmóticos do extrato aquoso de *C. cajan*
 275 observados na Tabela 1, verifica-se que são valores considerados normais, ou
 276 relativamente baixos, a ponto de não prejudicar a germinação e desenvolvimento inicial
 277 das plântulas de tomate. Conforme Silva Jr et al. (2014), constataram que a germinação
 278 do tomate só é afetada em potencial osmótico a partir de -0,2 MPa.

279 O potencial osmótico de uma solução é um dos parâmetros que podem provocar
 280 alterações na resposta alelopática, pois pode superestimar os efeitos alelopáticos, em
 281 determinados casos, ou ainda, admitir a existência de alelopatia em casos onde não
 282 exista (Souza Filho et al., 2010), porém, isso não ocorreu no presente trabalho,
 283 evidenciando assim, o efeito dos aleloquímicos presentes no extrato aquoso de *C. cajan*.

284 Em relação a análise fitoquímica ou *screening* fitoquímico do extrato aquoso de
285 *C. cajan*, foi obtido resultado positivo para as seguintes classes de aleloquímicos:
286 flavonoides, taninos e triterpenóides pentacíclicos.

287 Esses compostos podem ser responsáveis, de modo isolado ou sinérgico, pela
288 interferência nos processos bioquímicos e fisiológicos durante a fase de germinação e
289 crescimento (Rice, 1984; Rizvi et al., 1992) de dicotiledôneas, monocotiledôneas e
290 eudicotiledôneas (Einhellig, 2002).

291 Quanto aos taninos identificados no extrato aquoso de *C. cajan*, Taiz e Zeiger
292 (2013) descreveram sua importante ação, como substâncias inibidoras da germinação de
293 sementes e do crescimento de plantas, destacando principalmente a função fitopatogena,
294 sendo estes os aleloquímicos que apresentam maior atividade biológica.

295 Entretanto, os flavonoides parecem atuar primeiramente como inibidores da
296 germinação e do sistema de transferência de energia dentro da célula. Alguns
297 flavonoides são potentes inibidores do metabolismo energético, bloqueando as funções
298 dos cloroplastos e absorção de oxigênio pelas mitocôndrias (Moreland & Novitski 1988;
299 Einhellig, 2004). Além disso, alguns flavonoides, que atuam por meio da regulação dos
300 níveis de EROs intracelular, são capazes de inibir a germinação e o crescimento de
301 *Arabidopsis thaliana* (Baies et. al., 2003).

302 Esses aleloquímicos de modo geral, são capazes de promover estresse oxidativo
303 em plantas, aumentando a atividade de enzimas como superóxido dismutase, catalase e
304 peroxidase (Yu et al., 2003; Pandey et al., 2005), levando a estas alterações
305 bioquímicas, na qual foram observados no presente estudo.

306 Para determinar a presença do estresse oxidativo, nas sementes e plântulas de
307 tomate, ocasionado pelos aleloquímicos presentes no extrato aquoso de *C. cajan*, foi

308 analisada a atividade das enzimas antioxidantes envolvidas na desintoxicação e
309 equilíbrio das EROs, como também a peroxidação lipídica, durante os períodos de
310 embebição (2, 12 e 24 horas) nas sementes (Tabela 2), e ao final do sétimo dia, nas
311 plântulas já desenvolvidas (com raiz e parte aérea) (Tabela 4).

312 Esses três pontos durante os períodos de embebição (2, 12 e 24 horas) das
313 sementes de tomate, consiste na reativação do metabolismo e crescimento do embrião
314 por meio de eventos metabólicos ordenados, cada um deles apresentando exigências
315 próprias, principalmente porque dependem de processos fisiológicos e bioquímicos
316 específicos (Bewley & Black, 1994). No início da embebição ocorre aumento rápido na
317 captação de oxigênio e na fosforilação oxidativa (Tommasi et al., 2001). Esta e a
318 mobilização de reservas geram espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem causar
319 dano estrutural e funcional às células (Prodanović et al., 2007).

320

321 **Tabela 2.** Atividade enzimática (SOD, CAT e POD) e peroxidação lipídica (MDA) das
 322 sementes de tomate em 2, 12 e 24 horas, submetidas a diferentes proporções do extrato
 323 aquoso da parte aérea seca do adubo verde *C. cajan* (feijão guandu). Cascavel-PR,
 324 2016.

SOD (U/mg de proteína)			
Tratamentos	2h	12h	24h
0%	5,93 bA	10,70 cA	7,19 bA
2,5%	7,29 bB	14,70 bA	14,19 aA
5%	14,95 aA	14,38 bA	14,47 aA
7,5%	13,73 aB	24,03 aA	13,57 aB
10%	10,62 aA	7,41 cA	7,69 bA
CV (%)	32,48		
CAT (H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína)			
0%	1,98 bB	10,11 bA	10,81 bA
2,5%	12,11 aA	8,62 bA	30,11 aA
5%	16,62 aA	19,46 aA	24,26 aA
7,5%	20,39 aA	28,21 aA	31,11 aA
10%	21,13 aA	6,47 bB	5,48 bB
CV (%)	75,39		
POD (μmol de purpurogalina min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína)			
0%	0,11 bA	0,15 aA	0,10 bA
2,5%	0,19 aA	0,19 aA	0,23 aA
5%	0,25 aA	0,21 aA	0,10 bB
7,5%	0,20 aA	0,26 aA	0,30 aA
10%	0,23 aA	0,09 bB	0,12 bB
CV (%)	36,78		
Peroxidação lipídica (MDA - nmol g ⁻¹ massa fresca)			
0%	4,07 bA	2,88 cA	1,94 cA
2,5%	3,87 bA	3,15 cA	5,40 bA
5%	7,89 aA	8,74 bA	5,89 bA
7,5%	6,23 aA	3,64 cA	4,39 bA
10%	8,26 aB	11,55 aA	11,60 aA
CV (%)	30,48		

325 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem
 326 estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância. C.V: Coeficiente de variação.

327

328 A ativação do sistema antioxidante de defesa ocorre imediatamente após a
329 reidratação das sementes e conseqüentemente reativação do metabolismo (De Gara et
330 al., 1997; Tommasi et al., 2001; Müller et al., 2010), visando manter o equilíbrio entre a
331 produção e a eliminação das EROs, para possibilitar a germinação das sementes (Oracz
332 et al., 2009).

333 A primeira enzima que atua nessa linha de defesa antioxidante, para as células
334 vegetais é a superóxido dismutase (SOD) (McDonald, 1999; Alscher et al., 2002;
335 Scandalios, 2005).

336 A interação entre os fatores, proporção e tempo de embebição foi significativa, e
337 ao analisarmos a atividade específica da enzima SOD, verificamos que após 2 horas de
338 embebição a presença do extrato aquoso de *C. cajan* nas proporções 5; 7,5 e 10%
339 aumenta em mais de duas vezes a sua atividade em relação à testemunha (Tabela 2).

340 À medida em que o processo de germinação das sementes de tomate avançou
341 para 12 e 24 horas, nota-se um aumento significativo da atividade da SOD em relação à
342 testemunha, para as proporções 2,5; 5 e 7,5%, enquanto que na presença do extrato na
343 proporção 10%, a atividade dessa enzima volta a ser semelhante à testemunha, com 7,41
344 U/mg de proteína às 12 horas e 7,69 U/mg de proteína às 24 horas.

345 Além disso, ao observarmos a tabela 2 (desdobramento de cada proporção) fica
346 evidente o aumento da atividade específica da SOD nas sementes de tomate, quando
347 colocadas para germinar nas proporções 2,5 e 7,5% do extrato aquoso de *C. cajan* à
348 medida que o processo de germinação avança (12 e 24 horas).

349 A SOD é uma enzima chave na defesa antioxidante de plantas devido à sua
350 capacidade em dismutar dois radicais do ânion superóxido (O_2^-) em peróxido (H_2O_2) e
351 oxigênio molecular (O_2) (Willekens et al., 1995; Alscher et al., 2002; Scandalios, 2005).

352 Umair et al., (2012) atribuem esse aumento da atividade da SOD, na tentativa de reparo
353 das membranas como responsável por iniciar a atividade do sistema antioxidante
354 enzimático. Porém na proporção 10% do extrato aquoso de *C. cajan*, a atuação da SOD
355 não foi suficiente para combater os radicais livres produzidos pela ação dos
356 aleloquímicos presente no extrato.

357 Além da formação de radicais superóxidos, a reativação do metabolismo das
358 sementes durante a germinação pode levar a formação de radicais peróxido (H_2O_2)
359 (Bewley & Black, 1994; Prodanović et al., 2007), e as enzimas responsáveis pela
360 eliminação desse radical são a catalase (CAT) e a peroxidase (POD) (Mittler, 2003; Kim
361 & Kwak, 2010; Dinakar et al., 2012).).

362 Dessa forma, para as sementes de tomate embebidas em diferentes proporções
363 do extrato aquoso de *C. cajan*, observamos que a atividade da catalase, logo após a
364 reativação do metabolismo (2 horas), foi aumentada em relação à testemunha para todas
365 as proporções, enquanto que após 12 e 24 horas de embebição as maiores atividades da
366 catalase foram observadas nas proporções 5 e 7,5% e 2,5; 5 e 7,5%, respectivamente
367 (Tabela 2).

368 Às 24 horas de embebição, nas proporções 2,5; 5 e 7,5% constatou-se a maior
369 atividade da catalase (Tabela 2), ao contrário da proporção 10% em que atividade da
370 CAT foi reduzida à $5,48 \text{ nmol } H_2O_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$, porém não diferindo
371 estatisticamente da testemunha.

372 Ao analisar a atividade da CAT na testemunha, conforme o processo de
373 germinação ocorre, verifica-se o aumento de sua atividade, não diferindo entre 12 e 24
374 horas. Ao contrário do que ocorre na proporção 10%, em que a CAT teve sua atividade
375 reduzida a partir das 12 horas (Tabela 2).

376 A atividade da CAT é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente
377 altas de H₂O₂ (mM) produto gerado pela SOD, atuando no processo de dismutação do
378 H₂O₂ em água (H₂O) e oxigênio molecular (O₂), por isso são consideradas
379 indispensáveis para a desintoxicação de EROs, especialmente em condições de estresse
380 severo, quando os níveis de H₂O₂ estão maiores (Garg & Manchanda, 2009; Dubey,
381 2011). Mesmo assim, na proporção 10%, ao longo do tempo de embebição das
382 sementes, a atividade da CAT não foi suficiente para combater as EROs gerados pelos
383 aleloquímicos.

384 Contudo, a alta atividade da catalase presente na testemunha (0%), a partir de 12
385 horas de embebição ocorreu devido a reativação do metabolismo, e essa alta atividade é
386 uma resposta ao estresse ocasionado no processo natural de embebição das sementes. Já
387 nas proporções do extrato aquoso de *C. cajan*, até a proporção 7,5%, esse aumento na
388 atividade da catalase ocorreu para reparar os danos, atuando na remoção do peróxido de
389 hidrogênio (Halliwell & Gutteridge, 2007) sendo este reparo eficiente, pois as sementes
390 submetidas à essas proporções apresentaram porcentagem de germinação entre 75% a
391 92%.

392 Outra enzima relacionada à eliminação do radical peróxido é a peroxidase
393 (POD), uma classe de enzimas que tem como objetivo transformar esse radical peróxido
394 de hidrogênio em H₂O e O₂ (Bhatt & Tripathi, 2011; Barbosa et al., 2014).

395 Nas sementes de tomate observamos que após 2 horas de embebição, todas as
396 proporções do extrato aquoso de *C. cajan*, aumentaram a atividade específica da POD
397 em relação a testemunha (Tabela 2). Porém, esse mesmo padrão não foi observado às 12
398 e 24 horas de embebição, pois nas proporções 2,5 e 7,5% às 24 horas de embebição

399 observamos os maiores valores da atividade dessa enzima, com 0,23 e 0,30 μmol de
400 purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína, respectivamente.

401 Na avaliação da atividade da POD foram observados estímulo e inibição com as
402 amostras obtidas das sementes de tomate (Tabela 2). As peroxidases estão relacionadas
403 a eventos que envolvem indução de resistência, ou adaptação frente a condições
404 adversas que geram estresse (Cavalcanti et al., 2005), como a presença de
405 aleloquímicos, ou seja, é uma proteção antioxidativa. Apesar disso, não é observado um
406 comportamento padrão (Cavalcanti et al., 2005), pois depende do tipo de indutor,
407 concentração, tempo após a sua aplicação na planta e patossistema em estudo.

408 Algumas peroxidases são constitutivamente expressas, enquanto outras são
409 induzidas por estresses ambientais, como constatado em estudos em que baixas
410 atividades mostram sintomas de estresse menos graves e as altas, sintomas mais graves
411 (Barbosa et al., 2014), como observado na proporção 10% do extrato aquoso de *C.*
412 *cajan*, em que foi observado a menor porcentagem de germinação e índice de
413 velocidade de germinação (Tabela 4), portanto o sistema antioxidante não conseguiu
414 combater o estresse gerado.

415 Ao analisar em conjunto o padrão de atividades das enzimas antioxidantes, nas
416 sementes de tomate, submetidas à embebição em diferentes proporções do extrato
417 aquoso de *C. cajan* (Tabela 2), fica evidente que à medida que o processo de
418 germinação avança (12 e 24 horas de embebição), o extrato na proporção 10%
419 apresentou menores atividades para todas as enzimas antioxidantes avaliadas nesse
420 trabalho (SOD, CAT e POD).

421 Desse modo, a redução da atividade específica das enzimas, refletiu nos danos
422 oxidativos gerados nas células das sementes do tomate, principalmente na membrana

423 plasmática, os quais foram mensurados em teores de malondialdeído (MDA),
424 subproduto da peroxidação lipídica (Tabela 2) em plantas em condições de estresse
425 (Politycka, 1996, Yu et al., 2003; Bogatek et al., 2005), ocasionado pela presença dos
426 aleloquímicos presentes no extrato aquoso de *C. cajan*.

427 A concentração do malondialdeído, não diferiu em função do tempo de
428 embebição das sementes. Entretanto, na proporção 10% a concentração de MDA
429 aumentou a partir das 12 horas (Tabela 2).

430 Verificando a concentração de MDA ao aplicarmos as proporções do extrato
431 aquoso de *C. cajan*, as 2 horas, os níveis de peroxidação lipídica foram maiores a partir
432 da proporção 5%. Já as 12 horas de embebição, a peroxidação lipídica foi maior na
433 proporção 10%, com concentração de MDA em 11,55 nmol g⁻¹ massa fresca, seguido da
434 proporção 5%, com concentração de MDA em 8,74 nmol g⁻¹ massa fresca, diferindo
435 significativamente (p<0,05) da testemunha (Tabela 2).

436 Após 24 horas de embebição, a proporção 10% continuou a exibir a maior
437 concentração de MDA com 11,60 nmol g⁻¹ massa fresca, seguido das proporções 2,5; 5
438 e 7,5%, em que os níveis de peroxidação lipídica foram semelhantes nestas e não
439 diferiram entre si (Tabela 2), mas todas as proporções diferiram significativamente
440 (p<0,05) da testemunha, que apresentou a menor concentração de MDA com 1,94 nmol
441 g⁻¹ massa fresca.

442 Esse resultado verificado na peroxidação lipídica é refletido diretamente na
443 germinação das sementes de tomate (Tabela 3). Mesmo confirmando dano de
444 membrana, pelo aumento dos níveis de MDA, as sementes na presença das proporções
445 do extrato aquoso de *C. cajan*, até a proporção 7,5%, tiveram a germinação acima de
446 75%, não diferindo da testemunha. Porém a proporção 10% apresentou redução

447 significativa da porcentagem de germinação, em torno de 36%, em que os níveis de
448 MDA foram bem maiores (Tabela 2).

449 Dependendo da proporção do extrato e da etapa metabólica em que a semente se
450 encontra, o estresse gerado pode não ser combatido pelas enzimas, uma vez que o
451 aumento da proporção do extrato aquoso de *C. cajan*, levou à redução da atividade
452 enzimática, gerando o estresse oxidativo. Isso foi observado claramente na proporção
453 10%, quanto maior o tempo de exposição das sementes de tomate ao extrato aquoso de
454 *C. cajan*, houve aumento do dano de membrana, o que coincide com a queda da
455 atividade da POD e CAT.

456 Por fim, fica evidente que a baixa atividade específica das enzimas que compõe
457 o sistema antioxidante das sementes de tomate, quando embebidas no extrato aquoso de
458 *C. cajan*, principalmente na proporção 10%, resultou em dano oxidativo nas células do
459 embrião e tecido de reserva o que levou a baixa porcentagem de germinação, observado
460 na tabela 3.

461

462 **Tabela 3.** Porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação
 463 (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e sincronização da germinação (U) das
 464 sementes de tomate, submetidas a diferentes proporções do extrato aquoso da parte
 465 aérea seca do adubo verde feijão guandu (*C. cajan*). Cascavel-PR, 2016.

Tratamentos	PG (%)	IVG	TMG (dias)	U ^{ns}
0%	92 a	9,08 a	3,23 d	1,28
2,5%	90 a	5,92 b	4,73 c	1,72
5%	83 a	4,72 c	5,42 b	1,42
7,5%	75 a	4,00 c	5,72 b	1,41
10%	36 b	1,80 d	6,08 a	0,91
C.V (%)	16,78	15,53	4,64	30,92

466 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-
 467 Knott a 5% de significância. ^{ns} - não significativo. C.V: Coeficiente de variação.
 468

469 O extrato aquoso de *C. cajan* na proporção 10% apresentou efeito inibitório da
 470 germinação, com apenas 36% das sementes de tomate germinadas, diferindo
 471 significativamente ($p < 0,05$) da testemunha. Já as demais proporções, não apresentaram
 472 efeito inibitório sobre a porcentagem de germinação do tomate, sendo similares à
 473 testemunha (Tabela 3).

474 A diminuição da germinação indica que o processo germinativo foi influenciado
 475 negativamente pelo aumento na proporção do extrato, o que pode estar associado ao
 476 acúmulo das EROs e aumento da peroxidação lipídica em sementes (Tabela 2).

477 De acordo com Harper & Balke (1981), o grau de inibição proporcionado por
 478 determinado aleloquímico é dependente da sua concentração, o que pode ter ocorrido
 479 neste caso, já que a proporção 10% concentra maior quantidade de aleloquímicos, como
 480 os flavonoides, taninos e triterpenoides pentacíclicos, presentes nesse extrato,
 481 promovendo a menor porcentagem de germinação (Tabela 3).

482 Corroborando com este trabalho, Carvalho et al. (2014), também trabalhando
483 com extratos aquoso de feijão guandu sobre sementes de alface, espécie bioindicadora,
484 verificaram valores acima de 80% de germinação para esse extrato nas concentrações
485 2,5 e 5% (p/v), o que também foi observado no presente estudo (Tabela 3). Isso
486 acontece devido a baixa concentração dos aleloquímicos presentes nestas concentrações,
487 pois o estresse ocasionado por determinado aleloquímico foi combatido pelo sistema
488 antioxidativo da planta.

489 Dentre os estádios do desenvolvimento vegetal influenciados pelos
490 aleloquímicos, a germinação é a menos sensível, conforme visto na tabela 3, ao passo
491 que a sua quantificação experimental é muito mais simples, pois a semente germina ou
492 não germina (Ferreira & Áquila, 2000).

493 Contudo, conforme Ferreira (2004) e Borges et al. (2007) muitas vezes o efeito
494 alelopático não se manifesta somente sobre a porcentagem final de germinação, mas
495 também sobre a velocidade de germinação das sementes ou até mesmo, sobre outro
496 parâmetro do processo germinativo, como ocorreu no presente trabalho com os
497 parâmetros IVG, TMG (Tabela 3) e *RI* (Figura 2).

498 Tanto para o índice de velocidade de germinação (IVG), quanto para o tempo
499 médio de germinação (TMG) de tomate, verificou-se que, todas as proporções do
500 extrato aquoso de *C. cajan*, diferiram significativamente da testemunha ($p < 0,05$),
501 havendo atraso na germinação e maior tempo para que esse processo ocorresse
502 conforme o aumento das proporções do extrato (Tabela 3).

503 Para o índice de velocidade de germinação (IVG) de tomate, o menor valor foi
504 observado na proporção a 10%, com IVG de 1,80. Já o maior valor foi observado para a
505 testemunha, com IVG de 9,08, os demais diferiram estatisticamente da testemunha

506 (p<0,05), conforme aumenta a proporção do extrato há uma redução do IVG das
507 sementes de tomate (Tabela 3).

508 Bioensaios realizados com extrato aquoso de feijão guandu (Carvalho et al.,
509 2014), também verificaram atraso do processo germinativo sobre sementes de alface,
510 conforme o aumento da proporção dos extratos os valores de IVG de sementes de alface
511 foram diminuindo, corroborando com o presente trabalho (Tabela 3).

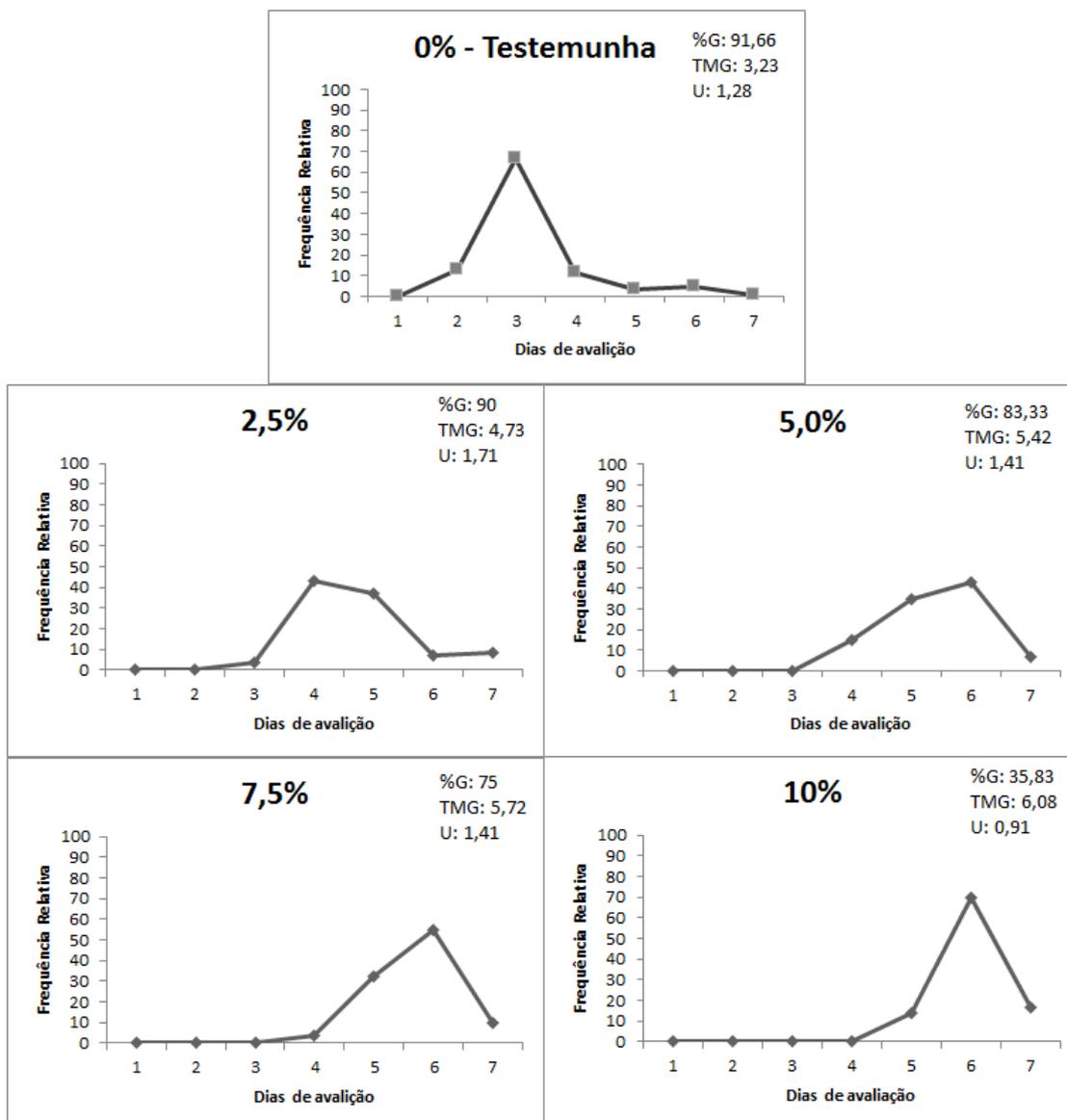
512 Segundo Ferreira & Borghetti (2004), quanto maior o IVG, maior o vigor das
513 sementes, sendo que neste experimento os extratos atuaram diminuindo o vigor das
514 sementes de tomate, principalmente nas maiores proporções (7,5% e 10%), já que as
515 mesmas não tiveram uma germinação uniforme e levaram mais tempo para germinar,
516 isso devido à presença dos aleloquímicos, que geraram estresse oxidativo, verificados
517 pelos níveis de MDA mais altos nas proporções 7,5% e 10% do extrato aquoso de feijão
518 guandu (Tabela 2).

519 Com relação ao tempo médio de germinação (TMG), observou-se que as
520 sementes de tomate apresentaram aumento significativo (p<0,05) do tempo médio de
521 germinação quando submetidos ao extrato aquoso de *C. cajan* nas proporções testadas
522 (Tabela 3). As sementes de tomate na proporção a 10%, levaram em média seis dias
523 para germinar, o dobro de dias da testemunha, que levou apenas 3,23 dias.

524 À medida que a proporção do extrato aquoso de *C. cajan* aumenta, ocorre
525 diminuição do índice de velocidade de germinação e aumenta o tempo médio de
526 germinação. Esses resultados corroboram com os obtidos por Gorla & Perez (1997), em
527 que a velocidade de germinação de sementes de tomate também decresceu com o
528 aumento da concentração dos extratos de folhas de *Miconia albicans*, *Lantana camara*,
529 *Leucaena leucocephala* e *Drimys winteri*.

530 Para o índice de sincronização da germinação (U) de tomate, submetidos as
531 proporções do extrato aquoso de *C. cajan*, não foi observado diferença significativa
532 entre os tratamentos (Tabela 3). Contudo, em função da frequência relativa da
533 germinação (Figura 1), observa-se que com o aumento da proporção do extrato a
534 germinação apresenta-se desuniformizada e deslocada para direita, ao longo do tempo.

535 No entanto, observa-se o menor valor do índice de sincronização e um pico
536 unimodal na proporção 10% (Figura 1), porém isso ocorreu devido a porcentagem de
537 germinação ser muito baixa nesse tratamento (36%) e, além disso, as poucas sementes
538 que germinaram, foram todas por volta do sexto dia de avaliação (Tabela 3) formando
539 esse pico unimodal (Figura 1 10%).



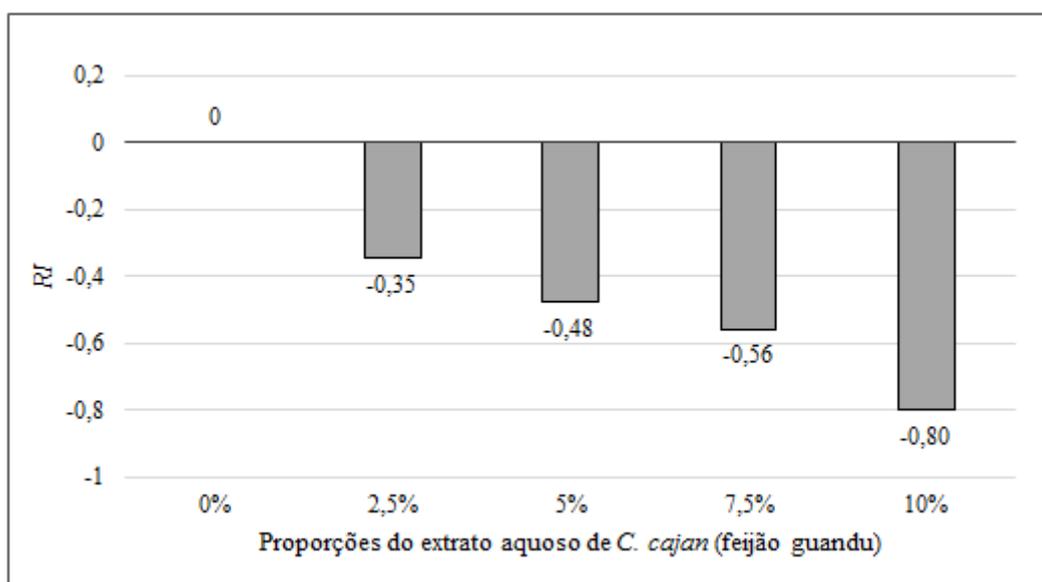
540
 541 **Figura 1.** Gráficos da Frequência Relativa da germinação de tomate, submetidas a diferentes proporções
 542 de extrato aquoso da parte aérea seca do adubo verde *C. cajan* (feijão guandu) Cascavel-PR, 2016.
 543

544 De maneira geral, os principais efeitos encontrados foram atrasos na germinação
 545 das sementes de tomate em contato com as diferentes proporções do extrato aquoso de
 546 *C. cajan*, evidenciado pelas curvas de frequência (Figura 1), aumentando os tempos
 547 médio da germinação e reduzindo o índice de velocidade de germinação. Demonstrando
 548 assim, que o extrato aquoso de *C. cajan* interfere já no processo de germinação de outras

549 espécies mediante a presença de aleloquímicos, confirmado com os níveis da atividade
550 enzimática e com os níveis de peroxidação lipídica (Tabela 2).

551 Corroborando com os resultados já observados anteriormente, o índice de
552 resposta a efeitos alelopáticos (*RI*) (Figura 2) é um importante indicador da atividade
553 alelopática (Gao et al. 2009). Nas proporções do extrato aquoso de *C. cajan*, o *RI* foi
554 calculado em relação à velocidade de germinação da testemunha e dos tratamentos com
555 as diferentes proporções do extrato.

556 Todos as proporções do extrato aquoso de *C. cajan*, apresentaram *RI* negativo,
557 confirmando a presença de atividade alelopática (Figura 2). A proporção 10% (p/v), foi
558 a que mais inibiu a germinação das sementes de tomate (Tabela 3) e a que apresentou
559 menor atividade das enzimas e os maiores níveis de MDA, devido a peroxidação
560 lipídica (Tabela 2).



561 **Figura 2.** Índice de resposta a efeitos alelopáticos (*RI*) do extrato aquoso do adubo verde *C. cajan* sobre a
562 germinação das sementes de tomate.
563
564

565 Com relação a atividade enzimática nas plântulas, podemos observar que o
566 extrato aquoso de *C. cajan*, nas proporções 5; 7,5 e 10% para SOD apresentaram

567 diferenças significativas ($p < 0,05$), quando comparadas a testemunha. Já a proporção
 568 2,5% não diferiu estatisticamente da testemunha (Tabela 4), sendo os maiores valores da
 569 atividade da SOD.

570 A SOD catalisa a dismutação do O_2^- a oxigênio com a formação de H_2O_2 e o
 571 aumento na atividade desta enzima é geralmente correlacionado com a elevação nos
 572 níveis de radicais livres (Karuppanapandian et al. 2011; Sharma et al., 2012).

573 Nas plântulas, essa atividade fica evidentemente maior, pois além da respiração,
 574 estão ocorrendo outros processos fisiológicos, como a fotossíntese, que gera O_2^- na
 575 cadeia de transporte de elétrons (CTE), conhecida como “Reação de Mehler” ou fluxo
 576 pseudocíclico. Apesar de geração de uma EROs, esse fluxo de elétrons evita que
 577 moléculas da CTE da fotossíntese mantenham-se em estado reduzido e produz sinais
 578 oxidativos que regulam a expressão gênica (Foyer & Noctor, 2009; Foyer et al., 2012).

579

580 **Tabela 4.** Atividade enzimática (SOD, CAT e POD) e peroxidação lipídica (MDA) em
 581 plântulas de tomate, submetidas a diferentes proporções do extrato aquoso da parte
 582 aérea seca do adubo verde *C. cajan* (feijão guandu). Cascavel-PR, 2016.

Tratamentos	SOD	CAT	POD	MDA
0%	143,45 a	236,07 a	5,59 a	0,00 c
2,5%	143,69 a	98,23 a	2,89 b	1,77 c
5%	24,73 c	36,41 b	0,69 c	5,23 b
7,5%	31,24 b	27,56 b	0,72 c	5,45 b
10%	19,00 d	30,63 b	0,69 c	19,06 a
CV (%)	12,18	80,8	36,78	35,19

583 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-
 584 Knott a 5% de significância. C.V: Coeficiente de variação
 585

586 Para atividade da CAT nas plântulas de tomate, as proporções 5; 7,5 e 10% do
587 extrato aquoso de *C. cajan*, apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) da sua
588 atividade, não diferindo entre si, mas apenas quando comparadas a testemunha (Tabela
589 4). Segundo Cakmak & Horst (1991), a redução na atividade da catalase indica que, em
590 plantas mantidas sob condições de estresse, o H_2O_2 gerado é mais consumido em
591 processos oxidativos, como na peroxidação de lipídios, do que eliminado do
592 metabolismo.

593 Já atividade da POD, foi reduzida para todas as proporções do extrato aquoso de
594 de *C. cajan* nas plântulas de tomate, diferindo significativamente ($p < 0,05$) da
595 testemunha. Contudo, as proporções 5; 7,5 e 10% não diferem entre si (Tabela 4).

596 O papel da peroxidase no crescimento das plantas, demonstrado em muitas
597 espécies, evidencia que a mesma está diretamente envolvida na modulação do
598 crescimento do hipocótilo com aumento da atividade da enzima e conseqüentemente no
599 alongamento do tecido (Aouad et al., 1998).

600 A concentração do malondialdeído (MDA) nas plântulas de tomate, devido à
601 peroxidação lipídica, foi aumentando conforme o aumento da proporção do extrato
602 aquoso de *C. cajan*. A proporção 10% apresentou a maior concentração de MDA com
603 $19,06 \text{ nmol g}^{-1}$ massa fresca. Os níveis de malondialdeído foram semelhantes nas
604 proporções 5% e 7,5%, não diferindo entre si. Já proporção 2,5%, mesmo apresentando
605 alguma peroxidação lipídica, entorno de $1,77 \text{ nmol g}^{-1}$ massa fresca de MDA, não
606 diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) da testemunha (Tabela 4).

607 O aumento de radicais livres em células de plantas em respostas aos
608 aleloquímicos, mostra-se de forma similar à infecção por patógenos, bem como outros
609 fatores abióticos que resultam no estresse oxidativo (Gniazdowska e Bogatek, 2005).

610 Desse modo, é possível que a baixa atividade das enzimas antioxidantes, em
 611 proporções mais elevadas do extrato aquoso de *C. cajan*, não tenha sido suficiente para
 612 reparar os danos oxidativos, ocasionando estresse nas plântulas de tomate, aumentando
 613 os níveis de MDA (Tabela 4), e comprovado com a redução do comprimento médio de
 614 raiz (Tabela 5).

615

616 **Tabela 5.** Comprimento médio de raiz (CMR) e parte aérea (CMPA) das plântulas de
 617 tomate, submetidas a diferentes proporções de extrato aquoso da parte aérea seca do
 618 adubo verde *C. cajan*. Cascavel-PR, 2016.

Tratamentos	CMR (cm)	CMPA (cm)
0%	8,50 a	3,22 b
2,5%	6,32 b	4,06 a
5%	4,66 c	4,38 a
7,5%	4,56 c	3,75 a
10%	3,29 c	2,87 b
C.V (%)	16,86	12,07

619 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-
 620 Knott a 5% de significância. C.V: Coeficiente de variação.

621

622 Em relação ao comprimento médio das plântulas de tomate, os resultados
 623 indicam que houve efeito do extrato aquoso de feijão guandu. No comprimento médio
 624 da raiz, todas as proporções do extrato, diferiram significativamente ($p < 0,05$) da
 625 testemunha, demonstrando efeito negativo para esta variável (Tabela 5). Corroborando
 626 com o trabalho de Carvalho et al., (2014), que também verificaram redução do
 627 comprimento médio da raiz de alface, com o extrato aquoso de *C. cajan*.

628 No entanto, o comprimento médio da parte aérea das plântulas de tomate, foi
 629 maior nas proporções 2,5; 5 e 7,5% (p/v), diferindo significativamente ($p < 0,05$) da

630 testemunha (0%). Já a proporção 10% (p/v) apresentou o menor valor, em média de
631 2,87 cm de comprimento de parte aérea, porém não diferiu da testemunha (Tabela 5).

632 De acordo com Chung et al. (2001), o efeito inibitório é mais acentuado sobre as
633 raízes, devido ao contato mais íntimo destas com os aleloquímicos presentes no extrato,
634 em relação à parte aérea. Cothren & Oosterhuis (2010), ressaltam que o crescimento da
635 raiz é inibido pela auxina em proporções que promovem o alongamento em caules e em
636 coleóptilos. Como os aleloquímicos presentes também desregulam o funcionamento
637 hormonal, isso poderia explicar o estímulo do crescimento da parte aérea em contraste
638 com a inibição do comprimento médio da raiz (Tabela 5).

639 Essa redução do comprimento radicular, na presença de aleloquímicos é
640 associada com uma forte inibição da mitose e/ou rompimento da estrutura das
641 organelas, como por exemplo, núcleo e mitocôndrias (Gniazdowska & Bogatek, 2005).
642 Segundo Rodrigues et al. (1992), os compostos alelopáticos são inibidores do
643 crescimento, pois interferem na divisão celular, permeabilidade de membranas e na
644 ativação de enzimas.

645 Nesse sentido, a atividade enzimática nas plântulas de tomate foi realmente
646 baixa, conforme observado na Tabela 4, do mesmo modo, com o aumento da proporção
647 do extrato, observa-se altos níveis de MDA (Tabela 3), indicando dano de membrana
648 devido à peroxidação lipídica, sobretudo na proporção 10%, que teve o menor
649 comprimento médio de raiz, com apenas 3,29 cm. Assim, os aleloquímicos presentes no
650 extrato, atuaram inibindo o sistema antioxidativo e conseqüentemente reduzindo o
651 crescimento, principalmente da raiz, como observado na tabela 5.

652 Pode-se inferir que o extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, possui
653 aleloquímicos, que apresentam efeitos alelopáticos ao interferir principalmente na

654 atividade enzimática, já no processo inicial da germinação, pois dependendo da
655 proporção do extrato e da etapa metabólica em que a semente se encontra, o estresse
656 gerado pode não ser combatido pelas enzimas antioxidantes, uma vez que a maior
657 proporção (10%), levou a menor atividade das enzimas, e consequência a danos
658 celulares, com a peroxidação lipídica.

659 Além disso, os efeitos foram evidenciados também sobre o índice de velocidade
660 de germinação e o tempo médio de germinação, como também sobre o índice de
661 resposta a efeitos alelopáticos, em que mostraram a redução do número de sementes
662 germinadas por dia e o aumento do tempo em que as sementes de tomate levaram para
663 germinar, como também a redução significativa da porcentagem de germinação na
664 proporção 10%.

665 O extrato aquoso do adubo verde *C. cajan* (feijão guandu), afetou também
666 diretamente plântulas de tomate, pois as enzimas antioxidantes na presença dos
667 aleloquímicos tiveram a sua atividade reduzida, o que refletiu diretamente nos níveis de
668 MDA, e consequentemente no comprimento médio da raiz.

669 Por fim, resultados positivos para alelopatia, obtidos em laboratório, podem não
670 se repetir em condições naturais, devido à ocorrência simultânea de diversos fatores
671 bióticos e abióticos que podem mascarar este fenômeno. A conclusão definitiva dos
672 efeitos observados neste trabalho está ligada a uma investigação mais ampla, que inclui
673 outras abordagens experimentais, principalmente testes à campo. Além disso, sugere-se
674 que seja feito a purificação e identificação das substâncias alelopáticas presentes no
675 extrato, para assim analisar também seu comportamento alelopático isoladamente.

676

4. CONCLUSÃO

677

678 Baseado nos dados obtidos, o extrato aquoso de *Cajanus cajan* (feijão guandu),
679 apresenta atividade alelopática, inibindo o sistema antioxidativo, ocasionando danos de
680 membrana, retardando a germinação das sementes e diminuindo o comprimento
681 radicular das plântulas tomate, devido ao estresse oxidativo frente aos aleloquímicos
682 presentes no extrato, principalmente na proporção 10%.

683

684 **5. REFERÊNCIAS**

- 685 ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs)
686 in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 53,
687 p. 1331-1341, 2002.
- 688 ALVES, M. C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de
689 extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface.
690 *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, p. 1083-1086, 2004.
- 691 ALVES, S. M. C.; ABOUD, A. C. S.; RIBEIRO, R. L. D.; ALMEIDA, D. L. Balanço
692 do nitrogênio e fósforo em solo com cultivo orgânico de hortaliças após a incorporação
693 de biomassa de guandu. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 11, p.1111-
694 1117, 2004.
- 695 AOUAD, A.; BAAZIZ, M.; MERGOUM, M. Quantitative aspects of peroxidases in
696 some moroccan cereal varieties. In: *Actes des Premieres Journees de l'Arbre*. Morocco:
697 Laboratoire de Biochimie Amélioration des Plantes/Université Cadi Ayyad, 1998. 7p
- 698 AZEVEDO, R.A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated
699 carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a
700 catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum*, v.104, p.280-292, 1998.
- 701 BAIRES, H. P. et al. Allelopathy and exotic plants: from genes to invasion. *Science*, v.
702 301, p. 1377-1380, 2003.
- 703 Barbosa, Marta Ribeiro, Silva, Marina Medeiros de Araújo, Willadino, Lilia, Ulisses,
704 Claudia, & Camara, Terezinha Rangel. (2014). Geração e desintoxicação enzimática de
705 espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, 44(3), 453-460.
706 <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>
- 707 BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase improved as says and as say
708 applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 44, p. 276-287,
709 1971.
- 710 BELTRAME, T.P.; RODRIGUES, E. Comparação de diferentes densidades de feijão
711 guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração florestal de uma área de reserva
712 legal no Pontal do Paranapanema, SP. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v. 36, n. 80, p.
713 317-327, 2008.
- 714 BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2nd
715 ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- 716 BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional
717 significance and future perspectives. *Biotechnology Advances*, v.29, p.850-859, 2011.
- 718 BHATTACHARJEE, S. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress,
719 senescence and signal transduction in plants. *Current Science*, Columbus, v. 89, n. 7, p.
720 1113-1121, Oct. 2005.

- 721 BOGATEK, R. et al. Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed
722 germination and seedling growth. *Biologia Plantarum*, v. 50, n. 1, p. 156-158, 2005.
- 723 Borges, F.C., Santos, L.S., Corrêa, M.J.C., Oliveira, M.N., & Souza Filho, A.P.S..
724 (2007). Potencial alelopático de duas neolignanas isoladas de folhas de *Virola*
725 *surinamensis* (Myristicaceae). *Planta Daninha*, 25(1), 51-59.
- 726 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram
727 quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical*
728 *Biochemistry*, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- 729 BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. Regras para
730 análise de sementes. Brasília, Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- 731 CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide
732 dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*).
733 *Physiologia Plantarum*, v.83, p.463-468, 1991.
- 734 CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E. A.; COSTA, M. B. B. da;
735 MIYASAKA, S.; AMADO, T. J. C. Aspectos gerais da adubação verde. In: COSTA,
736 M. B. B. da (Coord.). Adubação verde no sul do Brasil. 2. ed. Rio de Janeiro:
737 Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 1993. p. 1-56.
- 738 CARVALHO, J. L. S.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.1.
739 Screening fitoquímico do *Nasturtium officinale* R. Br.: controle de qualidade. *Visão*
740 *Acadêmica*, 7: 2: 25-32. 2006.
- 741 CARVALHO, W. P., de CARVALHO, G. J., NETO, D. D. O. A., & TEIXEIRA, L. G.
742 V. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de
743 alface=Allelopathy of green manures extracts on germination and initial growth of the
744 lettuce. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 3, 2014.
- 745 CARVALHO, W. P.; CARVALHO, G. J.; ANDRADE, M. J. B.; FONSECA, G.;
746 ANDRADE, L.; VALACI, F.; OLIVEIRA, D. P. Alelopatia de adubos verdes sobre
747 feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Biociências*, Porto
748 Alegre, v. 10, p. 86-93. 2012.
- 749 CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R.; Aspectos
750 bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S. et al. (Ed.)
751 *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos*. 2005, 264 p. Piracicaba,
752 FEALQ. p.81-124.
- 753 Chung, I.M.; Ahn, J.K. & Yun, S.J. 2001. Assesment of allelopathic potential of
754 barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. *Crop*
755 *Protection* 20: 921-928.
- 756 Copping, L. G., & Duke, S. O. (2007). Natural products that have been used
757 commercially as crop protection agents. *Pest management science*, 63(6), 524-554.

- 758 Cothren, J. T., & Oosterhuis, D. M. (2010). Use of growth regulators in cotton
759 production. In *Physiology of Cotton* (pp. 289-303). Springer Netherlands.
- 760 CRUZ-ORTEGA, R.; NÚÑEZ-LARA, A.; ANAYA, A.L. Allelochemical stress can
761 trigger oxidative damage in receptor plants. *Plant Signaling & Behavior*, v.2, n.4, p.269-
762 270, 2007.
- 763 DANELUZZI, G. S.; DOS SANTOS, V. H. M.; SILVA, L. P.; DA SILVA, R. M. G.
764 Avaliação dos potenciais fitotóxico e citotóxico de *Pyrostegia venusta* (Ker gawl.)
765 Miers (Bignoniaceae) = Evaluation of phytotoxic and cytotoxic potential of *Pyrostegia*
766 *venusta* (Ker-gawl.) Miers (bignoniaceae). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, 2014.
- 767 De Gara, L., de Pinto, M.C. & Arrigoni, O. 1997. Ascorbate synthesis and ascorbate
768 peroxidase activity during the early stage of wheat germination. *Physiologia Plantarum*
769 100: 894-900.
- 770 Dinakar C, Djilianov D, Bartels D. 2012. Photosynthesis in desiccation tolerant plants:
771 energy metabolism and antioxidative stress defence. *Plant Science* 182, 29-41.
- 772 DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in
773 plants. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*.
774 Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.9, p.178-203.
- 775 EBERLEIN, C. V. Germination of Sorghum alnum seeds and longevity in soil. *Weed*
776 *Sci.*, v. 35, n. 6, p. 796-801, 1987.
- 777 EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and
778 acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society Horticultural*
779 *Science*, Alexandria, n. 71, p. 428-434, 1958.
- 780 EINHELLIG, F. A. Mode of allelochemical action of phenolic compounds. In:
781 MACIAS, F. A. et al. (Eds.). ***Allelopathy: chemistry and mode of action of***
782 ***allelochemicals***. London: CRC Press, LLC, 2004. p. 217-238.
- 783 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro
784 nacional de pesquisa de solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema brasileiro de classificação
785 de solos. Brasília: 2006. 169p.
- 786 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Sistema
787 Brasileiro de Classificação de Solo. 2. ed. Rio de Janeiro, 2006, 306 p.
- 788 FERNANDES, M. F.; BARRETO, A. C; EMÍDIO FILHO, J. Fitomassa de adubos
789 verdes e controle de plantas daninhas em diferentes densidades populacionais de
790 leguminosas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1593-1600,
791 1999.
- 792 FERREIRA, A. G. (2004). Interferência: competição e alelopatia. p. 251-262. In:
793 FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre:
794 Artmed, 2004. 323 p.

- 795 FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da
796 ecofisiologia. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Londrina, v. 12, p. 175-204,
797 2000.
- 798 FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre:
799 Artmed, 2004. 323 p.
- 800 FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Experimental Designs:
801 um pacote R para análise de experimentos. **Revista da Estatística da UFOP**, v. 1, n. 1,
802 p. 1-9. 2011.
- 803 FONTANÉTTI, A.; CARVALHO, G. J.; MORAIS, A. R.; ALMEIDA, K.; DUARTE,
804 W. F. Adubação verde no controle de plantas invasoras nas culturas de alface-americana
805 e de repolho. Ciência e Agrotecnologia, v. 28, p. 967-973, 2004.
- 806 Foyer, C. H., Neukermans, J., Queval, G., Noctor, G., & Harbinson, J. (2012).
807 Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression.
808 Journal of Experimental Botany, 63(4), 1637-1661.
- 809 FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive
810 oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiologia Plantarum, v.119,
811 p.355-364, 2003.
- 812 GAO, X.; LI, M. E.I.; GAO, Z.; LI, C.; Sun, Z. Allelopathic effects of *Hemistepta*
813 *lyrata* on the germination and growth of wheat, sorghum, cucumber, rape, and radish
814 seeds. Weed biology and management, Japan, v. 9, n. 3, p. 243-249, 2009.
- 815 GARG, N. & MANCHANDA, G. 2009. ROS generation in plants: Boon or bane? Plant
816 Biosystems, 143(1): 81-96.
- 817 GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic
818 stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, Nova Delhi, v. 48, p.
819 909-930, 2010.
- 820 GNIAZDOWSKA, A.; BOGATEK, R. Allelopathic interactions between plants.
821 Multisite action of allelochemicals. Acta Physiology. Plant., n. 27, n. 3, p. 395-407,
822 2005.
- 823 GORLA, C.M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de
824 *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e
825 *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e
826 pepino. Revista Brasileira de Sementes, v.19, p.261-266, 1997.
- 827 GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Efeito
828 alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas
829 daninhas e de hortaliças. Planta Daninha, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.
- 830 HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing
831 external water potencial in osmotic solution. Journal Express Botany, 27: 480-9, 1976.

- 832 Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 4. Oxford:
833 Clarendon; 2007.
- 834 HARPER, J. R.; BALKE, N. E. Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in
835 oat roots by salicylic acid. *Plant Physiol.*, v. 8, n. 6, p. 1349-1353, 1981.
- 836 Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and
837 stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125:189-198.
- 838 INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. Cartas Climáticas do Estado do
839 Paraná. Londrina: IAPAR, 2012
- 840 Karuppanapandian, T, Wang, H. W, Prabakaran, N, Jeyalakshmi, K, Kwon, M,
841 Manoharan, K, & Kim, W. dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in
842 mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with
843 silver nanoparticles. *Plant Physiology and Biochemistry* (2011). 49, 168-177.
- 844 KIM, Y.H.; KWAK, S.S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In:
845 GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfi eld:
846 Science Publishers, 2010. p.129-150.
- 847 LABOURIAU, L.G. A germinação das sementes. Washington: Secretaria da OEA,
848 1983. 173p.
- 849 MAGUIRE, J. D. Speed of germination and in selection and evaluation from seeding
850 emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- 851 MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. Ed. Fortaleza: Edições
852 UFC: 2009.
- 853 MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed*
854 *Science and Technology*, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.
- 855 MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant*
856 *Science*, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405-410, Sept. 2003.
- 857 Møller, I. M., Jensen, P. E., and Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular
858 components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 459–481. doi:
859 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946.
- 860 MORELAND, D. E.; NOVITSKI, W. P. Interference by flavone and flavonols with
861 chloroplasts mediated electrons transport and phosphorylation. *Phytochemistry*, v. 27, n.
862 11, p. 3359-3366, 1988.
- 863 Müller, K., Job, C., Belghazi, M., Job, D. & Leubner-Metzger, G. 2010. Proteomics
864 reveal tissue-specific features of the cress (*Lepidium sativum* L.) endosperm cap
865 proteome and its hormone-induced changes during seed germination. *Proteomics* 10:
866 406-416.

- 867 ORACZ, K. et al. The mechanisms involved in seed dormancy alleviation by hydrogen
868 cyanide unravel the role of reactive oxygen species as key factors of cellular signaling
869 during germination. *Plant Physiology*, Washington, v. 150, p. 494-505, May 2009.
- 870 Pandey, D. K., Mishra, N., & Singh, P. (2005). Relative phytotoxicity of hydroquinone
871 on rice (*Oryza sativa* L.) and associated aquatic weed green musk chara (*Chara*
872 *zeylanica* Willd.). *Pesticide biochemistry and physiology*, 83(2), 82-96.
- 873 PEIXOTO, H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA,
874 A.M.; Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of
875 oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.11, n.3,
876 p.137-143, 1999.
- 877 POLITYCKA, B. Peroxidase activity and lipid peroxidation in roots of cucumber
878 seedlings influenced by derivatives of cinnamic and benzoic acids. *Acta Physiologiae*
879 *Plantarum*, v. 18, n. 4, p. 365-370, 1996.
- 880 PRODANOVIĆ, O.; PRODANOVIĆ, R.; BOGDANOVIĆ, J.; MITROVIĆ, A.;
881 MILOSAVIĆ, N.; RADOTIĆ, K. Antioxidative enzymes during germination of two
882 lines of serbian spruce [*Picea omorika* (Panč.) Purkyně]. *Archives of Biological*
883 *Sciences*, Oxford, v. 5, n. 3, p. 209-216, 2007.
- 884 RAZAVI, S. M. Plant coumarins as allelopathic agents. *International Journal of*
885 *Biological Chemistry*, Pakistan, v. 5, n. 1, p. 86-90, 2011.
- 886 Rezende, C.P., J.C. Pinto, A.R. Evangelista e I.P.A. Santos. 2003. Alelopatia e suas
887 interações na formação e manejo de pastagens. *Boletim Agropecuário*, Universidade
888 Federal de Lavras, MG. (54):1-55.
- 889 Rice, E.L. 1984. **Allelopathy**. 2ª ed. New York, Academic Press.
- 890 Rizvi, S.J.H.; Haque, H.; Singh, V.K. & Rizvi, V. 1992. A discipline called allelopathy.
891 Pp. 1-10. In: S.J.H. Rizvi & V. Rizvi (eds.). **Allelopathy: basic and applied aspects**.
892 London, Chapman & Hall.
- 893 RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D.; REIS, R.A. Alelopatia em plantas
894 forrageiras. Jaboticabal: FCAVJ-UNESP/ FUNEP, 1992. 18p.
- 895 ROSA, S. D. V. F.; REZENDE, E. V. R. V. P.; VIEIRA, E. S. N.; VEIGA, R. D.;
896 VEIGA, A. D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas lea associadas à
897 tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. *Revista Brasileira de*
898 *Sementes*, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.
- 899 ROY, M. M. Effects of pH on germination of *Dichrostachys cineria* (L.). Wegth & Arn.
900 *Journal Tree Science*, v. 5, n. 1, p. 62-64, 1986.
- 901 SAMAJ, J.; BALUSKA, F.; DIEDRIK, M. New signaling molecules regulating root
902 hair tip growth. *Plant Science*, v.9, n.5, p.217-220 2004.

- 903 SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals
904 triggering antioxidant gene defenses. Brazilian Journal of Medical and Biological
905 Research, Ribeirão Preto, v. 38, p. 995-1014, 2005.
- 906 Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive oxygen species, oxidative
907 damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J Bot
908 2012, Article ID 217037, doi:10.1155/2012/217037.
- 909 Silva Jr, J. F.; Klar, A. E.; Tanaka, A. A.; Silva, I. F. E.; Cardoso, A. E. I.; Putti, F. F.
910 Vigor de sementes de tomate submetidos a estresse hídrico ou salino/Tomato seeds
911 vigor under water or salt stress. Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas, v. 8,
912 n. 1, p. 65-72, 2014.
- 913 SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias
914 empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de
915 laboratório-Revisão crítica. Planta Daninha, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.
- 916 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918 p.
- 917 TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in
918 fronds of duckweed (*Lemna minor*). Plant Science, v. 153, n. 1, p. 65-72, 2000.
- 919 TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; PINTO, M. C.; GARA, L. A. Comparative study of
920 glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds.
921 Journal Experimental Botany, Oxford, v. 52, p. 647-1654, 2001.
- 922 Umair A, Ali S, Taree MJ, Ali I, Tareen MN (2012). Effects of seed priming on the
923 antioxidant enzymes activity of mungbean (*Vigna radiata*) seedlings. Pak. J. Nutr.
924 11(2):140-144
- 925 VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico
926 em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. Pesqui.
927 Agropecu .Bras, Brasília DF, v. 26, p. 1957-1968, 1991.
- 928 WILLEKENS, H. I. D.; MONTAGU, M. van; CAMP, W. van. Catalases in plants.
929 Molecular Breeding, Dordrecht, v. 1, p. 207-228, 1995.
- 930 YU, J.Q., YE, S.F., ZHANG, M.F.; HU, W.H. Effects of root exudates and aqueous
931 root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and
932 antioxidant enzymes in cucumber. Biochemical Systematics and Ecology, v. 31, p.129,
933 2003.
- 934 ZHANG, Y.; GU, M.; SHI, K.; ZHOU, Y. H.; YU, J. Q. Effects of aqueous root
935 extracts and hydrophobic root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L.) on nuclei
936 DNA content and expression of cell cycle-related genes in cucumber radicles. Plant
937 Soil, v. 327, n. 1-2, p. 455-463, 2010.
- 938

939

ANEXO I

940

NORMAS DA REVISTA BRAGANTIA

941

ISSN: 1678-4499

942

Classificação Qualis 2014 – Ciências Ambientais: A2

943

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

945

946• Objetivos e política editorial

947• Preparação de originais

948• Encaminhamento de trabalhos

949• Custo para publicação

950

OBJETIVOS E POLÍTICA EDITORIAL

951 Após 1 de janeiro de 2016 serão considerados para publicação apenas manuscritos
952 escritos em inglês.

953

954 **BRAGANTIA** - revista de ciências agronômicas - é um periódico trimestral, editado
955 pelo Instituto Agronômico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios,
956 Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

957

958 **BRAGANTIA** tem por objetivo publicar trabalhos científicos originais em português e
959 inglês, que contribuam para o desenvolvimento das Ciências Agronômicas, nas áreas de
960 Ciências Básicas (Botânica, Citogenética, Fisiologia Vegetal, Biotecnologia, Biologia
961 Molecular e Fitoquímica), Melhoramento Genético Vegetal, Fitotecnia, Fitossanidade,
962 Solos e Nutrição de Plantas, Tecnologia de Sementes e Fibras, Tecnologia de Pós-
963 colheita, Irrigação e Agrometeorologia.

964

965 Os trabalhos enviados à **BRAGANTIA** devem ser inéditos e não podem ser publicados
966 ou submetidos à publicação em outra revista simultaneamente. A revista publica artigos,
967 notas científicas e trabalhos de revisão (a convite). Os manuscritos devem observar as
968 normas de formatação dos textos descritas em Preparação de originais.

969

970 O conteúdo dos manuscritos submetidos à publicação em **BRAGANTIA** é de
971 responsabilidade exclusiva de seu(s) autor(es).

972

973 Os trabalhos submetidos à publicação em **BRAGANTIA** são avaliados inicialmente
974 pelo Comitê Editorial, o qual define se os mesmos se enquadram no escopo da
975 **BRAGANTIA** e apresentam mérito para publicação. Trabalhos que não atendam às
976 "Recomendações aos Autores" ou que necessitem de grande revisão serão prontamente
977 recusados, mesmo que possuam mérito científico. Após essa fase, o trabalho é
978 encaminhado para dois revisores especialistas na área de conhecimento, sendo os
979 pareceres emitidos pelos revisores analisados pelo Comitê Editorial (Editor-associado e
980 Editor-chefe). O parecer conclusivo é encaminhado aos autores, com as indicações de
981 correções e a necessidade de submissão da nova forma (versão). Os autores devem
982

983 apresentar juntamente com a nova forma do trabalho as justificativas caso discordem
984 das correções e as respostas a possíveis indagações dos editores e revisores. A nova
985 forma é em seguida confrontada pelo editor-associado com a versão original do
986 trabalho. Uma vez aceito, o trabalho é encaminhado para revisão de referências, abstract
987 e vernáculo. Após diagramação, o texto é submetido a correções finais pelos autores e
988 pelo comitê editorial. O fluxo editorial poderá ser acompanhado pelo sistema de
989 gerenciamento online *Submission*, a partir de 3 de agosto de 2009.

990

991 Os manuscritos devem ser submetidos pelo sistema de gerenciamento eletrônico (vide
992 item Encaminhamento de trabalhos).

993

994 **PREPARAÇÃO DE ORIGINAIS**

995 Os autores devem digitar no espaço "Comentários ao Editor" uma carta de
996 encaminhamento, apresentando o trabalho e explicitando a principal contribuição do
997 mesmo para o avanço do conhecimento na área de Ciências Agrárias. A carta de
998 encaminhamento deve indicar que o trabalho não foi submetido para publicação em
999 outro periódico.

1000

1001 Os artigos e as revisões devem ter até 25 páginas (folha tamanho A4 com margens de 3
1002 cm, fonte em Times New Roman tamanho 12, páginas e linhas numeradas
1003 sequencialmente), incluindo tabelas e figuras. As Notas Científicas devem apresentar
1004 até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras. Notas científicas são breves comunicações,
1005 cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas
1006 com volume insuficiente para constituir um artigo científico. As revisões são publicadas
1007 a convite da Revista.

1008

1009 O texto deve ser digitado em programa compatível com o Word (Microsoft), em
1010 espaçamento duplo. As principais divisões do texto (Introdução, Material e Métodos,
1011 Resultados e Discussão e Conclusões) devem ser numeradas, em maiúsculo e negrito, e
1012 centralizadas na página. Notas científicas não apresentam divisões, conforme
1013 mencionado anteriormente.

1014

1015 O título do manuscrito deve refletir o conteúdo do trabalho e não deve ter subtítulo,
1016 abreviações, fórmulas e símbolos. O nome científico deve ser indicado no título apenas
1017 se a espécie for desconhecida.

1018

1019 Os nomes do autor e co-autores devem ser inseridos no sistema submission na mesma
1020 ordem em que aparecerão no trabalho final. Não indicar a autoria do trabalho no texto
1021 do manuscrito que será encaminhado aos assessores ad-hoc.

1022

1023 O resumo e abstract devem apresentar o objetivo da pesquisa de forma clara e concisa,
1024 os métodos de forma resumida, os resultados mais relevantes e as conclusões. O resumo
1025 deve apresentar até 250 palavras, frases curtas, completas e com conexão entre si. Não
1026 deve apresentar citações bibliográficas. O título do trabalho em inglês, abstract (também
1027 com no máximo 250 palavras) e key words devem ser fiéis versões do título em
1028 português, resumo e palavras-chave.

1029

1030 As palavras-chave e key words não devem repetir palavras do título, devendo-se incluir
1031 o nome científico das espécies estudadas. As palavras devem ser separadas por vírgula e
1032 iniciadas com letra minúscula, inclusive o primeiro termo. Os autores devem apresentar
1033 de 3 a 6 termos, considerando que um termo pode ser composto de duas ou mais
1034 palavras.

1035
1036 A Introdução deve ter de uma a duas páginas, conter a justificativa para a realização do
1037 trabalho, situando a importância do problema científico a ser solucionado. A informação
1038 contida na Introdução deve ser suficiente para o estabelecimento da hipótese da
1039 pesquisa. Os autores devem citar trabalhos recentes publicados em periódicos
1040 científicos, porém a citação de trabalhos clássicos é aceita. Deve-se evitar a citação de
1041 resumos e abstracts. No último parágrafo da Introdução, os autores devem apresentar a
1042 hipótese científica e o objetivo do estudo, da mesma forma que no Resumo.

1043
1044 O Material e Métodos deve apresentar a descrição da condição experimental e dos
1045 métodos utilizados de tal forma que haja informação suficiente e detalhada para que o
1046 trabalho seja repetido. Fórmulas, expressões ou equações matemáticas devem ser
1047 iniciadas à margem esquerda da página. Incluir referências à análise estatística utilizada
1048 e informar a respeito das transformações dos dados. A indicação de significância
1049 estatística deve ser da seguinte forma: $p < 0,01$ ou $p > 0,05$ (letra "p" em minúsculo).

1050
1051 No item Resultados e Discussão, os autores devem apresentar os resultados da pesquisa
1052 e discuti-los no sentido de relacionar as variáveis analisadas à luz dos objetivos do
1053 estudo. A mera comparação dos resultados com os dados apresentados por outros
1054 autores não caracteriza a discussão dos mesmos. Deve-se evitar especulação excessiva e
1055 os dados não devem ser apresentados simultaneamente em tabelas e em figuras.

1056
1057 A Conclusão deve ser elaborada de tal forma que responda a questão abordada na
1058 pesquisa, confirmando ou não a hipótese do trabalho e estando de acordo com o
1059 objetivo. Os autores devem ficar atentos para que a Conclusão não seja um resumo dos
1060 principais resultados. A redação da Conclusão deve ser com o verbo no presente do
1061 indicativo.

1062
1063 Apenas as referências estritamente necessárias para a compreensão do artigo devem ser
1064 citadas, sendo recomendado ao redor de 25 referências para artigos e notas científicas.
1065 A listagem das referências deve iniciar em uma nova página.

1066
1067 As citações de autores no texto devem ser sempre seguidas do ano de publicação.
1068 Quando dois autores, indicar os sobrenomes separados por "&". Havendo mais de dois
1069 autores, citar o sobrenome do primeiro, seguido da expressão "et al.". Ex.: Huber (1981)
1070 ou (Huber, 1981); Steel & Torrie (1980) ou (Steel & Torrie, 1980); Haag et al. (1992)
1071 ou (Haag et al., 1992). Se houver mais de um artigo dos mesmos autores no mesmo ano,
1072 faça a distinção com letras minúsculas: Haag et al. (1992a, b).

1073
1074 Não são aceitas citações de teses, dissertações, comunicações pessoais, relatórios não
1075 publicados e também trabalhos publicados em anais de eventos.

1076

1077 As referências são padronizadas segundo os modelos abaixo, devem estar em ordem
1078 alfabética de autores e, dentro desta, em ordem cronológica de trabalhos; havendo dois
1079 ou mais autores, separá-los por vírgula e “&” entre o penúltimo e o último autor; indicar
1080 o nome de todos os autores, não usar a expressão “et al.”; os títulos dos periódicos
1081 devem ser escritos por extenso; incluir apenas os trabalhos citados no texto, em tabelas
1082 e/ou em figuras, na seguinte forma:

1083

1084 a) Periódicos

1085

1086 Rais, D. S., Sato, M. E., & Silva, M. Z. (2013). Detecção e monitoramento da
1087 resistência do tripses *Frankliniella occidentalis* ao inseticida espinosade. **Bragantia**, 72,
1088 35-40. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052013005000018>.

1089

1090 b) Livros e capítulos de livros

1091 Miranda, J. C. C. (2008). Cerrado: micorriza arbuscular, ocorrência e manejo.
1092 Planaltina: Embrapa.

1093

1094 Huber, D. M. (1981). The role of nutrients and chemicals. In M. J. C. Asher, & P. J.
1095 Shipton (Eds.), *Biology and control of take-all* (p. 317-341). London: Academic Press.

1096 Quando absolutamente necessárias ao entendimento do trabalho, tabelas e figuras
1097 devem acompanhar o texto. O conjunto tabela ou figura e a sua respectiva legenda deve
1098 ser auto-explicativo, sem necessidade de recorrer ao texto para sua compreensão. Os
1099 títulos das tabelas e figuras devem ser claros e completos e incluir o nome (vulgar ou
1100 científico) da espécie e das variáveis dependentes. As figuras devem vir no final do
1101 texto. São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para
1102 ilustrar o texto. Os autores devem evitar cores nas figuras, exceto para fotografias. No
1103 caso de figuras compostas, cada gráfico deve ser assinalado com a inscrição "(a)", em
1104 letra minúscula.

1105

1106 As tabelas não devem apresentar linhas verticais e assim como as figuras devem ser
1107 posicionadas, nessa ordem, após a listagem das referências. Os números nas tabelas
1108 devem ser alinhados pela vírgula na coluna. As figuras e tabelas devem ser
1109 acompanhadas pela respectiva legenda, com as unidades das variáveis analisadas
1110 seguindo o Sistema Internacional de Medidas e posicionadas no topo das colunas nas
1111 tabelas, fora do cabeçalho da mesma. As grandezas no caso de unidades compostas
1112 devem ser separadas por espaço e a indicação dos denominadores deve ser com notação
1113 em sobrescrito. Exemplos: ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), [mg (g MS)^{-1}].

1114

1115 RECOMENDAÇÕES IMPORTANTES:

1116 - No caso de trabalho que envolva plantio direto, o histórico da área deve ser informado.

1117 - não mencionar o laboratório, departamento, centro ou universidade onde a pesquisa foi
1118 conduzida.

1119 - Trabalhos relacionados ao controle químico de pragas e doenças (com produtos
1120 naturais e sintéticos) e estudos que envolvam micropropagação e cultura de tecidos não
1121 serão considerados para a publicação em *Bragantia*. No caso de reguladores vegetais,
1122 bioestimulantes e demais produtos químicos, os trabalhos devem necessariamente
1123 estabelecer uma hipótese bem fundamentada, sendo o agente químico utilizado para
1124 testar a hipótese e responder à questão abordada no artigo.

- 1125 - Os autores devem consultar fascículo recente de Bragantia para ciência do layout das
1126 tabelas e figuras.
1127 - Na submissão online dos trabalhos, os nomes do autor e co-autores devem ser
1128 inseridos no sistema na mesma ordem em que aparecerão no trabalho final. Não indicar
1129 a autoria do trabalho no texto do manuscrito que será encaminhado aos assessores ad-
1130 hoc.
1131 - O não atendimento às normas implicará na devolução do trabalho.

1132

1133 **ENCAMINHAMENTO DE TRABALHOS**

1134 As submissões de trabalhos serão realizadas eletronicamente. Acesse o link no portal de
1135 Bragantia na Scielo. (<http://mc04.manuscriptcentral.com/brag-scielo>)

1136

1137 **CUSTO PARA PUBLICAÇÃO**

1138 O custo para publicação, aplicado apenas para artigos aceitos, é de R\$ 50,00 por página
1139 diagramada (formato final da revista). Todos os demais processos, como por exemplo,
1140 submissão e avaliações dos manuscritos, são livres de taxas.

1141

1142

CONTATO

1143

BRAGANTIA - Secretaria

1144

Avenida Barão de Itapura, 1481

1145

13020-902 - Campinas / SP - Brasil

1146

Tel.: (19) 2137-0653

1147

Fax: (19) 2137-0666

1148

E-mail: editor@iac.sp.gov.br

1149

1150

CAPÍTULO 2

ALELOPATIA ENTRE ESPÉCIES DE DIFERENTES CATEGORIAS SUCCESIONAIS UTILIZADAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA

O artigo segue as normas sugeridas pela revista *Bioscience Journal* citada em Anexo I do Capítulo 2.

1 ALELOPATIA ENTRE ESPÉCIES DE DIFERENTES CATEGORIAS SUCESSIONAIS

2 UTILIZADAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA

3
4 Rennan Oliveira MEIRA; Andréa Maria Teixeira FORTES; Jaqueline Malagutti CORSATO

6 RESUMO

7 O uso da adubação verde com diferentes espécies florestais nativas, na recuperação de áreas
8 degradadas, apresenta ótima eficiência para restauração dessas áreas. Essa convivência pode ser
9 influenciada pela liberação de compostos químicos no ambiente, fenômeno conhecido como
10 alelopatia. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito alelopático do adubo verde *C.*
11 *cajan* (feijão guandu) sobre espécies: pioneira *B. forficata* (pata-de-vaca) e secundária inicial *P.*
12 *rigida* (angico-vermelho), além de avaliar a influência alelopática da espécie pioneira sobre a
13 espécie secundária inicial, e assim, diferenciar seu comportamento ecofisiológico, dentro de um
14 modelo de restauração ecológica. O extrato aquoso foi preparado por meio da massa seca do guandu
15 e das folhas da pata-de-vaca nas proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% (p/v). Foi realizado o *screening*
16 fitoquímico dos extratos, como também, bioensaios de germinação e desenvolvimento de plântulas
17 de *B. forficata* e *P. rigida* sob influência dos extratos aquosos de feijão guandu e pata-de-vaca. Foi
18 constatada a presença de compostos secundários das classes dos triterpenóides pentacíclicos,
19 flavonóides e taninos para os extratos aquosos das duas espécies. O extrato aquoso do feijão guandu
20 exerceu efeito positivo, principalmente, nas menores proporções (2,5 e 5%) para as sementes e
21 plântulas de *B. forficata*, já para *P. rigida* apresentou efeito inibitório, diminuindo o número de
22 sementes germinadas por dia, atrasando a germinação, apresentando efeitos alelopáticos negativos
23 nas maiores proporções (7,5 e 10%). O extrato aquoso da pioneira pata-de-vaca sobre a secundária
24 *P. rigida*, apresentou efeito alelopático conforme o aumento da proporção do extrato, atrasando a
25 germinação e diminuindo o número de sementes germinadas por dia, além de influenciar no
26 crescimento das plântulas diminuindo o comprimento médio da raiz e parte aérea, na presença da

27 proporção 10%. Portanto, conclui-se que o adubo verde feijão guandu, apresenta efeitos
28 alelopáticos benéficos sobre a germinação e desenvolvimento inicial da espécie pioneira *B.*
29 *forficata*, porém o mesmo não acontece sobre a espécie secundária inicial *P. rigida*. Além disso, a
30 pioneira apresenta efeitos inibitórios sobre *P. rigida*, conforme o aumento da proporção do extrato,
31 tanto na germinação quanto no desenvolvimento inicial.

32 **PALAVRAS-CHAVE:** Adubo verde. *Cajanus cajan*. Efeito alelopático. *Bauhinia forficata*.
33 Sucessão ecológica. *Parapiptadenia rigida*.

34

35 **ALLELOPATHY BETWEEN SPECIES OF DIFFERENT CATEGORIES SUCCESSIONAL**
36 **USED IN THE ECOLOGICAL RESTORATION**

37 **ABSTRACT**

38 The use of green manure with different native species, in the recovery of degraded areas, has great
39 efficiency for restoration of these areas. This acquaintanceship can be influenced by the release of
40 chemicals in the environment, a phenomenon known as allelopathy. Thus, the objective of this
41 study was to evaluate the allelopathic effect of green manure *C. cajan* (pigeonpea) on species:
42 pioneer *B. forficata* (pata-de-vaca) and early secondary *P. rigida* (angico-vermelho), and evaluate
43 the allelopathic influence of pioneer specie on the initial secondary specie, and thus differentiate
44 their ecophysiological behavior within an ecological restoration model. The aqueous extract was
45 prepared by dry weight of the pigeonpea and the leaves *B. forficata* in the proportions 0; 2.5; 5; 7.5
46 to 10% (w / v). We conducted the phytochemical screening of the extracts as well, bioassays of
47 germination and seedling development of *B. forficata* and *P. rigida* under the influence of aqueous
48 extracts of the donor species (pigeonpea and *B. forficata*). The presence of secondary compounds of
49 the class of pentacyclic triterpenoides, flavonoids and tannins for aqueous extracts of the two donor
50 species was found. The aqueous extract of green manure had a positive effect, especially in the
51 smaller proportion (2.5 and 5%) for the seeds and seedlings of *B. forficata*, as for *P. rigida* showed
52 inhibitory effect, decreasing the number of germinated seeds per day delaying the germination, with

53 negative allelopathic effects in higher proportions (7.5 to 10%). The aqueous extract of the
54 pioneering *B. forficata* on secondary *P. rigida*, presented allelopathic effect as increasing the
55 proportion of extract, delaying germination and decreasing the number of germinated seeds per day,
56 besides influencing the growth of seedlings diminuindo the average length of root and shoot in the
57 presence of a proportion of 10%. Therefore, it is concluded that the green manure pigeonpea has
58 beneficial allelopathic effects on germination and early development of pioneer species *B. forficata*,
59 but the same is not true of the initial *P. rigida* secondary species, in addition to pioneering features
60 inibiotórios effects on *P. rigida*, with increasing proportion of the extract during germination, as in
61 early development.

62 **KEYWORDS:** Green manure. *Cajanus cajan*. Allelopathic effect. *Bauhinia forficata*. Ecological
63 succession. *P. rigida*.

64

65 **INTRODUÇÃO**

66 Na ausência de um planejamento adequado no uso dos recursos naturais, a degradação dos
67 ecossistemas florestais vem se tornando um problema cada vez mais visível (SANTOS et al., 2012),
68 seja ela por falta de ações conservacionistas e/ou pelo manejo inadequado do solo, o que contribuiu
69 com o surgimento de áreas degradadas, devido principalmente às atividades antrópicas.

70 Nas últimas décadas, os ecossistemas tropicais foram intensamente devastados e
71 transformados em pastagens (CHEUNG et al., 2010) e, a necessidade de restauração dessas áreas,
72 para restauração de funções naturais e serviços ecossistêmicos tem aumentado (FLORENTINE;
73 WESTBROOKE, 2004; VIGLIZZO; FRANK, 2006).

74 Em muitas áreas degradadas, o que se nota muitas vezes é uma matriz de material mineral de
75 pobre estrutura física, pouca ou nenhuma matéria orgânica e quantidades muito pequenas de
76 nutrientes para as plantas. A falta de matéria orgânica constitui um dos principais problemas da
77 recuperação dessas áreas degradadas (LONGO et al., 2011).

78 O uso da adubação verde em conjunto com diferentes espécies florestais em áreas
79 degradadas, apresenta ótima eficiência, não só para recuperação e conservação do solo (incluindo
80 sua aeração e adubação), mas também para minimizar a entrada de gramíneas exóticas perenes,
81 além de atrair insetos polinizadores e dispersores (BECHARA et al., 2005).

82 Desta forma, de acordo com Beltrame e Rodrigues (2007 e 2008), essas são características
83 muito conhecidas da adubação verde, que dão condições favoráveis (*safe sites*) para o
84 desenvolvimento de diferentes espécies, o que indicam que podem ser utilizadas na recuperação de
85 áreas degradadas (HARPER et al., 1961; URBANSKA, 2000; BELTRAME; RODRIGUES, 2007 e
86 2008; BERTACCHI et al., 2012).

87 Uma espécie de adubação verde, muita utilizada como colonizadora de área degradada e
88 criadora de “*safe sites*” é o feijão guandu, *Cajanus cajan* (L.) Millsp, espécie leguminosa
89 pertencente à família Fabaceae, com potencial produtivo de massa seca para a cobertura do solo no
90 estágio inicial (restauração física), cobrindo rapidamente o solo e aumentando a biomassa inicial do
91 sistema (FERNANDES et al., 1999; ALVES et al., 2004), como também, o importante papel na
92 adubação por meio da fixação de nitrogênio (restauração química). Além disso, a espécie possui
93 ciclo de vida de até três anos e dependendo do manejo utilizado, o que dificulta sua ação invasora
94 (BELTRAME; RODRIGUES, 2008).

95 Outro fator importante adotado na restauração ecológica é o uso de espécies de diferentes
96 grupos sucessionais (pioneiras, secundárias e clímacicas), como tentativa de dar a área a ser
97 restaurada, uma regeneração artificial, seguindo um modelo das condições com que ela ocorre
98 naturalmente na floresta (KAGEYAMA et al., 1994; LIEBSCH, 2008; RODRIGUES;
99 BRANCALION; ISENHAGEN, 2009; OLIVEIRA, 2011). Separando as espécies em grupos
100 ecológicos ou sucessionais, faz com que espécies iniciais de sucessão promovam sombreamento
101 adequado às espécies em estágio inicial de desenvolvimento (KAGEYAMA; GANDARA, 2000).

102 De acordo com essa característica, uma espécie inicial presente em projetos de restauração é
103 a *Bauhinia forficata* Link, conhecida popularmente como pata-de-vaca. Segundo Lorenzi (1992) e

104 Carvalho (1994) é classificada como espécie pioneira, caducifólia, da família Fabaceae, que atinge
105 até 10 m de altura e diâmetro entre 20 e 30 cm, ocorrendo desde o Rio de Janeiro e Minas Gerais até
106 o Rio Grande do Sul, especialmente nas florestas de Mata Atlântica. De acordo com Costa et al.
107 (2013), a espécie é considerada medicinal pela ação diurética, antidiabética, tônica renal, depurativa
108 e hipoglicemiante (VIANA et al., 2008), sendo também utilizada na arborização urbana.

109 Outra espécie muito utilizada é a *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan, conhecida
110 popularmente por angico-vermelho, angico-verdadeiro, gurucaia, angelim, entre outros. Pertence à
111 família Mimosaceae, e ocorre naturalmente nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São
112 Paulo até o Rio Grande do Sul (LORENZI, 2002) em Floresta Estacional Decidual e Semidecidual,
113 avançando em menor escala, na Floresta Ombrófila Mista (CARVALHO, 1994). Árvore caducifólia
114 de grande porte, podendo atingir 35 metros de altura, e 40 a 70 cm de diâmetro a altura do peito
115 (DAP) (CARVALHO, 2003). Tem relevante importância na restauração de florestas ciliares, sendo
116 mais frequente nas matas abertas e menos densas e, notadamente, nas associações secundárias mais
117 evoluídas (LORENZI, 2002). Com relação ao grupo sucessional, trata-se de uma espécie secundária
118 inicial (DURIGAN; NOGUEIRA, 1990; VACCARO et al., 1999) a precursora-tardia (LONGHI,
119 1995).

120 As espécies florestais nativas são fundamentais na integração e na manutenção da
121 biodiversidade, na estrutura dos ecossistemas e nas interações com a fauna, além de apresentarem
122 funções relacionadas com a conservação hidrológica e geológica do local (SOARES et al., 2002).
123 Contudo, é possível verificar que muitos projetos com reflorestamento heterogêneo de espécies
124 nativas, fracassam devido ao pouco conhecimento sobre a biologia das espécies utilizadas e de seu
125 comportamento no processo de restauração (BARBOSA, 2000). Neste contexto, podemos citar as
126 espécies arbóreas nativas de Leguminosas, como um dos mais importantes componentes de um
127 modelo de restauração de áreas degradadas, onde assumem diferentes categorias dos estágios
128 sucessionais (LORENZI, 1992).

129 Dentro dos ecossistemas naturais, e até mesmo em formação pela restauração ecológica, a
130 interferência alelopática pode exercer influência significativa nas estruturas e processos de
131 comunidades vegetais e sua importância pode ser percebida em ecossistemas florestais de todo o
132 mundo (BLANCO, 2007). A grande diversidade química, a baixa especificidade de ação e a
133 variedade de formas com que os metabólitos secundários são liberados, fazem com que estes
134 intermediem um grande número de relações ecológicas (INDERJIT; WEINER, 2001; REIGOSA et
135 al. 1999).

136 O termo alelopatia define um fenômeno químico-ecológico no qual metabólitos secundários
137 produzidos por uma espécie vegetal são liberados e interferem na germinação e/ou no
138 desenvolvimento de outras plantas num mesmo ambiente. Num sentido amplo, os efeitos
139 alelopáticos se referem tanto a inibição quanto ao estímulo de desenvolvimento (HARBORNE,
140 1988; RICE, 1984). Substâncias alelopáticas podem ser liberadas para o meio ambiente por
141 exudação, lixiviação, decomposição de resíduos vegetais ou volatilização (RICE, 1987;
142 WITHAKER; FENNI, 1971).

143 Nesse contexto, muitos projetos de restauração fracassaram em decorrência da falta de
144 conhecimentos, principalmente sobre a biologia das espécies utilizadas. Desse modo, considerando
145 a importância de estudos sobre a mata nativa e a influência da alelopatia na dinâmica da floresta,
146 diante disso o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito alelopático do adubo verde
147 *Cajanus cajan* (feijão guandu) sobre espécies: pioneira *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) e
148 secundária inicial *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho), além de avaliar a influência alelopática
149 da espécie pioneira sobre a espécie secundária inicial, e assim, diferenciar seu comportamento
150 ecofisiológico, dentro de um modelo de restauração ecológica.

151

152 MATERIAL E MÉTODOS

153 O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal, do Centro de Ciências
154 Biológicas e da Saúde (CCBS), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE),
155 campus de Cascavel, PR, no período de dezembro de 2014 a abril de 2015.

156 A parte aérea (folhas e ramos) do adubo verde *C. cajan* (feijão-gaundu) foi coletado no
157 município de Palotina, oeste do Estado do Paraná (24°17'S e 53°50'O, altitude de 350 m), que
158 pertence ao Terceiro Planalto Paranaense, solo classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico
159 (EMBRAPA, 2006). O clima predominante na região é do tipo Cfa, subtropical úmido, com chuvas
160 abundantes no verão e inverno seco, segundo classificação de Köppen, adotada pelo IAPAR (2016).

161 A espécie pioneira utilizada foi a *B. forficata*, a qual foram coletadas as folhas para a
162 preparação do extrato, e as sementes, para o bioensaio de germinação. A coleta ocorreu em área de
163 vegetação natural, pertencente ao município de Capanema-PR (25°40'S, 53°43'O, altitude de 360
164 m), que faz parte do Terceiro Planalto Paranaense, com solo do tipo Nitossolo Vermelho
165 Distroférico (BHERING et al., 2008), na Classificação de Köppen (1948) o clima é do tipo Cfa
166 temperado. As exsiccatas da *B. forficata* foram depositadas no Herbário da Universidade Estadual do
167 Oeste do Paraná (UNOP), campus Cascavel, sob o número 2360.

168 Da espécie secundária inicial *P. rígida*, foram utilizadas apenas as sementes, que foram
169 doadas pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP) da cidade de Cascavel- PR.

170 A parte aérea do adubo verde *C. cajan* e as folhas de *B. forficata*, foram colhidas em
171 dezembro de 2014, trazidas ao laboratório de Fisiologia Vegetal, na qual foram secas em estufa com
172 ventilação forçada de ar à temperatura de 40 ± 2 °C, até obter-se a massa seca estável de cada
173 espécie.

174 Após este processo, a matéria seca obtida foi triturada em moinho de facas do tipo Willey,
175 com peneira de granulação de 10 mm, para a obtenção do pó, que foi armazenado em potes de
176 vidro, envoltos por papel alumínio, ao abrigo da luz e devidamente identificados, mantidos em local
177 seco a temperatura ambiente, até a preparação do extrato.

178

179 Preparação do extrato aquoso

180 Os extratos aquosos da parte aérea de *C. cajan* e das folhas de *B. forficata*, foram obtidos a
181 partir da mistura do pó em água destilada, nas proporções de 2,5; 5; 7,5 e 10% (25; 50; 75; e 100 g
182 de pó do material vegetal em 1000 mL de água destilada, relação peso/volume (g/mL)).

183 A mistura foi homogeneizada por cerca de 1 minuto e em seguida, permaneceu em repouso
184 por um período de 4 horas à temperatura ambiente, no escuro (evitando a fotodegradação). A
185 proposta dessa metodologia é aproximar-se das condições de campo, onde a extração de
186 aleloquímicos da serapilheira ocorre principalmente por lixiviação causada pela chuva ou por
187 orvalho (CARVALHO et al., 2012).

188 Posteriormente os extratos foram filtrados em pano de algodão, obtendo-se os seguintes
189 tratamentos: extrato aquoso do adubo verde *C. cajan* nas proporções de 2,5%; 5%; 7,5% e 10%
190 (p/v); e extrato aquoso da pioneira *B. forficata* nas proporções de 2,5%; 5%; 7,5% e 10% (p/v). No
191 tratamento testemunha foi utilizada apenas água destilada, correspondendo ao tratamento 0%.

192 O potencial hidrogeniônico (pH) de todas as proporções dos extratos aquosos de *C. cajan* e
193 de *B. forficata*, foram medidos com pHmetro Micronal B474. Realizou-se também a determinação
194 do potencial osmótico de acordo com Villela et al (1991), utilizando concentrações conhecidas de
195 Polietileno glicol 6000 (PEG 6000), na qual foram determinados seus valores de °Brix de refração
196 em refratômetro de bancada, a partir destas leituras foi ajustada uma curva de regressão polinomial
197 que possibilitou estimar o potencial osmótico das proporções dos extratos aquosos, a partir de seus
198 valores de °Brix, conforme Daneluzzi et al. (2014).

199 A prospecção fitoquímica, ou *screening* fitoquímico, foi realizada com base na metodologia
200 descrita por Matos (2009) e Carvalho et al. (2006), para alcaloides, cumarinas, esteroides,
201 flavonoides, fenóis, triterpenóides, saponinas espumídicas e taninos, em que os extratos aquosos,
202 em sua maior proporção (10% p/v), foram submetidos à prospecção fitoquímica, por meio de
203 ensaios colorimétricos e/ou precipitação, as quais tiveram caráter qualitativo.

204

205 **Bioensaio de germinação e desenvolvimento inicial**

206 Nos bioensaios para verificação do efeito alelopático, foi avaliado o efeito do extrato aquoso
207 do adubo verde *C. cajan*, sobre as sementes e plântulas da pioneira *B. forficata* e da secundária
208 inicial *P. rigida*. Além disso, foi verificado o efeito alelopático da pioneira *B. forficata*, também
209 sobre sementes e plântulas da secundária inicial *P. rigida*.

210 Os testes de germinação foram realizados sobre as sementes da pioneira *B. forficata* e da
211 secundária inicial *P. rigida*, as quais foram avaliadas visualmente, separando as murchas e
212 quebradas, e em seguida, homogeneizadas e desinfetadas com hipoclorito de sódio (5%). O papel
213 germitest, utilizado como substrato, foi autoclavado a 121 °C por meia hora e posteriormente
214 umedecido com o extrato aquoso na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 2009).
215 Sobre o papel foram distribuídas 25 sementes das espécies nativas, em cada uma das repetições,
216 totalizando quatro repetições por tratamento. Os extratos foram adicionados apenas uma vez, no
217 início do bioensaio.

218 Após semeadura foram acondicionados em sacos plásticos para evitar a evaporação e
219 levados para câmaras de germinação (BOD), com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) e
220 temperatura constante a 25±2 °C (BRASIL, 2009).

221 A germinação foi registrada diariamente, iniciando-se no dia seguinte a semeadura, sendo
222 considerada como semente germinada aquela que apresentou no mínimo 2 mm de raiz (HADAS,
223 1976), até a estabilização da germinação da testemunha, totalizando 15 dias após a semeadura para
224 a espécie pioneira *B. forficata*, e sete dias após a semeadura para a espécie secundária inicial *P.*
225 *rigida*.

226 Posteriormente, para análise da germinação foram consideradas as variáveis: porcentagem
227 de germinação (PG) (BRASIL, 2009), índice de velocidade de germinação (IVG) conforme
228 Maguire (1962), tempo médio de germinação (TMG) segundo Edmond e Drapala (1958),

229 frequência relativa e o índice de sincronização da germinação (U), que foram calculados de acordo
230 com Labouriau (1983).

231 O índice de resposta a efeitos alelopáticos (RI) foi calculado de acordo com Gao et al.
232 (2009) pela seguinte equação: $RI = 1 - C/T$ ($T \geq C$) ou $RI = T/C - 1$ ($T < C$); sendo: C = velocidade
233 de germinação do controle (ou testemunha) e T = velocidade de germinação do tratamento. O RI é
234 um índice qualitativo, onde valores negativos indicam atividade inibitória e valores positivos
235 atividade estimulante (GAO et al., 2009).

236 Para análise do desenvolvimento inicial, ao final do teste de germinação foi verificado o
237 comprimento médio de raiz (CMR) e comprimento médio de parte aérea (CMPA) de cinco
238 plântulas por repetição no último dia de avaliação para cada espécie receptora, as medições foram
239 realizadas com régua graduada (precisão de 1,0 mm), os resultados foram expressos em centímetros
240 (cm).

241

242 **Delineamento experimental e análises estatísticas**

243 Toda a realização dos bioensaios foram conduzidos sob delineamento inteiramente
244 casualizado (DIC), com quatro repetições contendo 25 sementes cada. Todas as variáveis foram
245 analisadas quanto a normalidade (Shapiro-Wilk) e a homogeneidade (Levene) dos dados, os valores
246 expressos em porcentagem foram transformados por arco seno ($\sqrt{x/100}$) (BRASIL, 2009).

247 Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando significativa, as
248 médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey, ambos os testes a 5% de significância.
249 Todas as análises estatísticas foram geradas pelo pacote ExpDes (FERREIRA et al., 2011) pelo
250 software livre R 3.2.0 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

251 Não foi efetuada análise estatística dos valores do índice de resposta a efeitos alelopáticos
252 (RI), devido à ausência de repetições, uma vez que o índice é calculado baseando-se na média
253 obtida das repetições do controle (ou testemunha).

254 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

255 Os valores de pH apresentados na tabela 1, indicam que os extratos aquosos do adubo verde
 256 *C. cajan* (feijão guandu) e da pioneira *B. forficata* (pata-de-vaca), para todas as suas proporções,
 257 encontravam-se em uma faixa próxima a neutralidade.

258

259 **Tabela 1.** Valores de pH e potencial osmótico dos extratos aquosos do adubo verde *Cajanus cajan*
 260 (feijão guandu) e da pioneira *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) nas proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10%
 261 (p/v). Cascavel - PR, 2016.

Proporções dos extratos aquosos	<i>C. cajan</i> (adubo verde)		<i>B. forficata</i> (pioneira)	
	pH	Potencial osmótico (MPa)	pH	Potencial osmótico (MPa)
0%	6,99	-0,003	7,02	-0,003
2,5%	6,02	-0,005	6,73	-0,005
5%	5,96	-0,005	6,59	-0,005
7,5%	5,88	-0,007	6,53	-0,006
10%	5,85	-0,008	6,45	-0,012

262

263 Conforme os dados observados, é possível verificar que os valores do pH do extrato do
 264 adubo verde *C. cajan*, em suas diferentes proporções, apresentaram variação entre 6,99 – 5,85.
 265 Enquanto que os valores do pH do extrato da pioneira *B. forficata*, em suas diferentes proporções,
 266 mantiveram-se na faixa de 7,02 – 6,45.

267 Portanto, os valores do pH obtidos neste estudo estão próximos da neutralidade e não
 268 interferem no processo de germinação, visto que tanto a germinação como o desenvolvimento de
 269 plantas são afetados negativamente apenas em condições em que o meio esteja extremamente ácido
 270 ou extremamente alcalino (SOUZA FILHO et al., 1997).

271 Os potenciais osmóticos dos extratos ficaram entre -0,003 a -0,008 MPa para o extrato
 272 aquoso de *C. cajan*, já para o extrato aquoso de *B. forficata* os valores variaram entre -0,003 a -
 273 0,012 MPa, observados na Tabela 1.

274 Alguns autores demonstram que apenas potenciais osmóticos extremos, ou seja, maiores que
 275 -0,5 MPa, pode influenciar de fato a germinação e o crescimento de espécies vegetais
 276 (SODAEIZADEH et al. 2009; ZHANG et al. 2010). Assim, os valores dos potenciais osmóticos do
 277 presente estudo, são considerados normais ou muito próximos a zero, a ponto de não afetar a
 278 germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas estudada.

279 O potencial osmótico de uma solução é um dos parâmetros que podem provocar alterações
 280 na resposta alelopática, pois pode superestimar os efeitos alelopáticos, em determinados casos, ou
 281 ainda, admitir a existência de alelopatia em casos onde não exista (SOUZA FILHO et al., 2010).
 282 Porém, isso não ocorreu no presente trabalho, evidenciando assim, que os resultados obtidos e que
 283 serão apresentados a seguir referem-se ao efeito dos aleloquímicos presentes no extrato aquoso,
 284 tanto de *C. cajan*, quanto no extrato aquoso de *B. forficata*.

285 Em relação a análise fitoquímica ou *screening* fitoquímico do extrato aquoso de *C. cajan* e
 286 de *B. forficata*, foram obtidos resultados positivos para ambos os extratos, para as seguintes classes
 287 de aleloquímicos: flavonoides, taninos e triterpenóides pentacíclicos (Tabela 2).

288

289 **Tabela 2.** *Screening* fitoquímico do extrato aquoso do adubo verde *C. cajan* (feijão guandu) e da
 290 pioneira *B. forficata* (pata-de-vaca), Cascavel - PR, 2016.

Composto	Extrato Aquoso	
	<i>C. cajan</i> (adubo verde)	<i>B. forficata</i> (pioneira)
Saponina	--	--
Triterpenódes pentacíclicos	+	+
Esteróides livres	--	--
Flavonóides (flavonas/xantonas)	+	+
Cumarinas	--	--
Taninos	+	+
Fenóis	--	--
Alcalóides	--	--

291 + presença do composto; -- ausência do composto.

292 Esses aleloquímicos presente nos extratos (Tabela 2), podem ser responsáveis, de modo
 293 isolado ou sinérgico, pela interferência nos processos bioquímicos e fisiológicos durante a fase de

294 germinação e crescimento (RICE, 1984; RIZVI et al., 1992) de monocotiledôneas e
295 eudicotiledôneas (EINHELLIG, 2002).

296 Os efeitos dos aleloquímicos mais comumente observados são o atraso no tempo de
297 germinação, atrofia e espessamento da raiz, redução do comprimento ou ausência da raiz primária,
298 redução do número de raízes secundária e redução do comprimento do hipocótilo (GATTI et al.,
299 2010; GUSMAN et al., 2011; GRISI et al., 2012; SILVESTRE et al., 2013).

300 As alterações no padrão de germinação e crescimento podem ser resultantes de diversos
301 efeitos causados em nível primário (GUSMAN et al., 2008). Dentre eles, Ferreira & Áquila (2000)
302 destacam as alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, no
303 funcionamento de mensageiros secundários, na respiração pelo sequestro do oxigênio, na
304 conformação de enzimas e receptores, ou ainda, pela combinação destes fatores.

305 Deste modo, avaliando o efeito alelopático do adubo verde *C. cajan* sobre a germinação das
306 espécies pioneira e secundária inicial, verifica-se que a porcentagem de germinação das sementes de
307 *B. forficata* e *P. rigida*, não apresentaram diferença significativa pela ação do extrato aquoso de *C.*
308 *cajan*, em suas diferentes proporções testadas (Tabela 3). Assim como o extrato aquoso da pioneira
309 *B. forficata* sobre as sementes da secundária inicial *P. rigida*, também não apresentaram diferença
310 significativa entre as proporções testada em estudo (Tabela 4).

311

312 **Tabela 3.** Porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo
 313 médio de germinação (TMG) e índice de sincronização da germinação (U) das sementes de
 314 *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca - pioneira) e *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho - secundária
 315 inicial), submetidas ao extrato aquoso do adubo verde *Cajanus cajan* (feijão guandu), nas
 316 proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% (p/v). Cascavel - PR, 2016.

Extrato aquoso de feijão guandu	<i>Bauhinia forficata</i> (pata-de-vaca)			
	PG (%) ^{ns}	IVG	TMG (dias)	U ^{ns}
0%	34	1,65 ab	6,14 b	2,47
2,5%	45	2,34 a	5,74 b	2,06
5%	37	1,67 ab	6,57 ab	2,25
7,5%	36	1,74 ab	6,19 b	2,35
10%	22	0,69 b	8,39 a	2,18
C.V (%)	30,19	35,02	14,75	17,52
Extrato aquoso de feijão guandu	<i>Parapiptadenia rigida</i> (angico-vermelho)			
	PG (%) ^{ns}	IVG	TMG (dias)	U
0%	96	12,12 a	2,03 c	0,43 b
2,5%	98	11,83 a	2,12 bc	0,44 b
5%	97	11,33 a	2,21 bc	0,74 ab
7,5%	97	10,62 ab	2,41 ab	1,09 a
10%	96	9,58 b	2,62 a	1,13 a
C.V (%)	2,72	7,18	6,52	30,85

317 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de
 318 significância. ^{ns} - não significativo ($p \geq 0,05$). C.V: Coeficiente de variação
 319

320 **Tabela 4.** Porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo
 321 médio de germinação (TMG) e índice de sincronização da germinação (U) das sementes de
 322 *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho - secundária inicial), submetidas ao extrato aquoso da
 323 pioneira *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), nas proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% (p/v). Cascavel - PR,
 324 2016.

Extrato aquoso de pata-de-vaca	<i>Parapiptadenia rigida</i> (angico-vermelho)			
	PG (%) ^{ns}	IVG	TMG (dias)	U ^{ns}
0%	98	15,66 a	1,73 d	0,97
2,5%	95	12,85 b	1,98 d	0,93
5%	96	9,47 c	2,67 c	0,92
7,5%	92	6,05 d	3,91 b	0,86
10%	92	5,24 d	4,48 a	1,13
C.V (%)	4,6	7,41	7,93	38,83

325 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de
 326 significância. ^{ns} - não significativo ($p \geq 0,05$). C.V: Coeficiente de variação.
 327

328 Dentre os estádios do desenvolvimento vegetal influenciados pela presença de aleloquímicos
329 no meio, a germinação é a menos sensível, conforme visto na tabela 3 e 4, ao passo que a sua
330 quantificação experimental é muito mais simples, pois a semente germina ou não germina
331 (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

332 Estudos mais aprofundados da reativação do processo de germinação, como a avaliação das
333 enzimas antioxidantes indispensáveis para o reparo aos danos oxidativos (MEIRA, 2016, dados não
334 publicados) ou mesmo o atraso na mobilização de reservas energéticas para a retomada do
335 crescimento embrionário, mostram que a presença de aleloquímicos durante o processo
336 germinativo leva a uma desordem metabólica que apesar de não refletir na porcentagem final da
337 germinação levam ao comprometimento do desenvolvimento inicial e estabelecimento das plântulas
338 devido a redução do IVG, além do aumento do TMG e da frequência de germinação, resultando em
339 uma germinação com comportamento polimodal, o que não é vantajoso para o pronto
340 estabelecimento das comunidades em um processo de recuperação de áreas degradadas. Porém, nem
341 sempre para uma espécie florestal um comportamento polimodal não é vantajoso, visto que muitas
342 espécies, principalmente pioneiras, tendem a formar bancos de sementes com essa característica
343 (uma germinação polimodal), já observada na testemunha.

344 Contudo, conforme Ferreira (2004) e Borges et al. (2007) muitas vezes o efeito alelopático
345 não se manifesta somente sobre a porcentagem final de germinação, mas também sobre a
346 velocidade de germinação das sementes ou sobre outro parâmetro do processo germinativo, como
347 ocorreu no presente trabalho com os parâmetros IVG e TMG, independente do extrato utilizado,
348 para ambas as espécies, assim como no índice de sincronização da germinação de *P. rigida* (Tabela
349 3), em que esse efeito se dá pelo atraso no andamento dos processos metabólicos, causado pelos
350 compostos alelopáticos (BOENI, 2011).

351 Para o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de *B. forficata* submetida ao
352 extrato aquoso de *C. cajan*, observa-se o maior valor na proporção 2,5% com IVG de 2,34,
353 entretanto, o menor valor de IVG é observado na proporção 10% com apenas 0,69. Já para as

354 sementes de *P. rigida*, os maiores índices de velocidade de germinação foram observados nas
355 proporções 0; 2,5 e 5%, não diferindo entre si, e a proporção 10% apresentou IVG de 9,58, sendo o
356 menor valor de IVG observado para *P. rigida*, quando as sementes foram submetidas ao extrato
357 aquoso de *C. cajan* (Tabela 3).

358 Ao verificar o IVG das sementes de *P. rigida*, submetida ao extrato aquoso da pioneira *B.*
359 *forficata*, observa-se uma redução do IVG a medida em que aumenta a proporção do extrato (Tabela
360 4), sendo os menores valores na proporção 7,5% com 6,05, e na proporção 10% com 5,24,
361 entretanto não houve diferença significativa entre essas proporções.

362 Corroborando com os resultados, Carvalho et al. (2014) trabalhando com extrato aquoso de
363 feijão guandu, também verificaram atraso do processo germinativo sobre sementes de alface,
364 conforme o aumento da proporção dos extratos os valores de IVG também foram diminuindo.
365 Segundo Ferreira e Borghetti (2004), quanto maior o IVG, maior o vigor das sementes, sendo que
366 neste estudo o extrato aquoso de *C. cajan* atuou diminuindo o vigor das sementes de *B. forficata* e
367 *P. rigida*, principalmente na maior proporção (10%).

368 Quanto ao tempo médio de germinação (TMG), observa-se que as sementes de *B. forficata*
369 submetidas ao extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, levaram em média oito dias para germinar
370 na proporção 10%. Nas demais proporções (0; 2,5; 5 e 7,5%) esse tempo foi menor, em média seis
371 dias, não diferindo entre si.

372 Para as sementes de *P. rigida*, conforme aumenta a proporção do extrato aquoso do adubo
373 verde *C. cajan*, as sementes levam mais tempo para germinar. No entanto, nas proporções 7,5% e
374 10%, esse atraso da germinação fica mais evidente, pois as sementes levaram em média dois dias e
375 meio para germinar, diferindo significativamente das demais proporções (Tabela 3).

376 O mesmo aconteceu quando as sementes de *P. rigida*, foram submetidas ao extrato aquoso
377 da pioneira *B. forficata*, ocorrendo atraso no tempo médio de germinação a medida que aumenta a
378 proporção do extrato (Tabela 4), levando cerca de quatro dias e meio para germinar na proporção

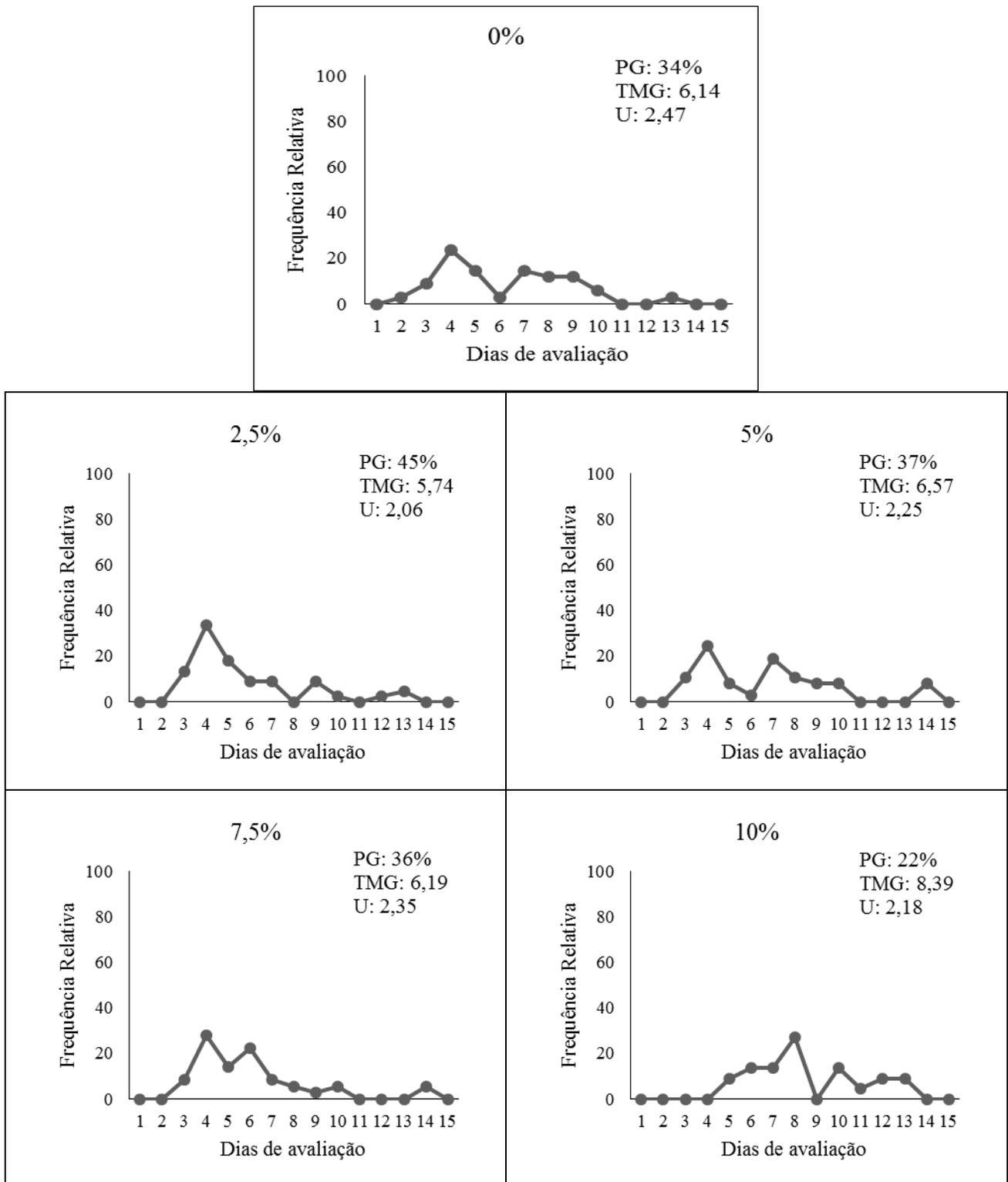
379 10%. Na proporção 2,5% as sementes de *P. rigida*, levaram cerca de dois dias para germinar não
380 diferindo estaticamente da testemunha (0%) (Tabela 4).

381 Os resultados obtidos assemelham-se aos de Manoel et al. (2009), que verificaram o
382 potencial alelopático do extrato aquoso de *B. forficata* sobre as sementes de tomate, constatando
383 efeito inibitório sobre a velocidade de germinação, variando sua intensidade ao aumentar a
384 concentração, além disso, constataram também efeito sobre o tempo médio de germinação,
385 atrasando-a nas maiores concentrações.

386 Esse atraso no processo germinativo, deve-se a presença dos aleloquímicos (Tabela 2), que
387 são caracterizados como inibidores da germinação das sementes (RASMUSSEN; EINHELLIG,
388 1993). Tais compostos podem consumir oxigênio durante o processo de oxidação, restringindo a
389 quantidade de oxigênio que chega ao embrião inibindo ou retardando o processo de germinação
390 (BEWLEY; BLACK, 1994), como ocorreu no presente estudo, em que a germinação das sementes
391 de *B. forficata* e *P. rigida*, apresentaram atraso da germinação, principalmente na proporção 10%.

392 Outro fator que pode ter contribuído é a presença de triterpenos que, de acordo com Ferreira
393 e Borghetti (2004) e Willis (2010), são compostos com potencial alelopático, sendo alguns
394 triterpenóides, como verificado no *screening* fitoquímico (Tabela 2), capazes de lesionar tecidos de
395 plantas. Porém, os efeitos alelopáticos, muitas vezes, não são resultado da presença de produtos
396 isolados, mas da atividade conjunta de vários aleloquímicos (RICE, 1984; FUJII; HIRADATE,
397 2007).

398 Os valores do índice de sincronização da germinação (U) das sementes de *B. forficata*
399 submetidas ao extrato aquoso de *C. cajan*, ficaram em torno de 2,06 a 2,47, não apresentando
400 diferença significativa entre as médias nas proporções testadas. Entretanto, pela frequência relativa
401 da germinação de *B. forficata* (Figura 1), observa-se um comportamento de distribuição polimodal,
402 pois a germinação das sementes de *B. forficata* ocorreram de modo não sincronizado, sendo os
403 maiores valores (U) da tabela 3.



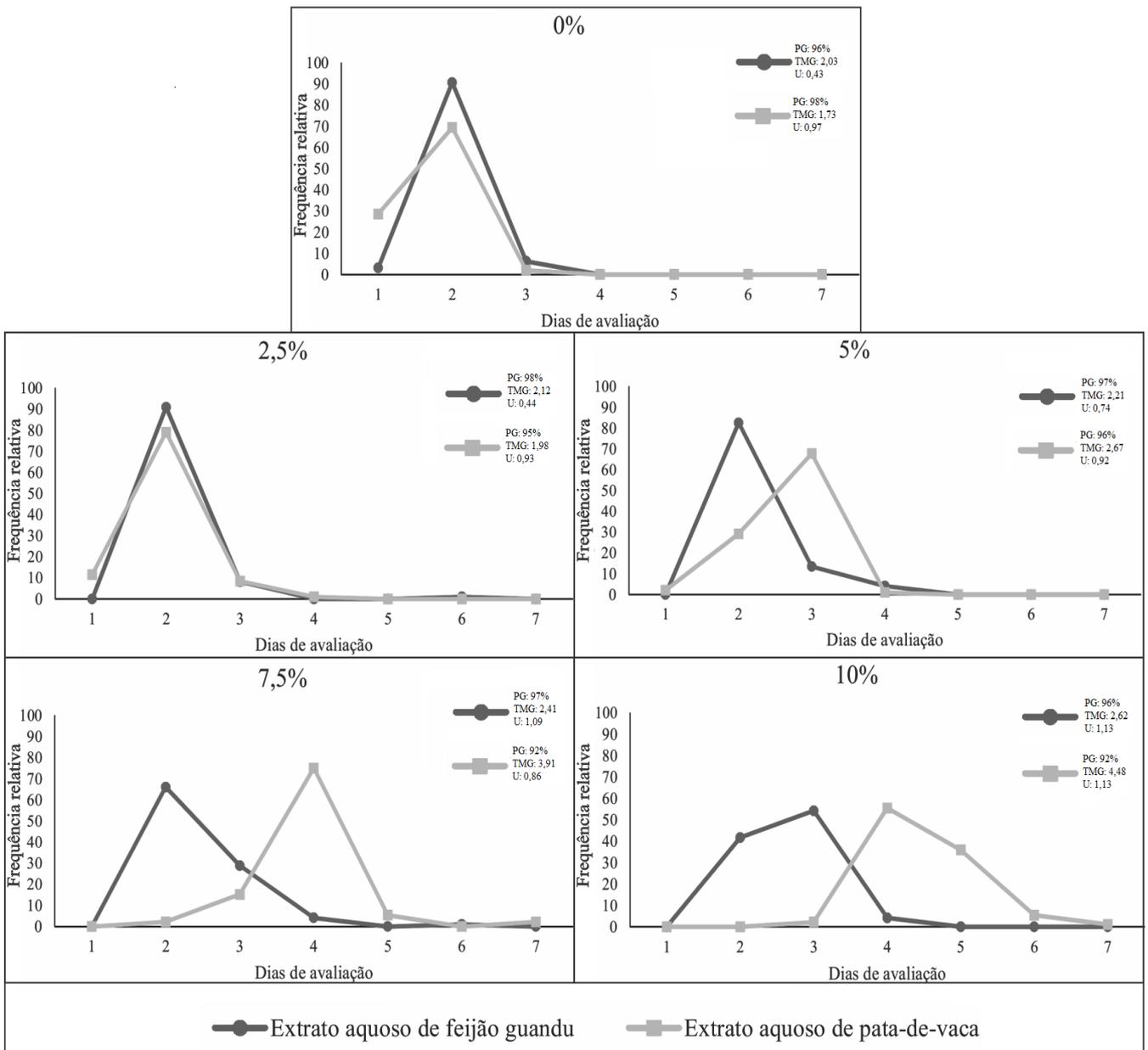
404 **Figura 1.** Gráficos da Frequência Relativa da germinação das sementes de *Bauhinia forficata* (pioneira), submetidas ao
 405 extrato aquoso do adubo verde *Cajanus cajan* (feijão guandu), nas proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% (p/v). Cascavel - PR,
 406 2016.
 407

408 Isso se deve ao fato, de que as sementes de *B. forficata* não passaram por processo de
409 superação de dormência, por isso apresentaram baixa porcentagem de germinação, até mesmo na
410 testemunha (0%) (Tabela 3), além do atraso na germinação das sementes deixando ela espaçada ao
411 longo do tempo (Figura 1). Oliveira et al. (2012) e Costa et al. (2013), também verificaram baixa
412 germinação para *B. forficata* trabalhando mesmo com superação de dormência das sementes da
413 espécie, onde registraram para a testemunha de 20 a 40% da germinação.

414 Quanto ao índice de sincronização da germinação (U) das sementes de *P. rigida*, o extrato
415 aquoso de *C. cajan* apresentou efeito (Tabela 3), deixando a germinação mais heterogênea nas
416 proporções 7,5 e 10%, as quais apresentaram os maiores valores do índice de sincronização, 1,09 e
417 1,13 respectivamente. Aumentos neste índice de sincronização (U) indicam perda de sincronia nas
418 reações metabólicas da germinação (LABOURIAU; AGUDO 1987) possivelmente originado pelos
419 aleloquímicos (SANTANA et al., 2006) presentes no extrato (Tabela 2), ocasionando desequilíbrio
420 na fisiologia das sementes tratadas.

421 Para as demais proporções (0; 2,5 e 5%), foram observados os menores valores do índice de
422 sincronização da germinação de *P. rigida*, e estes não diferem entre si (Tabela 3). De acordo com
423 Ranal e Santana (2006), esses valores mostram uma maior sincronização da germinação nesses
424 tratamentos.

425 Além disso, com essa maior sincronização da germinação de *P. rigida* nas menores
426 proporções do extrato aquoso de *C. cajan*, é possível observar uma distribuição unimodal da
427 frequência relativa da germinação, já nas maiores proporções não se observou essa distribuição,
428 apenas a distribuição da germinação espaçada ao longo do tempo conforme o aumento da proporção
429 do extrato (Figura 2).



430
 431 **Figura 2.** Gráficos da frequência relativa da germinação das sementes de *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho),
 432 submetidas ao extrato aquoso de *Cajanus cajan* (feijão guandu) e *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), nas proporções 0;
 433 2,5; 5; 7,5 e 10% (p/v). Cascavel - PR, 2016.

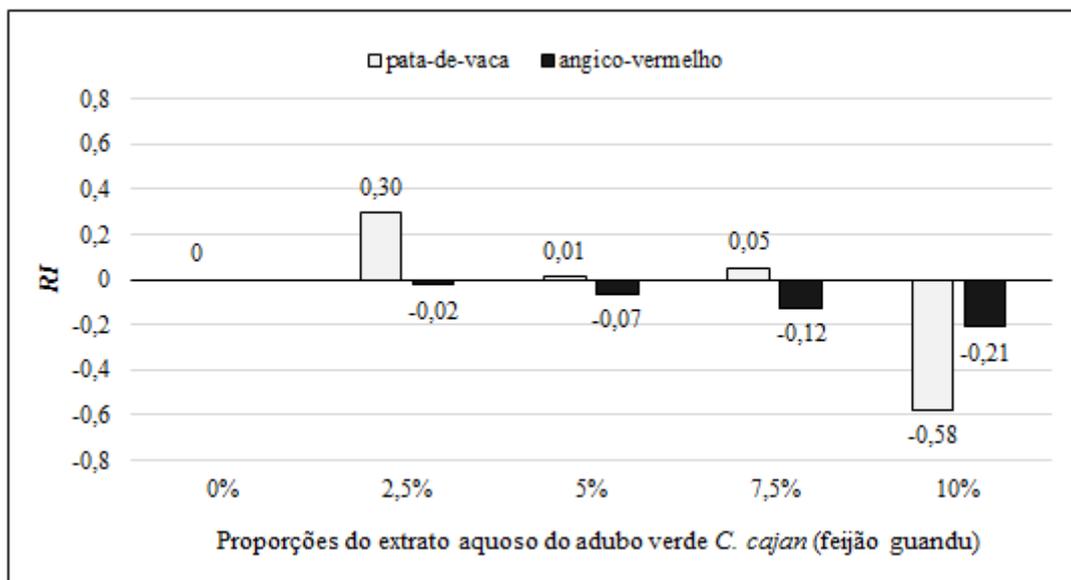
434

435 Os valores do índice de sincronização da germinação (U) das sementes de *P. rigida* quando
 436 submetidas ao extrato aquoso da pioneira *B. forficata*, ficaram em torno de 0,86 a 1,13, não
 437 apresentando diferença significativa entre as médias nas proporções testadas (Tabela 4). Deste
 438 modo, observa-se na frequência relativa, a distribuição da germinação unimodal até a proporção
 439 5%, nas maiores proporções essa distribuição apresenta-se mais espaçada ao longo do tempo

440 (Figura 2), influenciada pela presença dos aleloquímicos (Tabela 2) que causam esse atraso na
 441 germinação.

442 Corroborando com os resultados já observados anteriormente, o índice de resposta a efeitos
 443 alelopáticos (*RI*) é um importante indicador da atividade alelopática, ele foi calculado em relação à
 444 velocidade de germinação da testemunha e dos tratamentos com as diferentes proporções dos
 445 extratos (GAO et al. 2009).

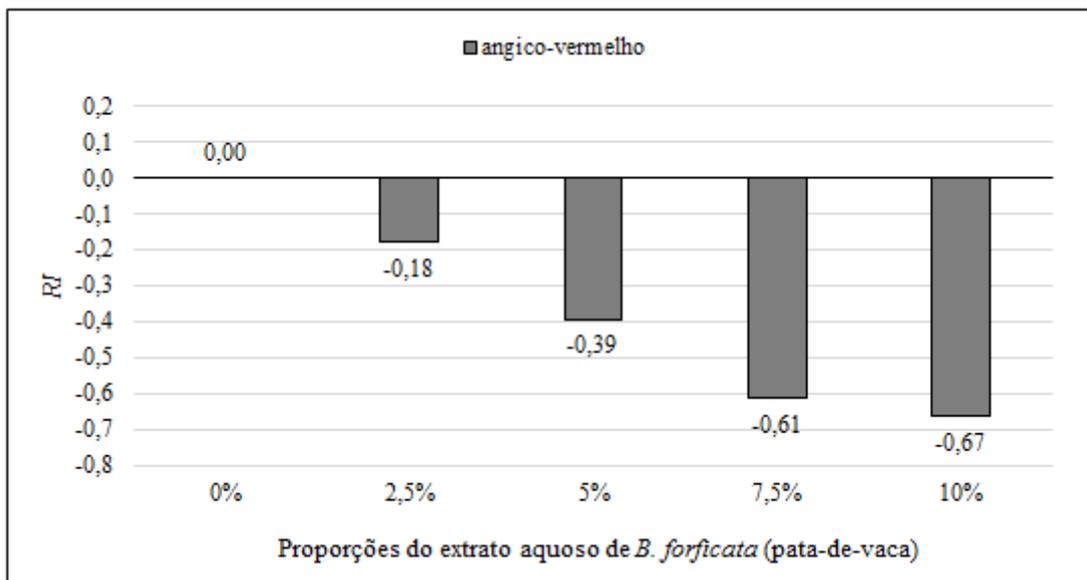
446 O extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, nas proporções 2,5; 5 e 7,5% apresentaram *RI*
 447 positivo sobre as sementes de *B. forficata*, admitindo atividade alelopática, que estimula o
 448 desenvolvimento (Figura 3), pois são valores acima de zero, ou seja, maiores que a testemunha
 449 (0%). Já para proporção 10%, essa resposta à atividade alelopática foi inibitória.



450 **Figura 3.** Índice de resposta a efeitos alelopáticos (*RI*) das sementes de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca - pioneira) e
 451 *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho - secundária inicial), submetidas ao extrato aquoso do adubo verde *Cajanus*
 452 *cajan* (feijão guandu), nas proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% (p/v). Cascavel - PR, 2016.
 453
 454

455 Quando o índice de resposta a efeitos alelopáticos analisado para as sementes de *P. rigida*,
 456 todas as proporções do extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, apresentaram *RI* negativo (Figura
 457 3), confirmando atividade alelopática inibitória. Assim, como quando tratadas com extrato aquoso
 458 da pioneira *B. forficata* (Figura 4), também apresentaram *RI* negativo, indicando atividade
 459 alelopática inibitória dos extratos das espécies testadas.

460



461
 462 **Figura 4.** Índice de resposta a efeitos alelopáticos (RI) das sementes de *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho -
 463 secundária inicial), submetidas ao extrato aquoso da pioneira *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), nas proporções 0; 2,5;
 464 5; 7,5 e 10% (p/v). Cascavel - PR, 2016.

465

466 As diferenças encontradas no índice de resposta a efeitos alelopáticos e em outras variáveis
 467 analisadas anteriormente, em relação às espécies receptoras, também podem ter ocorrido devido a
 468 diferença de tamanho das sementes. Existe na literatura ampla variedade de estudos que relacionam
 469 o tamanho da semente com a germinação e estabelecimento das plântulas. Westoby et al. (2002)
 470 reportaram que sementes grandes, como as de *B. forficata*, possuem maior tolerância a estresses
 471 ambientais do que sementes pequenas. A proteção conferida pelas substâncias de reserva e a
 472 espessura do tegumento, do qual não sofreu nenhuma superação de dormência, podem ter
 473 amenizado os efeitos nocivos dos aleloquímicos sobre as sementes de *B. forficata*.

474 De acordo com Souza Filho et al. (2003) sementes pequenas são geralmente mais afetadas
 475 do que sementes grandes, sendo que as reduções nos efeitos alelopáticos em função do tamanho das
 476 sementes podem ser atribuídas à partição das substâncias químicas responsáveis pelas inibições
 477 observadas no processo de germinação.

478 Isso fica evidente ao dispormos de igual quantidade de sementes de *B. forficata* e *P. rigida*
 479 em uma unidade experimental. Observamos que as sementes de *B. forficata* possuem maior massa
 480 quando comparadas com as sementes de *P. rigida*, sendo que, conforme aumento da densidade das
 481 sementes, menor é a disponibilidade das substâncias alelopáticas (Souza Filho et al., 2010),

482 advindas do extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, o que conseqüentemente diminui a quantidade
483 total destas substâncias absorvidas pelas sementes, deixando, dessa forma, de atingir o nível
484 requerido para promover inibições. Tal acontecimento poderia explicar o fato de as sementes de *P.*
485 *rigida* apresentarem maiores efeitos inibitórios nos parâmetros de germinação (Tabela 3) e *RI*
486 (Figura 3), contrastando com as sementes de *B. forficata*, as quais apresentaram respostas
487 alelopática diferenciada para os mesmos parâmetros (Tabela 3 e Figura 3).

488 Em relação ao efeito alelopático do extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, sobre
489 desenvolvimento inicial das plântulas das espécies pioneira e secundária inicial, foi observado
490 estímulo no comprimento médio de raiz (CMR) e parte aérea (CMPA) das plântulas de *B. forficata*
491 (Tabela 5).

492 Entretanto, para as plântulas de *P. rigida*, verificou-se atividade alelopática inibitória
493 principalmente sobre o comprimento médio de raiz, pois para o comprimento médio da parte aérea,
494 o efeito do extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, não foi significativo, independente da
495 proporção utilizada (Tabela 5).

496

497 **Tabela 5.** Comprimento médio de raiz (CMR) e parte aérea (CMPA) de *Bauhinia forficata* (pata-
 498 de-vaca - pioneira) e *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho - secundária inicial), submetidas ao
 499 extrato aquoso do adubo verde *Cajanus cajan* (feijão guandu), nas proporções 0; 2,5; 5; 7,5 e 10%
 500 (p/v). Cascavel - PR, 2016

Extrato aquoso de feijão guandu	<i>Bauhinia forficata</i> (pioneira)		<i>Parapiptadenia rigida</i> (secundária inicial)	
	CMR (cm)	CMPA (cm)	CMR (cm)	CMPA (cm) ^{ns}
0%	1,82 c	4,96 b	7,82 a	4,38
2,5%	3,60 a	6,15 a	5,22 b	4,27
5%	3,77 a	6,52 a	4,13 c	4,78
7,5%	2,70 b	5,95 a	3,13 cd	5,04
10%	2,13 bc	5,11 b	2,27 d	4,23
C.V (%)	31,46	12,96	21,74	22,59

501 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de
 502 significância. ^{ns} - não significativo ($p \geq 0,05$). C.V: Coeficiente de variação.

503

504 Deste modo, os maiores valores do comprimento médio de raiz das plântulas de *B. forficata*,
 505 submetidas ao extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*, foram observados nas proporções 2,5% e
 506 5%, com 3,60 cm e 3,77 cm, respectivamente, não diferindo entre si, seguido da proporção 7,5%
 507 com 2,70 cm, e da proporção 10% com 2,13 cm de comprimento. A testemunha (0%), apresentou o
 508 menor comprimento médio de raiz com apenas 1,82 cm.

509 O comprimento médio de parte aérea das plântulas de *B. forficata* na proporção 10% foi de
 510 5,11 cm, sendo o menor valor observado, no entanto não diferindo da testemunha (0%), que
 511 apresentou 4,96 cm de CMPA. Verifica-se os maiores valores do comprimento médio da parte aérea
 512 das plântulas de *B. forficata*, nas proporções 2,5; 5 e 7,5% (Tabela 5), não diferindo entre si.
 513 Indicando que houve estímulo da parte aérea das plântulas de *B. forficata*, nestas proporções,
 514 quando submetidas ao extrato aquoso do adubo verde *C. cajan*.

515 O extrato aquoso adubo verde *C. cajan* (feijão guandu) nas menores concentrações
 516 estudados por Carvalho et al (2014), apresentaram estímulo de 1,25 cm do comprimento da parte
 517 aérea em relação a testemunha em sementes de alface, corroborando com os resultados obtidos

518 neste estudo, quando plântulas de *B. forficata* foram submetidas ao extrato aquoso do adubo verde
519 *C. cajan*.

520 Para as plântulas da espécie secundária inicial *P. rigida*, submetidas ao extrato aquoso do
521 adubo verde *C. cajan*, foi verificado redução do comprimento médio da raiz à medida que aumenta
522 a proporção do extrato (Tabela 5), havendo redução dose-dependente para todas as proporções
523 testadas, sendo o menor valor observado na proporção 10% com apenas 2,27 cm de comprimento.

524 O mesmo aconteceu com o comprimento médio da raiz, das plântulas de *P. rigida*, quando
525 submetidas ao extrato aquoso da pioneira *B. forficata* (Tabela 6), na qual o menor comprimento foi
526 registrado na proporção 10% com apenas 3,55 cm. A proporção 2,5% apresentou o maior valor de
527 CMR, com 6,80 cm, no entanto, não diferiu estaticamente da testemunha (0%).

528

529 **Tabela 6.** Comprimento médio de raiz (CMR) e parte aérea (CMPA) de plântulas *Parapiptadenia*
530 *rigida* (angico-vermelho – secundária inicial), submetidas ao extrato aquoso da pioneira *Bauhinia*
531 *forficata* (pata-de-vaca). Cascavel-PR, 2016.

Extrato aquoso de pata-de-vaca	<i>Parapiptadenia rigida</i> (secundária inicial)	
	CMR (cm)	CMPA (cm)
0%	6,69 a	4,94 a
2,5%	6,80 a	5,26 a
5%	5,72 ab	4,79 a
7,5%	4,67 bc	5,02 a
10%	3,55 c	3,74 b
C.V (%)	21,44	18,32

532 Médias dos tratamentos seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de
533 significância. ^{ns} - não significativo ($p >= 0,05$). C.V: Coeficiente de variação.

534

535 Taiz e Zeiger (2013) descreveram a importante ação dos taninos, os quais foram
536 identificados nos extratos aquosos do adubo verde *C. cajan* (feijão guandu) e da pioneira *B.*
537 *forficata* (pata-de-vaca) (Tabela 2), como substâncias inibidoras da germinação de sementes e do
538 crescimento de plantas, verificado neste trabalho, destacando-se a redução do comprimento médio
539 da raiz das plântulas de *P. rigida*.

540 Essa influência dos extratos, do adubo verde *C. cajan* e da pioneira *B. forficata*, sobre o
541 comprimento médio da raiz das plântulas de *P. rigida*, aconteceu devido principalmente ao contato
542 direto e prolongado das raízes com o extrato e aos aleloquímicos, em relação às demais estruturas
543 da plântula, como proposto por Chung et al. (2001) e Aliloo et al. (2012).

544 Esse padrão de susceptibilidade sobre o comprimento de raiz é comum em estudos de
545 alelopatia, já tendo sido encontrados por Aires et al. (2005) e Maraschin-Silva e Aquila (2005) em
546 plântulas de *Sesamum indicum* L. (gergelim) e *Lactuca sativa* L. (alface), respectivamente.

547 Ao analisar o efeito alelopático do extrato aquoso da pioneira *B. forficata*, sobre
548 comprimento médio da parte aérea das plântulas de *P. rigida*, foi observado efeito significativo
549 apenas na proporção 10%, que apresentou a menor média de CMPA com 3,74 cm. As demais
550 proporções, não diferiram significativamente da testemunha (0%) (Tabela 6).

551 A fase de desenvolvimento inicial é mais sensível aos aleloquímicos do que a germinação,
552 podendo surgir plântulas anormais, necroses radiculares ou alterações no crescimento (FERREIRA;
553 BORGHETTI, 2004), na qual essas plântulas não conseguiriam se estabelecer posteriormente
554 devido a essas adversidades ocasionadas pelos aleloquímicos. Segundo Rodrigues et al. (1992), os
555 compostos alelopáticos são inibidores do crescimento, pois interferem na divisão celular,
556 permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas. Isso aconteceu com as plântulas de *P.*
557 *rigida* submetidas ao extrato aquoso da pioneira *B. forficata*, principalmente na proporção 10%, em
558 que o efeito inibitório foi evidente tanto na raiz, quanto na parte aérea (Tabela 6), ocorrido pela
559 ação dos aleloquímicos presentes (Tabela 2).

560 Essa redução do comprimento das plântulas na presença de aleloquímicos é associada com
561 uma forte inibição da mitose e/ou rompimento da estrutura das organelas, como, por exemplo,
562 núcleo e mitocôndrias (GNIAZDOWSKA; BOGATEK, 2005). Além disso, Aoki et al. (1997)
563 ressaltam que a intensidade dos efeitos alelopáticos é dependente da concentração das substâncias, o
564 que se comprovou neste trabalho, pois algumas proporções estimulam, como verificado com as
565 plântulas de *B. forficata* (Tabela 5), e outras inibem, como as plântulas de *P. rigida* (Tabela 5 e 6), o

566 desenvolvimento da raiz e da parte aérea, além das espécies apresentarem padrão diferenciado de
567 resposta.

568 Em geral, o adubo verde adubo verde *C. cajan* apresentou efeitos alelopáticos sobre as
569 espécies florestais nativas estudadas neste trabalho, tendo efeitos mais brandos sobre a pioneira *B.*
570 *forficata* e deletério para a secundária inicial *P. rigida*, principalmente no comprimento médio de
571 raiz. O índice de velocidade de germinação e o tempo médio de germinação, como também o índice
572 de resposta a efeitos alelopáticos, mostraram a redução do número de sementes germinadas por dia
573 e o aumento do tempo em que as sementes levaram para germinar. Essas variáveis apresentaram
574 maiores efeitos do que a porcentagem de germinação, o que é comum quando existe um retardo no
575 andamento dos processos metabólicos, ocasionado por compostos alelopáticos.

576 Contudo, vale ressaltar que nem sempre essas substâncias podem atuar de forma nociva no
577 vegetal, mesmo estando presentes na solução (AQUILA et al., 1999), pois em conjunto esses
578 aleloquímicos podem ter ação diferenciada. Ademais, os extratos aquosos são misturas complexas
579 de compostos orgânicos e inorgânicos, ricos também em substâncias de reservas, como
580 polissacarídeos, lipídeos e proteínas (NELSON, 2004), que por sua vez, podem beneficiar a
581 germinação e o desenvolvimento das plântulas.

582 Quando analisamos o efeito alelopático da espécie pioneira *B. forficata*, sobre sementes e
583 plântulas de *P. rigida*, fica evidente o efeito inibitório, principalmente nas maiores proporções 10 e
584 7,5%, nas quais apresentaram atraso da germinação, além de diminuir o número de sementes
585 germinadas por dia, como também diminuir o comprimento médio da raiz.

586 Por fim, resultados positivos para alelopatia, obtidos em laboratório, podem não se repetir
587 em condições naturais, devido à ocorrência simultânea de diversos fatores bióticos e abióticos que
588 podem mascarar este fenômeno. A conclusão definitiva dos efeitos observados neste trabalho está
589 ligada a uma investigação mais ampla, que inclui outras abordagens experimentais, principalmente
590 testes à campo e, para verificar estes efeitos em espécies utilizadas em recuperação de áreas
591 degradadas. Além disso, sugere-se que seja feito a purificação e identificação das substâncias

592 alelopáticas presentes nos extratos estudado, para assim analisar seu comportamento alelopático
593 isoladamente.

594

595 **CONCLUSÃO**

596 Os resultados encontrados permitiram concluir que, em condições de laboratório, o extrato
597 aquoso do adubo verde *C. cajan* apresenta efeitos alelopáticos benéficos sobre a germinação e
598 desenvolvimento inicial da espécie pioneira *B. forficata*, quando nas menores proporções do
599 extrato. Entretanto, para a espécie secundária inicial *P. rigida*, os efeitos alelopáticos foram
600 inibitórios, principalmente nas proporções 7,5 e 10%, influenciando negativamente a germinação e
601 o desenvolvimento inicial da mesma. Além disso, foi possível verificar a influência alelopática da
602 pioneira *B. forficata*, à medida em que aumenta a proporção do extrato, sobre as variáveis de
603 germinação e comprimento médio de raiz da espécie secundária inicial *P. rigida*.

604

605 **REFERÊNCIAS**

- 606 AIRES, S.S.; FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F.. Efeito alelopático de folhas e frutos de
607 *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamun indicum* L.
608 (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasilica** 19(2):339-344. 2005.
- 609 ALILOO, A. A., SHAHABIVAND, S., FARJAM, L., & HERAVI, S.. Allelopathic effects of pine
610 needle extracts on germination and seedling growth of ryegrass and kentucky bluegrass. **Advances**
611 **in Environmental Biology**, 6(9), 2513-2518. 2012.
- 612 ALVES, S. M. C.; ABOUD, A. C. S.; RIBEIRO, R. L. D.; ALMEIDA, D. L. Balanço do
613 nitrogênio e fósforo em solo com cultivo orgânico de hortaliças após a incorporação de biomassa de
614 guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 39, n. 11, p.1111-1117, 2004.
- 615 AOKI, T., OHRO , T., HIRAGA, Y., SUGA, T., UNO, M., OHTA, S. Biologically active
616 clerodone-type diterpene glycosides from the root – stalks of *Dicranopteris Pedata*. **Phytochemistry**,
617 New York, v. 46, n. 5, p. 839-844, 1997.
- 618 AQUILA, M.E.A.; UNGARETTI, J.A.C.; MICHELIN, A. Preliminary observation on allelopathic
619 activity in *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, n. 502, p. 383-388, 1999.
- 620 BARBOSA, L.M. Considerações Gerais e Modelos de Recuperação de Formações Ciliares. In:
621 RODRIGUES, R.R.; LEITÃO Fo, H.F. (Eds.). **Matas Ciliares: Conservação e Recuperação**. São
622 Paulo: EDUSP, FAPESP, p.289-312. 2000.
- 623 BECHARA, F. C.; Campos Filho, E. M.; Barretto, K. D.; Antunes, A. Z.; REIS, A.. Nucleação de
624 diversidade ou cultivo de árvores nativas? Qual paradigma de restauração? In: ANAIS VI Simpósio
625 Nacional e Congresso Latino-Americano de Recuperação de Áreas Degradadas, Curitiba, p. 355-
626 363, 2005.
- 627 BELTRAME, T.P.; RODRIGUES, E. Comparação de diferentes densidades de feijão guandu
628 (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração florestal de uma área de reserva legal no Pontal do
629 Paranapanema, SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 80, p. 317-327, 2008.
- 630 BELTRAME, T.P.; RODRIGUES, E. Feijão guandu (*Cajanus cajan* (l.) Millsp.) na restauração de
631 florestas tropicais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n.1, p.19-28, jan./mar. 2007.
- 632 BERTACCHI, M.I.F.; BRANCALION, P.H.S.; BRONDANI, G.E.; MEDEIROS, J. C.;
633 RODRIGUES, R.R. Caracterização das condições de microssítio de áreas em restauração com
634 diferentes idades. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.36, n. 5, p. 895-905, 2012.
- 635 BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**, 2. ed. New
636 York: Plenum Press, 1994. 445p.
- 637 BHERING, S.B.; SANTOS, H.G. dos; BOGNOLA, I.A.; CÚRCIO, G.R.; MANZATTO, C.V.;
638 CARVALHO JUNIOR, W. de; CHAGAS, C da S.; ÁGLIO, M.L.D.; SOUZA, J.S. de. **Mapa de**
639 **solos do Estado do Paraná: legenda atualizada**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/IAPAR, 2008. 74p.
- 640 BLANCO, Juan A. **The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models.**
641 **ecological modelling**, v. 209, n. 2, p. 65-77, 2007.
- 642 BOENI BO (2011) Riqueza, estrutura e composição de espécies arbóreas em floresta secundária
643 invadida por *Hovenia dulcis* Thunb. caracterização do seu nicho de regeneração e efeitos
644 alelopáticos. São Leopoldo, Universidade do Vale do Rio dos 624 Sinos. Dissertação.

- 645 BORGES, F.C., SANTOS, L.S., CORRÊA, M.J.C., OLIVEIRA, M.N., & SOUZA FILHO, A.P.S..
646 (2007). Potencial alelopático de duas neolignanas isoladas de folhas de *Virola surinamensis*
647 (Myristicaceae). **Planta Daninha**, 25(1), 51-59.
- 648 BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. **Regras para análise de**
649 **sementes**. Brasília, Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- 650 CARVALHO, J. L. S.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.1. Screening
651 fitoquímico do *Nasturtium officinale*. **R. Br.: Controle de Qualidade**. Visão Acadêmica, 7: 2: 25-
652 32. 2006.
- 653 CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília: EMBRAPA Informação
654 Tecnológica. Colombo, PR: EMBRAPA Florestas, 2003, v.1, 1039p.
- 655 CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais,**
656 **potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa, 1994. 640 p.
- 657 CARVALHO, W. P., de CARVALHO, G. J., NETO, D. D. O. A., & TEIXEIRA, L. G. V.
658 Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de
659 alface=Allelopathy of green manure extracts on germination and initial growth of the lettuce. **Bioscience**
660 **Journal**, v. 30, n. 3, 2014.
- 661 CARVALHO, W. P.; CARVALHO, G. J.; ANDRADE, M. J. B.; FONSECA, G.; ANDRADE, L.;
662 VALACI, F.; OLIVEIRA, D. P. Alelopatia de adubos verdes sobre feijoeiro comum (*Phaseolus*
663 *vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 10, p. 86-93. 2012.
- 664 CHEUNG, K.C.; LIEBSCH, D.; MARQUES, M.C.M. Forest recovery in newly abandoned
665 pastures in Southern Brazil: implications for the Atlantic Rain Forest resilience. **Natureza e**
666 **Conservação**, v.8, p.66-70, 2010.
- 667 CHUNG, I. M.; AHN, J. K. & YUN, S. J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass
668 (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928,
669 2001.
- 670 COSTA, E. S.; SANTOS NETO, A. L.; COSTA, R. N.; SILVA, J. V.; SOUZA, A. A.; SANTOS,
671 V. R. Dormência de sementes e efeito da temperatura na germinação de sementes de mororó.
672 **Revista de Ciências Agrárias**, v. 56, n. 1, p. 19-24, 2013.
- 673 DANELUZZI, G. S.; DOS SANTOS, V. H. M.; SILVA, L. P.; DA SILVA, R. M. G. Avaliação dos
674 potenciais fitotóxico e citotóxico de *Pyrostegia venusta* (Ker gawl.) Miers (Bignoniaceae)=
675 Evaluation of phytotoxic and cytotoxic potential of *Pyrostegia venusta* (Ker-gawl.) Miers
676 (bignoniaceae). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, 2014.
- 677 DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. **Recomposição de matas ciliares**. São Paulo: Instituto
678 Florestal, (IF. Série Registros, 4), 14p., 1990.
- 679 EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on
680 germination of okra seed. **Proceedings of the American Society Horticultural Science**,
681 Alexandria, n. 71, p. 428-434, 1958.
- 682 EINHELLIG, F. A. 2002. The physiology of allelochemical action: Clues and views. In:
683 REIGOSA, M. & PEDROL, N. **Allelopathy from Molecules to Ecosystems**. Vigo, Universidade
684 de Vigo. p. 1-23.

- 685 EINHELLIG, F. A.; RASMUSSEN, J. A. Effects of root exudate sorgoleone on photosynthesis.
686 **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, p. 369-375, 1993.
- 687 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de
688 Pesquisa do Solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, EMBRAPA
689 Solos, 2006. 306p.
- 690 FERNANDES, M. F.; BARRETO, A. C; EMÍDIO FILHO, J. Fitomassa de adubos verdes e
691 controle de plantas daninhas em diferentes densidades populacionais de leguminosas. **Pesquisa**
692 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1593-1600, 1999.
- 693 FERREIRA, A. G. (2004). Interferência: competição e alelopatia. p. 251-262. In: FERREIRA, A.
694 G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.
- 695 FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed,
696 2004. 323 p.
- 697 FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista**
698 **Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.175-204, 2000.
- 699 FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Experimental Designs: um pacote R
700 para análise de experimentos. **Revista da Estatística da UFOP**, v. 1, n. 1, p. 1-9. 2011.
- 701 FLORENTINE, S.K.; WESTBROOKE, M.E. Restoration on abandoned tropical pasturelands – do
702 we know enough? **Journal of Nature Conservation**, v.12, p.85-94, 2004.
- 703 FUJII Y; HIRADATE S. 2007. Allelopathy: new concepts & methodology. Enfield: **Science**
704 **Publishers**, 382p.
- 705 GAO, X.; LI, M. E.I.; GAO, Z.; LI, C.; Sun, Z. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata* on the
706 germination and growth of wheat, sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. **Weed biology and**
707 **management**, Japan, v. 9, n. 3, p. 243-249, 2009.
- 708 GATTI, A. B.; FERREIRA, A. G.; ARDUIN, M.; PEREZ, S. C. J. G. A. Allelopathic effects of
709 aqueous extracts of *Aristolochia esperanzae* O.Kuntze on development of *Sesamum indicum* L.
710 seedlings. **Acta Botânica Brasílica**, v. 24, p. 454-461, 2010.
- 711 GNIAZDOWSKA, A.; BOGATEK, R. Allelopathic interactions between plants. Multisite action of
712 allelochemicals. **Acta Physiology Plant**, v.27, n.3, p.395-407, 2005.
- 713 GRISI, P.U., RANAL, M.A., GUALTIERI, S.C. J., SANTANA, D. G. Allelopathic potential of
714 *Sapindus saponaria* L. leaves in the control of weeds. **Acta Scientiarum Agronomy**. v. 34, p. 1-9,
715 2012.
- 716 GUSMAN, G.S. et al. Alelopatia de *Baccharis dracunculifolia* DC. sobre a germinação e
717 desenvolvimento de espécies cultivadas. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.30, p.119-25,
718 2008.
- 719 GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de
720 *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia, Sér. Bot.**, v. 66, p.
721 87 - 98, 2011.
- 722 HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water
723 potential in osmotic solution. **Journal Express Botany**, 27: 480-9, 1976.

- 724 HARBORNE, J.B. **Introduction to Ecological Biochemistry**, 3a ed. Academic Press, London,
725 1988, 382p.
- 726 HARPER, J. L.; CLATWORTHY, J. N.; McNAUGHTON, I. H.; SAGAR, G. R. The evolution and
727 ecology of closely related species living in the same area. **Evolution**, Oxford, v. 15, n. 2, p. 209-
728 227, 1961.
- 729 IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. Agrometeorologia. **Redes de Estações Meteorológicas**
730 **do Paraná**. Estações Meteorológicas Convencionais. Disponível em:
731 <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=890>> Acesso em 29 JAN. 2016.
- 732 INDERJIT, WEINER J. 2001. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology. **Perspect**
733 **Plant Ecol Evol Syst**, 4: 3-12.
- 734 KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Recuperação de áreas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.;
735 LEITÃO FILHO, H. F. **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: EDUSP/FAPESP,
736 2000. p. 249-268.
- 737 KAGEYAMA, P.Y.; SANTERELLI, E.G.; GANDARA, F.B.M.; GONÇALVES, J.C.;
738 SIMIONATO, J.L.; ANTIQUEIRA, L.R.; GERES, W.L. —Restauração de áreas degradadas –
739 modelos de consorciação com alta diversidade. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE
740 RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 2., 1994, Foz do Iguaçu. Anais...1994.p.569-576.
- 741 KÖPPEN, W. 1948. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. Fondo de Cultura
742 Econômica. México. 479p.
- 743 LABOURIAU, L.G. & AGUDO, M. On the physiology of germination in *Salvia hispanica* L.
744 Temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.59, n.1, p.37-
745 56, 1987.
- 746 LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria da OEA, 1983. 173p.
- 747 LIEBSCH, D.; MARQUES, M.C.M.; GOLDENBERG, R. How long does the Atlantic Forest take
748 to recover after a disturbance? Changes in species composition and ecological features during
749 secondary succession. **Biological Conservation**, Amsterdam, v. 141, p. 1717-1725, 2008.
- 750 LONGHI, S. J. **Livro das árvores: árvores e arvoretas do sul**. Porto Alegre: L & PM, 1995.
751 174p.
- 752 LONGO, R. M.; RIBEIRO, A. Í.; DE MELO, W. J. Uso da adubação verde na recuperação de solos
753 degradados por mineração na floresta amazônica. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p. 139-146, 2011.
- 754 LORENZI, H. **Árvores Brasileiras. Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas**
755 **Nativas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo: Plantarum,. v.1. 2002, 378 p.
- 756 LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas**
757 **nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarium, 1992. 352p.
- 758 MAGUIRE, J. D. Seeds of germination-aid selection and evaluation seedling emergence and vigor.
759 **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.
- 760 MANOEL, D.D.; DOICHE, C.F.R.; FERRARI, T.B.; FERREIRA, G. Atividade alelopática dos
761 extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e

- 762 pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas
763 de tomate. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.1, p.63-70. 2009.
- 764 MARASCHIN-SILVA, F. & AQUILA, M.E. 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na
765 germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**
766 20(1):61-69.
- 767 MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. Ed. Fortaleza: Edições UFC: 2009.
- 768 NELSON, E.B. 2004. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. **Annual Review of**
769 **Phytopathology** 42: 271-309.
- 770 OLIVEIRA, R.E. O estado da arte da ecologia da restauração e sua relação com a restauração de
771 ecossistemas florestais no bioma Mata Atlântica. 2011. 241p. Tese (Doutorado em Ciência
772 Florestal) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP. Universidade Estadual Paulista
773 Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2011.
- 774 OLIVEIRA, T. M., AMARAL, G. C., FARIAS, S. G. G., ALVES, A. R., MAIA, E. L., &
775 SANTOS, L. M.. Superação de dormência de sementes de mororó (*Bauhinia forficata* Linn.).
776 **Scientia Plena**, v. 8, n. 4 (b), 2012.
- 777 RANAL, M.A. & SANTANA, D.G. 2006. How and why to measure the germination process?
778 **Revista Brasileira de Botânica** 29:1-11.
- 779 REIGOSA MJ, SANCHEZ-MOREIRAS A, GONZALEZ L (1999) Ecophysiological approach in
780 allelopathy. *Crit Rev Plant Sci* 18:577–608.
- 781 RICE, E.L. **Allelopathy**. 2nd ed., New York, Academic Press, 1984.
- 782 RICE, E.L. Allelopathy: an overview. In: WALLER, G.L. (Ed.) **Allelochemicals: role in**
783 **agriculture and forestry**. Washington: American Chemical Society, 1987. p.7-22.
- 784 RIZVI, S. J. H. et al. A discipline called allelopathy. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Ed.)
785 **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p. 1-10.
- 786 RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D. & REIS, R.A. 1992. **Alelopatia em plantas**
787 **forrageiras**. FCAVJ-UNESP/FUNEP, Jaboticabal.
- 788 RODRIGUES, R.R.; BRANCALION, P.H.S.; ISENHAGEN, I. Pacto pela restauração da mata
789 atlântica: referencial dos conceitos e ações de restauração florestal. São Paulo. LERF/ESALQ:
790 Instituto BioAtlântica, (2009b).256p. 23cm.ISBN 978-85-60840-02-1.
- 791 SANTANA, D. G.; RANAL, M. A.; MUSTAFA, P. C. V.; SILVA, R. M. G. Germination
792 measurements to evaluate allelopathic interactions. **Allelopathy Journal**, V.17, n.1, p.43-52, Jan –
793 Abr, 2006.
- 794 SANTOS, P.L.; FERREIRA, R.A.; ARAGÃO, A.G.; AMARAL, L.A.; OLIVEIRA, A.S.
795 Estabelecimento de espécies florestais nativas por meio de semeadura direta para a recuperação de
796 áreas degradadas. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 36, n.2, p. 237-245, 2012.
- 797 SILVESTRE, D.M.; KOLB, R.M.; FREI, F.; SANTOS, C. Phytotoxicity of organic extracts of
798 *Turnera ulmifolia* L. and *Turnera diffusa* Willd. ex Schult. in cucumber seeds. **Acta Botanica**
799 **Brasilica**, v. 27, p. 476-482, 2013.

- 800 SOARES, G.L.G.; SCALON, V.R.; PEREIRA, T. de O.; VIEIRA, D. de A. Potencial alelopático
801 do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, v.9,
802 p.119- 126, 2002.
- 803 SODAEIZADEH H, RAFIEIOLHOSSAINI M, HAVLÍK J, DAMME PV (2009) Allelopathic
804 activity of different plant parts of *Peganum harmala* L. and identification of their growth inhibitors
805 substances. **Plant Growth Regul.**59:227–236.
- 806 SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em
807 estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório-Revisão crítica. **Planta**
808 **Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.
- 809 SOUZA FILHO, A. P. S.; RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. Efeitos do potencial
810 alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa**
811 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 165-170, 1997.
- 812 SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C. Efeitos alelopáticos do calopogônio
813 em função da sua idade e da densidade de sementes da planta receptora. **Planta Daninha**, Viçosa,
814 V.21, n.2, p.211-218, 2003.
- 815 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918 p.
- 816 URBANSKA, K. M. Safe sites: interface of plant population ecology and restoration ecology. In:
817 URBANSKA, K. M.; WEBB, N.R.; EDWARDS, P.J. **Restoration ecology and sustainable**
818 **development**. Cambridge: Cambridge University Press, p.81-110. 2000.
- 819 VACCARO, S.; LONGHI, S. J.; BRENA, D. A. Aspectos da composição florística e categorias
820 sucessionais do estrato arbóreo de três subseres de uma floresta estacional decidual, no Município
821 de Santa Tereza-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 1-18, 1999.
- 822 VIANA, J. S.; GONÇALVES, E. P.; ANDRADE, L. A. OLIVEIRA, L. S. B.; SILVA, E. O.
823 Crescimento de mudas de *Bauhinia forficata* Link. em diferentes tamanhos de recipientes. **Floresta**,
824 v. 38, n. 4, p. 663-671, 2008.
- 825 VIGLIZZO, E.F.; FRANK, F.C. Land-use options for Del Plata Basin in South America: tradeoffs
826 analysis based on ecosystem service provision. **Ecological Economics**, v.57, p.140-151, 2006.
- 827 VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da
828 concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. **Pesqui. Agropecu. Bras**, Brasília DF, v.
829 26, p. 1957-1968, 1991.
- 830 WESTOBY, M., FALSTER, D.S., MOLES, A.T., VESK, P.A. & WRIGHT, I.J. 2002. Plant
831 ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. **Annual Review of**
832 **Ecology and Systematics** 33: 125-159.
- 833 WHITTAKER, R.H.; FENNI, PP. **Allelochemies: chemical interaction between species**. Science,
834 V. 171, 757-770, 1971.
- 835 WILLIS, R. J. The history of allelopathy. New York: Springer-Verlag, 2010. 330p.
- 836 ZHANG Y, GU M, SHI K, ZHOU YH, YU JQ (2010) Effects of aqueous root extracts and
837 hydrophobic root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L.) on nuclei DNA content and
838 expression of cell cycle-related genes in cucumber radicles. **Plant Soil** 327: 455–463.

ANEXO I

NORMAS DA REVISTA BIOSCIENCE JOURNAL

ISSN: 1981-3163

Classificação Qualis 2014 – Ciências Ambientais: B1

DIRETRIZES PARA AUTORES

A redação deve primar pela clareza, brevidade e concisão. O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo e com margem de, no mínimo, 2 cm. Todas as linhas deverão ser numeradas. Os trabalhos deverão ser apresentados sem identificação de autores. Os nomes dos autores, titulação e endereço de trabalho deverão ser apresentados nos metadados da submissão e, na carta de encaminhamento. Figuras e tabelas deverão ser inseridas no texto, o mais próximo possível de sua citação.

O artigo será encaminhado a três (03) revisores da área, no menor tempo possível, sem a identificação dos autores e, será considerado aprovado com 02 pareceres favoráveis.

Serão aceitos somente trabalhos redigidos em inglês, com apresentação de certificado de revisão feito por um expert na língua inglesa.

A revista se reserva o direito de efetuar alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical nos originais, com vistas a manter o padrão culto da língua, respeitando, porém, o estilo dos autores. As provas finais serão enviadas aos autores, juntamente com o boleto para pagamento da publicação.

Os trabalhos publicados passarão a ser propriedade da revista Bioscience Journal, ficando sua reimpressão, total ou parcial, sujeita à autorização expressa da direção da revista. Deve ser consignada a fonte de publicação original.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis para impressão, no formato PDF, no endereço eletrônico da revista.

Será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos trabalhos aprovados, para autores nacionais e \$ 30 (trinta dólares) para autores estrangeiros. (A forma de pagamento será informada posteriormente).

Após a avaliação e aprovação do artigo, a revista classificará as colaborações de acordo com as seguintes categorias:

1. Artigos originais - Artigos que apresentem contribuição inteiramente nova ao conhecimento e permitam que outros investigadores, baseados no texto escrito, possam julgar as conclusões, verificar a exatidão das análises e deduções do autor e repetir a investigação se assim o desejarem. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em Inglês, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão) e Conclusão (opcional), Agradecimentos (se couber). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder a 20 páginas (incluindo texto, referências, figuras e anexos).

2. Artigos de Revisão – Artigos que apresentem revisão ampla e atualizada de assunto de interesse da comunidade científica e que ofereçam contribuição significativa para a área de conhecimento abordada. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução, Desenvolvimento, Conclusão, Agradecimentos (se couber). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder a 30 páginas (incluindo texto, referências, figuras e eventuais anexos). Nesta categoria de trabalho só serão aceitas para submissão contribuições feitas a convite dos editores (Geral ou Associados).

3. Relato de caso(s) - Artigos predominantemente clínicos, de alta relevância e atualidade, com relatos originais das áreas clinica e básica. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução, Relato do caso, Discussão, Conclusão(opcional), Agradecimentos (caso necessário). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder 10 páginas, (incluindo texto, referências, figuras e eventuais anexos)

4. Comunicação - Artigo não original, demonstrando a experiência de um grupo ou de um serviço, abrangendo preferencialmente ensino, pesquisa, políticas de saúde e exercício profissional. Ou ainda, que relate os resultados (parciais ou não) de trabalho que ofereça informações relevantes para o conhecimento científico, mas não permitam conclusões robustas. Deve conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução, Conteúdo, Agradecimentos (caso necessário). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder 10 páginas, incluídos os anexos.

Apresentação dos Trabalhos

Formato: Todas as colaborações devem ser enviadas por meio do Sistema Eletrônico de Editoração de Revista – SEER, endereço:<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/about/submissions#onlineSubmissions>

O texto deve estar gravado em extensão RTF (Rich Text Format) ou em formato Microsoft Word (2003). Os metadados deverão ser obrigatoriamente preenchidos com o título do trabalho, nome(s) do(s) autor(es), último grau acadêmico, instituição que trabalha, endereço postal, telefone, fax e e-mail.

O texto será escrito cordialmente, com intercalação de tabelas e figuras, já inseridas no texto, em quantidade mínima necessária para a sua compreensão.

No corpo do trabalho não deverá constar os nomes dos autores, que deverão ser encaminhados separadamente, com dados pessoais (títulos, endereço para correspondência, e-mail e Instituição a que está ligado), como medida de sigilo.

Título do trabalho: O título deve ser breve e suficientemente específico e descritivo, contendo as palavras-chave que representem o conteúdo do texto separadas por ponto, ambos acompanhados de sua tradução para o português.

Resumo: Deve ser elaborado um resumo informativo com cerca de 200 a 400 palavras, incluindo objetivo, método, resultado, conclusão, acompanhado de sua tradução para o português. Ambos devem ter, no máximo, 800 palavras.

Palavras-chave: As palavras-chave e keywords não devem repetir palavras do título, devendo-se incluir o nome científico das espécies estudadas. As palavras devem ser separadas por ponto e

iniciadas com letra maiúscula. Os autores devem apresentar de 3 a 6 termos, considerando que um termo pode ser composto de duas ou mais palavras.

Agradecimentos: Agradecimentos a auxílios recebidos para a elaboração do trabalho deverão ser mencionados no final do artigo, antes das referências.

Notas: Notas contidas no artigo devem ser indicadas com um asterisco imediatamente depois da frase a que diz respeito. As notas deverão vir no rodapé da página correspondente. Excepcionalmente poderão ser adotados números para as notas junto com asteriscos em uma mesma página, e nesse caso as notas com asteriscos antecedem as notas com número, não importando a ordem dessas notas no texto. Apêndices: Apêndices podem ser empregados no caso de listagens extensivas, estatísticas e outros elementos de suporte.

Figuras e tabelas: Fotografias nítidas (preto e branco ou em cores), gráficos e tabelas em preto e branco (estritamente indispensáveis à clareza do texto) serão aceitos, e deverão ser assinalados, no texto, pelo seu número de ordem, nos locais onde devem ser intercalados. Se as ilustrações enviadas já tiverem sido publicadas, mencionar a fonte. (Vide normas para elaboração de figuras, na próxima seção).

Os manuscritos, ainda que apresentem relevância científica e estejam metodologicamente corretos, poderão ser recusados se não apresentarem a devida organização e se estiverem fora das normas da Bioscience Journal.

NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE FIGURAS

1. As figuras podem ser feitas em softwares de preferência dos autores (Excel, Sigma Plot, etc.), devendo ser inseridas e enviadas em formato TIFF ou JPG com resolução mínima de 300 dpi.
2. As figuras deverão ter largura máxima de 8,0 cm ou 16,0 cm.
3. Os títulos e a escala dos eixos x e y deverão ser em Times New Roman tamanho 11. As linhas dos eixos e demais linhas (e.g., curvas de regressão) deverão ter espessura de 0,3 mm. Todas as informações contidas no interior da figura (e.g., equações, legendas) deverão ser em Times New Roman tamanho 10 ou no mínimo 8. São dispensáveis as bordas, direita e superior, em gráficos.
4. Todas as figuras deverão ser inseridas convenientemente no texto logo após a sua chamada, consecutivamente e em números arábicos. As figuras deverão ser inseridas no texto por meio do comando “Inserir→Imagem/Figura→Arquivo”.
5. As figuras podem ser constituídas por múltiplos gráficos, tanto na horizontal como na vertical, respeitando a largura máxima de 16,0 cm e 8,0 cm, respectivamente. Quando se tratar de figuras com vários gráficos, os mesmos deverão ser identificados por letras (A, B, C, D) em maiúsculo entre parênteses, fonte Times New Roman tamanho 11. Trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto são da responsabilidade do autor.

Informação oriunda de comunicação pessoal, trabalhos em andamento e os não-publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em nota de rodapé da página em que forem citados.

Referências: NBR 6023/2002. A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto são da responsabilidade do autor. Informação oriunda de

comunicação pessoal, trabalhos em andamento e os não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em nota de rodapé da página onde forem citados.

As referências incluídas no final de cada artigo devem ser escritas em páginas separadas do texto principal, em ordem alfabética de acordo com as normas da ABNT NBR-6023, ago. 2002. Na lista de Referências, no final do artigo, todos os autores devem ser mencionados. Não é permitido o uso da expressão et al.

Observar os exemplos das referências abaixo:

Livro no todo:

GRAZIANI, Mário. Cirurgia buco-maxilo-facial. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. 676 p.

Capítulo de livro sem autoria própria:

PERRINS, C. M. Social systems. In: _____. Avian ecology. Glasgow: Blackie, 1983. cap. 2, p. 7-32.

Capítulo de livro com autoria própria:

GETTY, R. The Gross and microscopic occurrence and distribution of spontaneous atherosclerosis in the arteries of swine. In: ROBERT JUNIOR.; A., ATRAUSS, R. (Ed.). Comparative atherosclerosis. New York: Harper & Row, 1965. p. 11-20.

Monografias, Dissertações e Teses:

CORRALES, Edith Alba Lua Segovia. Verificação dos efeitos genotóxicos dos agentes antineoplásicos citrato de tamoxifen e paclitaxel. 1997. 84 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1997.

Trabalhos apresentados em eventos: Congressos, Seminários, Reuniões...

NOVIS, Jorge Augusto. Extensão das ações de saúde na área rural. In: CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE, 7., 1980, Brasília. Anais... Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1980. p. 37-43.

Artigos de periódicos:

COHEN, B. I.; CONDOS, S.; DEUTSCH, A. S.; MUSIKANT, B. L. La fuerza de fractura de tres tipos de materiales para el muñon en combinacion com tres espigas endodontiacales distintas. R. Cent. C. Biomed. Univ. Fed. Uberlândia, Uberlândia, v. 13, n. 1, p. 69-76, dez. 1997.

Obs.: Quanto ao título de periódicos, deve-se adotar um único padrão. Na lista de Referências todos os títulos de periódicos devem vir abreviados ou todos por extenso e, em negrito.

Nota:

Quando se tratar de documento eletrônico, deve-se fazer a referência normal, acrescentando-se ao final informações sobre a descrição do meio ou suporte.

Exemplo:

Capítulo de livro com autoria própria disponível em CD-ROM:

FAUSTO, A. I. da F.; CERVINI, R. (Org.). O trabalho e a rua. In: BIBLIOTECA nacional dos direitos da criança. Porto Alegre: Associação dos Juizes do Rio Grande do Sul, 1995. 1 CD-ROM.

Artigo de periódicos em meio eletrônico:

ROCHA-BARREIRA, C. A. Caracterização da gônada e ciclo reprodutivo da *Collisella subrugosa* (Gastropoda: Acmaeidae) no Nordeste do Brasil. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 62, n. 4b, nov. 2002. Disponível em: Acesso em: 20 abr. 2003.

Recomendações: Recomenda-se que se observem as normas da ABNT referentes à apresentação de artigos em publicações periódicas (NBR 6023/2002), apresentação de citações em documentos (NBR 10.520/2002), apresentação de originais (NBR 12256), norma para datar (NBR 5892), numeração progressiva das seções de um documento (6024/2003) e resumos (NBR 6028/2003), bem como a norma de apresentação tabular do IBGE.

Transferência de Direitos Autorais:

Todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar a Transferência de Direitos Autorais:

“Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Bioscience Journal passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da Revista, vedado a qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à Revista.

Assinaturas do(s) autor(es) Data ___/___/___

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Declaração de Responsabilidade:

Todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar a declaração de responsabilidade nos termos abaixo:

- Certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, não omitindo quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo;
- Certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra Revista e não o será, enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Bioscience Journal, quer seja no formato impresso ou no eletrônico.

Endereço para envio de trabalhos:

<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/about/submissions#onlineSubmissions>

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.

1. Serão aceitos somente trabalhos redigidos em inglês.

A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; não sendo o caso, justificar em "Comentários ao Editor". _____

2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word (2003), RTF ou WordPerfect.
3. O texto está em espaço duplo; usa uma fonte de 12-pontos; emprega *itálico* ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
4. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo (word 2003) e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista. O texto cumpre com as normas de formatação da revista citados em "Diretrizes para os autores" na seção "Sobre".
5. No momento da submissão on line, o autor principal deverá enviar um ofício assinado por todos os autores, solicitando a submissão do artigo e a sua possível publicação, exclusivamente nesta revista. O ofício deverá ser digitalizado e transferido em "documentos suplementares".
6. Todos os endereços "URL" no texto (ex.: <http://pkp.ubc.ca>) estão ativos.
7. O artigo está sendo submetido corretamente na seção correspondente, de acordo com a sua área.
8. Os manuscritos mesmo apresentando relevância científica e estando metodologicamente corretos poderão ser recusados se apresentados de forma desorganizada e fora das normas da Bioscience Journal. Manuscritos bem escritos e apresentados de acordo com as normas são revisados com maior rapidez e, também, exigindo menor esforço dos revisores.
9. Será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos trabalhos aprovados. (A forma de pagamento será informada posteriormente).
10. Todos os itens acima são requisitos básicos para a submissão de um artigo e, caso não estejam de acordo com as normas da revista, ou os metadados não estejam preenchidos corretamente, o referido artigo NÃO SERÁ considerado para avaliação.

DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTORAL

Os direitos autorais para artigos publicados nesta revista são do autor, com direitos de primeira publicação para a revista. Em virtude de aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

POLÍTICA DE PRIVACIDADE

Os nomes e endereços de email neste site serão usados exclusivamente para os propósitos da revista, não estando disponíveis para outros fins.

TAXAS PARA AUTORES

Este periódico cobra as seguintes taxas aos autores.

Taxa para publicação: 40,00 (BRL) será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos trabalhos aprovados, para autores nacionais e \$ 30 (trinta dólares) para autores estrangeiros. (A forma de pagamento será informada posteriormente).

Bioscience Journal
ISSN 1981-3163 - Versão Online

Universidade Federal de Uberlândia
Av. Para, 1720
Bloco 2U - Sala 24
Campus Umuarama
B. Umuarama
38400-902 - Uberlândia, MG, Brasil
Fone: +55-34-3225-8688
biosciencej@ufu.br